

УДК 638.19:638.1:633.31

Вплив способу консервації бджолиного обніжжя на розвиток глоткової залози у медоносних бджіл *Apis mellifera L*

Ковальський Ю.В.¹ , Періг М.Д.² 

¹ Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького

² Інститут сільського господарства Карпатського регіону НААН

 Періг М.Д. E-meil: prikarpmed@ukr.net



Ковальський Ю.В., Періг М.Д. Вплив способу консервації бджолиного обніжжя на розвиток глоткової залози у медоносних бджіл *Apis mellifera L*. Збірник наукових праць «Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва», 2023. № 1. С. 88–96.

Kovalskiy Yu., Perig N. The effect of the method of preservation of bee honey on the development of the pharyngeal gland in honey bees *Apis mellifera L*. «Animal Husbandry Products Production and Processing», 2023. № 1. PP. 88–96.

Рукопис отримано: 20.03.2023 р.

Прийнято: 03.04.2023 р.

Затверджено до друку: 25.05.2023 р.

doi: 10.33245/2310-9289-2023-178-1-88-96

Сучасні сільськогосподарські системи передбачають використання великих монокультур, що суттєво обмежує різноманітність квітів для бджіл. У статті представлено дані щодо біохімічного складу монофлорного обніжжя та його впливу на розвиток глоткових залоз у медоносних бджіл. Проведені дослідження дають підставу вважати, що вміст протеїну в бджолиному обніжжі залежить від видового походження та методу консервації. Досліджені зразки щодо вмісту протеїну показують, що його кількість коливається в межах від 11,9 до 24,9 %. Максимальну кількість протеїну виявлено у свіжому ріпаковому та яблуневому обніжжі. Для вивчення впливу монофлорних дієт на ріст і розвиток глоткової залози було сформовано 9 груп бджолиних сімей-аналогів по 3 в кожній, яким вводили в раціон три види корму. Перший вид – це свіже обніжжя з таких рослин: яблуня, кульбаба, ріпак озимий, гречка, конюшина, каштан, малина. Другий вид – це аналогічне обніжжя, але після річного зберігання за умов глибокого заморожування. Раціон третього виду складався зі зазначеного обніжжя, але у процесі заготівлі воно було висушеним. Водночас сформовану групу бджолиних сімей було розділено ще на дві підгрупи. Одні споживали змішане обніжжя у рівних пропорціях, інші не мали жодних протеїнових кормів. Тривалість досліду становила 15 діб. На 10 добу проводили визначення розвитку ацинусів глоткової залози. За морфометрією ацинусів та динамікою наповнення везикул найкращі показники отримано у групі бджіл, які споживали змішане бджолине обніжжя. Виявлене високоїмовірне збільшення довжини та ширини ацинусів глоткової залози на 36,4 та 34,7 %, порівняно з бджолами, які зовсім не споживали квіткового пилку. Повністю проявила свій потенціал щодо продукування маточного молочка група бджіл, яка в раціоні отримала свіже ріпакове та яблуневе обніжжя. Найгірший розвиток глоткової залози виявлено у групі бджіл, яка споживала висушене обніжжя з кульбаби. У цій групі площа ацинусів коливалась у межах від 15,5 до 16,4 тис. мкм². Виявлено залежність між умістом протеїну в раціоні та ступенем розвитку глоткової залози. З-поміж досліджених способів його консервації умови глибокого заморожування виявились найкращими. Застосування експериментальних монофлорних дієт має негативний вплив на інтер'єрні показники організму медоносних бджіл.

Ключові слова: *Apis mellifera L.*, глоткова залоза, живлення, протеїн, квітковий пилок, зберігання обніжжя.

Постановка проблеми та аналіз останніх досліджень. Медоносні бджоли великою мірою залежать від наявності квіткових ресурсів, з яких вони отримують необхідні для їх росту та розвитку поживні речовини [1–6]. Водночас на наявність медоносних ресурсів впливає інтенсифікація сільського господарства та зміна ландшафту. Існує проблема збіднення різноманітності квіткових ресурсів, що призводить до недостатності харчування бджіл і ставить під загрозу їх розвиток. Сприятливий вплив наявності пилку на здоров'я бджіл добре відомий [7–11]. Деякі дослідники отримали позитивний ефект щодо розвитку глоткових залоз і яєчників за згодовування бджолиного обніжжя. Автори роблять висновок про те, що залежно від хімічного складу корму суттєво змінюється інтенсивність і ріст яєчників. Для апробації дослідники обрали пилки яблуні, ріпаку, фацелії, соняшника та сосни. Однак дослідження проводили за використання лише свіжого і замороженого обніжжя [12]. Було вивчено зв'язок між кількістю спожитого пилку та титрами вітелогеніну (Vg) і ювенільного гормону (JH) у гемолімфі африканізованих робочих бджіл (*Apis mellifera*). Аналіз гемолімфи молодих робітників, яких годували дієтами з різним умістом пилку, показав, що Vg, але не титр JH, залежить від споживання пилку. Робітники, яких годували 50 % пилком, мали вищі рівні Vg, ніж працівники, яких годували 15 % пилком. Дієта з нульовим умістом пилку суттєво погіршувала титр Vg, який зазвичай спостерігається в перші дні дорослого життя [13]. Деякі автори досліджували вплив споживання бджолиного обніжжя у раціонах тварин. Зокрема, поїдання курчатами по 300 мг обніжжя зумовлювало збільшення маси тимусу. Періодична добавка бджолиного обніжжя є достатньою для зміцнення здоров'я та імунної відповіді курчат-бройлерів, з 40 % економією витрат на добавку [14]. Однак відомі і негативні результати за споживання квіткового пилку. Так, додавання деяких його видів знижувало життєздатність клітин, призводило до накопичення маркерів проліферації та апоптозу, вивільненню IGF-I. Біологічна активність бджолиного пилку щодо його стимулювальної дії на проліферацію клітин яєчників у свиней розподіляється наступним чином (за спаданням): кульбаба, верба, кукурудза, вільха, ріпак. Бджолиний пилко може сприяти проліферації клітин яєчників свиней, сприяючи вивільненню IGF-I, однак він індукує домінування апоптозу над проліферацією та зниження життєздатності клітин яєчників видоспецифічним способом [15]. Деякі автори вивчали можливий вплив бджолиного пилку з ріпаку озимого, доданого

до кормової суміші, на вивільнення інсуліноподібного фактора росту (IGF-I) і стероїдних гормонів (прогестерону та естрадіолу), а також на експресію маркерів апоптозу (Bcl-2, Bax і каспаза-3) у фрагментах яєчників щурів. Вони, зокрема, встановили, що відбувається накопичення каспази-3 після годування бджолиним пилком у дозі 5кг/1000 кг корму [16, 17]. Однак залишається маловивченим питання щодо впливу якості і різноманітності корму на фізіологічні зміни в організмі бджіл. У періоди дефіциту пилку бджоли змушені шукати корм на альтернативних культурах, таких як кукурудза. Вважають, що пилко кукурудзи є другорядним джерелом їжі для бджіл, оскільки в ньому не вистачає білків і незамінних амінокислот. У кукурудзі було виявлено низьку концентрацію гістидину, водночас кількість усіх інших незамінних амінокислот була більшою, ніж у змішаному пилку. При цьому його споживання не викликало жодних негативних змін імунологічних ефектів та параметрів гуморального імунітету. Споживання раціонів, у складі яких був наявний лише пилко кукурудзи, супроводжувалося зменшенням показників виживання розплуду та тривалості життя [18].

Харчовий стрес є основним фактором, що призводить до зменшення популяції медоносної бджоли (*Apis mellifera L.*) [19]. Науковцями досліджено, що монофлорний пилко кукурудзи або пилко авокадо має гірший вплив на розвиток гіпофарингіальних залоз. При цьому виявлено нижчий уміст білка в гемолімфі та імунну відповідь у вигляді літичної активності, а також активність профенолоксидази в гемолімфі, порівняно з поліфлорними дієтами [20]. Відомі експерименти, у яких перевірено вплив якості монофлорного пилкового раціону, порівняно з поліфлорним, на деякі фізіологічні показники бджіл. Автори зробили висновок про те, що поліфлорний пилко позитивно впливає на розвиток гіпофарингіальних залоз і рівень вітелогеніну, а також на толерантність до паразита мікроспоридії *Nosema ceranae*. Шляхом вимірювання тривалості життя бджіл та активності ферментів, які залучені до захисної реакції бджіл (глутатіон-S-трансфераза, фенолоксидаза, лужна фосфатаза), дослідники виявили, що як на фізіологію бджіл-годувальниць, так і на толерантність до паразита впливає якість пилку. Різноманітність раціону пилку не вплинула на фізіологію бджіл-годувальниць і виживання здорових бджіл. Однак у разі захворювання нозематозом, бджоли, яких годували поліфлорною сумішшю, жили довше, порівняно з бджолами, яких годували монофлорним пилком, за винятком монофлорного пилку, який був більш

багатий на білок. Крім того, тривалість життя позитивно корелювала з активністю лужної фосфатази у здорових бджіл і з активністю фенолоксидази в інфікованих бджіл [21–22].

Отже, у розрізі проведеного аналізу літературних даних щодо якості і різноманіття споживання квіткового пилку, залишається маловивченим питання впливу живлення бджіл монофлорним обніжжям на їхній розвиток. Таке явище спостерігають у випадку, коли пасіка оточена великими посівами, наприклад, соняху чи ріпаку озимого. У цьому сенсі монокультури мають велике поширення в Україні, та їхній вплив на фізіологію та морфологію *Apis mellifera L.* невідомий.

Мета дослідження – вивчення впливу монофлорного обніжжя на розвиток глоткових залоз у медоносних бджіл.

Матеріал і методи досліджень. Роботу виконано впродовж 2020–2022 років на кафедрі технології виробництва та переробки продукції дрібних тварин Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького. Дослідження проведено у кілька етапів. Метою першого етапу було отримання бджолиного обніжжя, проведення його ідентифікації зберігання. Для цього у сезон 2020–2021 рр. за допомогою навісних пилковловлювачів проводили відбір бджолиного обніжжя. Бджолині сім'ї карпатської породи утримувались протягом досліджень у вертикальних вуликах. Обніжжя було відокремлене і відсортоване вручну за кольором. У подальшому ідентифікували пилкові зерна. Для цього пилки певного кольору поміщали в краплю гліцерину і досліджували видову належність під мікроскопом за 400-кратного збільшення. Свіже обніжжя поміщали у флакони помаранчевого кольору об'ємом 450 мл. Їх щільно закривали кришками і зберігали у замороженому стані за температури – 18 °С. Ще одну групу дослідних зразків зберігали традиційним методом. Його суть полягає у висушуванні обніжжя у температурному діапазоні 37–38 °С. Період зберігання – 8–12 місяців.

На другому етапі визначали кількість протеїну у всіх відібраних зразках. Дослідженню піддавалось як свіже обніжжя, так і після зберігання. Концентрацію загального азоту в біологічному матеріалі визначали за методом К'ельдаля. При визначенні кількості протеїну використовували коефіцієнт 6,25 [23, 24].

Метою третього етапу було тестування семи різних пилкових дієт для бджіл, приготованих з певного виду пилку. Тривалість згодовування бджолам становила 15 діб. Для вивчення впливу монофлорного обніжжя на

розвиток медоносних бджіл було сформовано 9 груп аналогів по три в кожній. Досліджуване обніжжя масою 0,5 кг засипали у стільник і поміщали у гніздо бджолиної сім'ї. Для зниження впливу сторонніх кормів на льоток усіх вуликів навіщували пилковловлювачі.

Заключний етап досліджень полягав у вивченні впливу протеїнових кормів на деякі фізіологічні показники розвитку інтер'єру. Бджіл, які споживали різноманітні корми, було досліджено щодо розвитку глоткових залоз. Методика для досліджень залози полягала у тому, що обидві залози видаляли шляхом розтину капсули голови лезом у напрямку від простих очей до нижньої щелепи [25, 26]. Після препарування обидві гілки залози поміщали у фосфатно-сольовий буфер за рН 7,3. Залози видаляли від довільно відібраних бджіл, які знаходились на розпліді, на 10 добу. Морфометрію ацинусів глоткової залози здійснювали за збільшення 140 (об. 20 x ок. 7). Весь цифровий матеріал досліджень піддавали статистичній обробці [27] з використанням стандартного програмного забезпечення «StatPlus 2008». Відмінності між середніми показниками бджіл дослідної групи до контрольної вважали статистично достовірними за $P < 0,05$ – *; $P < 0,01$ – **; $P < 0,001$ – ***.

Результати дослідження та обговорення. Для нормального розвитку організму необхідне регулярне споживання корму, який забезпечує надходження нутрієнтів. Основним джерелом цукрів вважається нектар, а протеїни, ліпіди, мінеральні речовини, вітаміни та інші біологічно активні речовини бджолина сім'я отримує завдяки споживанню квіткового пилку (рис.1).

Згідно із завданням першого етапу досліджень, відібрано та ідентифіковано сім видів монофлорного обніжжя. У господарстві, де утримували піддослідні сім'ї, квітковий пилкок з яблуні, ріпаку озимого, малини, каштану, конюшини, гречки найбільш масово поступав у гніздо. У період цвітіння зазначених медоносів у лотках пилковловлювачів їх масова частка становила 80–95 %. Дослідження бджолиного обніжжя щодо вмісту протеїну показують, що його вміст коливається в межах від 11,9 до 24,9 %. Максимальну кількість протеїну виявлено в ріпаковому та яблуневому обніжжі. Після цього досліджені зразки для зберігання було розділено на дві групи. Першу групу піддавали глибокому заморожуванню за температури -18 °С. Зразки другої групи висушувались за температури +38 °С. Термін зберігання обніжжя коливався від 8 до 12 місяців. Після річного терміну дослідний корм згодовували бджолиним сім'ям. На десяту добу досліджували морфометричні показники ацинусів глоткової залози (табл.1).

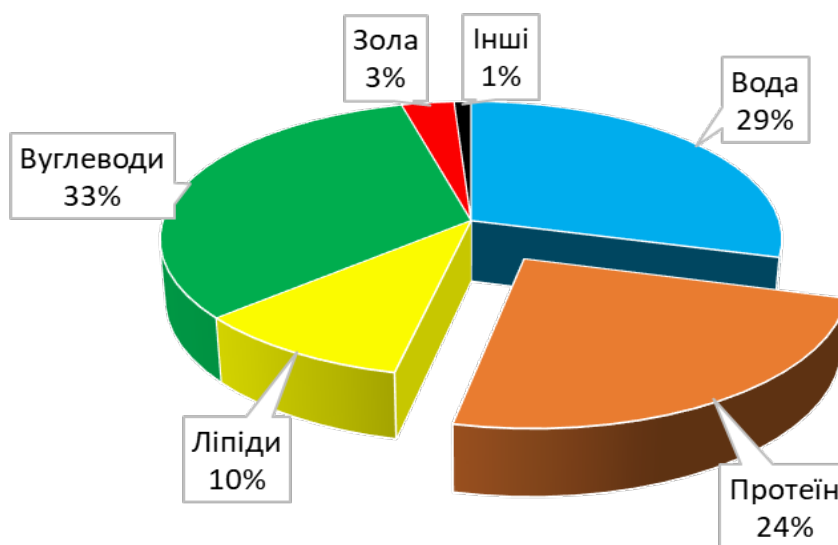


Рис.1. Хімічний склад ріпакового бджолиного обніжжя, %.

Таблиця 1 – Морфометричні показники ацинусів глоткової залози медоносних бджіл при споживанні свіжого обніжжя, (M±m)

Тип раціону	Розмір ацинусів					
	довжина, мкм		ширина, мкм		площа, тис. мкм ²	
	M±m	lim	M±m	lim	M±m	lim
Без обніжжя (контроль)	150,9±16,09	174,9–147,8	126,8±5,32	135,3–101,9	15,7±1,41	16,19–15,01
Яблуневе	200,1±13,21***	215,0–191,2	160,1±17,56***	166,0–150,3	24,7±8,21***	25,61–23,06
Кульбабове	160,3±11,35	169,4–159,1	128,2±9,46	134,2–96,0	18,9±1,74*	19,16–18,65
Ріпакове	208,1±12,36***	216,3–194,2	170,3±9,49***	172,3–162,4	27,2±1,65***	28,19–26,81
Гречане	180,0±15,64	208,7–173,9	148,1±18,68	156,4–134,5	21,6±1,92	22,68–20,01
Конюшинове	192,9±19,31***	201,8–190,4	159,5±11,22***	161,6–141,8	20,7±1,77***	21,99–19,69
Каштанове	170,3±16,56*	187,9–165,9	140,4±10,70*	144,9–135,7	18,7±1,81*	19,81–18,22
Малинове	181,8±19,90***	200,0–170,1	150,8±8,28***	165,5–145,3	23,1±1,21***	23,75–22,02
Змішане	205,9±12,55***	207,2–193,6	170,8±16,87***	181,0–152,3	28,1±2,33***	28,41–25,01

Примітка. Статистично значуща різниця між групою без обніжжя (контроль) і дослідним обніжжям (* – P<0,05; ** – P<0,01; *** – P<0,001).

Розвиток глоткової залози у бджіл є надійним і чутливим показником використання протеїну, який вказує на якість пилку. Загальний аналіз розвитку глоткової залози у дослідних бджіл переконливо свідчить, що тип пилку, який споживають робочі особини, має виражений вплив на залозу. Група особин, які були обмежені у доступі до протеїнового корму, мали найгірше розвинені ацинуси глотко-

вої залози. Максимальна їх площа становила 16,19 мкм². Слід зауважити, що найбільші морфометричні показники ацинусів виявлено за споживання свіжого обніжжя. Так, максимальне наповнення везикул виявлено у тому випадку, коли бджоли мали можливість вільно поїдати ріпакове обніжжя. При чому залози були на 73,2 % більшими, порівняно з контрольною групою (P<0,001). Повністю прояви-

ла свій потенціал щодо продукування маточно-го молочка група бджіл, яка в раціоні отримала свіже яблуневе обніжжя. Так, довжина і ширина ацинусів глоткової залози була на 32,6 та 26,2 % більшою, порівняно з бджолами, які зовсім не споживали квіткового пилку. Проведені дослідження доповнюють дані про фізіологію розвитку залози. Кількість протеїну в раціоні має фундаментальне значення в продукуванні маточного молочка. Однак морфометрія ацинусів та динаміка наповнення везикул вказує на те, що найкращі показники виявлено у групі бджіл, які споживали змішане бджолине обніжжя. Виявлено достовірне збільшення довжини та ширини ацинусів глоткової залози на 36,4 та 34,7 %, порівняно з контрольною групою.

Глоткові і нижньощелепові залози активно виділяють маточне молочко, яке є кормом для розплоду [28]. Для його синтезу бджоли-годувальниці споживають і перетравлюють велику кількість пилку [29]. Маточне молочко, яким наповнені залози, вважається кінцевим продуктом переробки протеїну обніжжя [30]. Тому якість корму, який отримує розплід, і особливо матка, потенційно може впливати на загальну швидкість росту бджолиної сім'ї. Водночас тривалість робочих особин безпосередньо залежить від загальної кількості спожитого протеїну.

Згідно з проведеними дослідженнями, у разі споживання свіжого обніжжя, загальний розвиток глоткової залози особливо не відрізнявся, порівняно з групою бджіл, що споживали заморожене обніжжя (рис.1).

Основним фактором, який впливає на зазначені показники, є кількість протеїну в кормі. Ці результати узгоджуються з дослідженнями авторів, які повідомляють про незначну зміну вмісту нутрієнтів пилку після зберігання корму шляхом заморожування [12]. Однак морфометричні проміри виявили зменшення наповнення ацинусів маточним молочком у деяких раціонах. У групі бджіл, які отримували як корм висушене обніжжя, зафіксовано найгірші показники розвитку та наповнення ацинусів глоткової залози. Так, площа ацинусів за споживання обніжжя з озимого ріпаку становила 27,2 тис мкм², що на 16,9 % менше, порівняно з показниками розвитку ацинусів, які споживали свіже обніжжя. Припускаємо, що такі дані отримано внаслідок погіршення або зниження доступності білків. Висушування протеїнового корму знижує привабливість і смакові якості обніжжя, що, в основному, залежить від його ліпідного складу [31]. За такого способу зберігання можливе зниження вмісту деяких біологічно активних речовин, зокрема вітамінів та інших сполук.

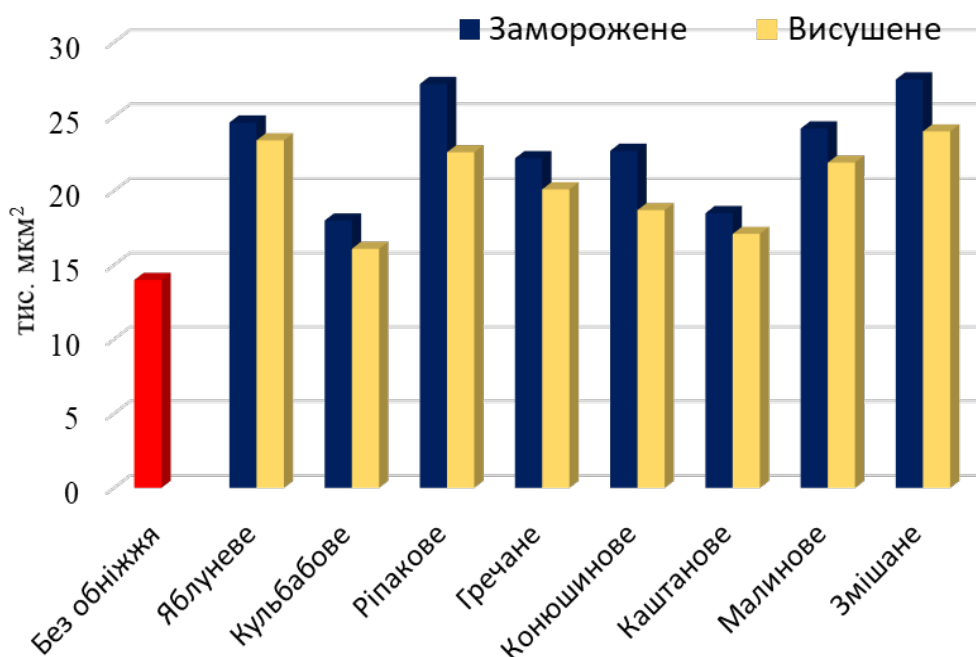


Рис. 2. Площа ацинусів глоткової залози за різного способу живлення, тис. мкм².

З практичної точки зору, можна рекомендувати використання 1-річного замороженого обніжжя як спосіб підгодівлі бджіл.

Сучасні сільськогосподарські системи передбачають використання великих монокультур, що суттєво обмежує різноманітність квітів для бджіл. Тому проведені дослідження вказують на доцільність корекції раціону для медоносних бджіл.

Висновок. Максимальний розвиток глоткової залози виявлено за споживання свіжого бджолиного обніжжя. З досліджених способів його консервації умови глибокого заморожування виявились найкращими.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Frias B. E. D., Barbosa C. D., Laurencio A. P. Pollen nutrition in honey bees (*Apis mellifera*): Impact on adult health. *Apidologie*. 2016. 47. P. 15–25. DOI:10.1007/s13592-015-0373-y.
2. Ecological stoichiometry of the honeybee: Pollen diversity and adequate species composition are needed to mitigate limitations imposed on the growth and development of bees by pollen quality / M. Filipiak et al. *PLoS ONE*. 2017. 12:e0183236. DOI:10.1371/journal.pone.0183236.
3. Haase A., Hoffmann K. Pollen Diet – Properties and Impact on a Bee Colony. *Insects*. 2021. 12(9). 798 p. DOI:10.3390/insects12090798.
4. Interacting stressors matter: Diet quality and virus infection in honeybee health / A.G. Dolezal et al. *R. Soc. Open Sci*. 2019. 6:181803. DOI:10.1098/rsos.181803.
5. Hemolymph Metabolism Analysis of Honey Bee (*Apis mellifera* L.). Response to Different Bee Pollens / H. Chang et al. *Insects*. 2022. 30. 14(1). 37 p. DOI:10.3390/insects14010037.
6. Taha E., Al-Kahtani S., Taha R. Protein content and amino acids composition of bee-pollens from major floral sources in Al-Ahsa, eastern Saudi Arabia. *Saudi J Biol Sci*. 2019. 26(2). P. 232–237. DOI:10.1016/j.sjbs.2017.06.003.
7. Connecting the nutrient composition of seasonal pollens with changing nutritional needs of honey bee (*Apis mellifera* L.) colonies / G. DeGrandi-Hoffman et al. *J Insect Physiol*. 2018. 109. P. 114–124. DOI:10.1016/j.jinsphys.2018.07.002.
8. Variations in the Availability of Pollen Resources Affect Honey Bee Health / G. Di Pasquale et al. *PLoS One*. 2016. 15. 11 (9):e0162818. DOI:10.1371/journal.pone.0162818.
9. Corby-Harris V., Snyder L. (2018). Measuring Hypopharyngeal Gland Acinus Size in Honey Bee (*Apis mellifera* L.) Workers. *J Vis Exp*. 2018. (139). 58261 p. DOI:10.3791/58261.
10. Corby-Harris V., Snyder L., Meador C., Aoytte T. (2018). Honey bee (*Apis mellifera* L.) nurses do not consume pollens based on their nutritional quality. *PLoS One*. 2018. 13(1):e0191050. DOI:10.1371/journal.pone.0191050.
11. Wright G. A., Nicolson S. W., Shafir S. Nutritional Physiology and Ecology of Honey Bees. *Annu Rev Entomol*. 2018. 7. 63. P. 327–344. DOI:10.1146/annurev-ento-020117-043423.
12. Liolios V., Tananaki C., Kanelis D. The microbiological quality of fresh bee pollen during the harvesting process. *Journal of Apicultural Research*. Published online: 03 Nov 2022. 2022. DOI:10.1051/apido:2000130.
13. Zheng B., Wu Z., Xu B. The Effects of Dietary Protein Levels on the Population Growth, Performance, and Physiology of Honey Bee Workers During Early Spring. *J Insect Sci*. 2014. 14. 191 p. DOI:10.1093/jisesa/ieu053.
14. Blood Hematological and Biochemical Constituents, Antioxidant Enzymes, Immunity and Lymphoid Organs of Broiler Chicks Supplemented with Propolis, Bee Pollen and Mannan Oligosaccharides Continuously or Intermittently / Y. Attia et al. 2017. 96(12). P. 4182–4192. DOI:10.3382/ps/pex173.
15. Bee pollens originating from different species have unique effects on ovarian cell functions / A. Sirotkin et al. *Pharm Biol*. 2020. 58(1). P. 1101–1106. DOI:10.1080/13880209.2020.1839514.
16. Consumption of bee pollen affects rat ovarian functions / A. Kolesarova et al. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)*. 2013. 97(6). P. 1059–1065. DOI:10.1111/jpn.12013.
17. The effect of bee pollen on secretion activity, markers of proliferation and apoptosis of porcine ovarian granulosa cells *in vitro* / A. Kolesarova et al. *J Environ Sci Health B*. 2011. 46(3). P. 207–212. DOI:10.1080/03601234.2011.540202.
18. Evaluation of the nutritive value of maize for honey bees / N. Höcherl et al. *J Insect Physiol*. 2012. 58(2). P. 278–285. DOI:10.1016/j.jinsphys.2011.12.001.
19. Impact of nutritional stress on the honeybee colony health / B. Branchiccela et al. *Sci Rep*. 2015. 9. 10156 p. DOI:10.1038/s41598-019-46453-9.
20. Béjar V., Garduño J., Calvillo K., García E. Survival, Body Condition, and Immune System of *Apis mellifera* liguistica Fed Avocado, Maize, and Polyfloral Pollen Diet. *Neotrop Entomol*. 2022. 51(4). P. 583–592. DOI:10.1007/s13744-022-00974-7.
21. Influence of pollen nutrition on honey bee health: do pollen quality and diversity matter? / G. Pasquale et al. *PLoS One*. 2013. 5. 8(8):e72016. DOI:10.1371/journal.pone.0072016.
22. Azzouz-Olden F., Hunt A., DeGrandi-Hoffman G. Transcriptional response of honey bee (*Apis mellifera*) to differential nutritional status and Nosema infection. *BMC Genomics*. 2018. 19(1). 628 p. DOI:10.1186/s12864-018-5007-0.
23. Kjeldahl J. Neue Methode zur Bestimmung der Stickstoffs in organischen Körpern. *S. Anal. Chem.*, 1883. no. 22. 366 p.

24. Stabler D., Power E., Borland A. A method for analysing small samples of floral pollen for free and protein-bound amino acids. *Methods Ecol Evol.* 2018. 9(2). P. 430–438. DOI:10.1111/2041-210X.12867.

25. Kovalskiy Yu. V., Kyryliv Ya. I. The influence of the vital range of temperature on the physiological, biochemical and morphological parameters of honey bees (*Apis mellifera L.*) in the post-embryonic period: methodological recommendations. Lviv: Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies of Lviv. 2014. 105 p.

26. Kovalskiy Yu. V., Kirillov Ya. I. The effect of reduced incubation temperature of honey bee brood on the morphological features of the structure of the pharyngeal gland. *Scientific herald of Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies of Lviv.* Lviv. 2014. Vol. 16. no. 3 (60). Part 2. P. 141–147.

27. Щербатий З. Є., Кос В. Ф., Кропивка Ю. Г. Генетика з біометрією. (Лабораторно-практичний курс). Львів, 2014. 288 с.

28. Activity of salivary glands in secreting honey-elaborating enzymes in two subspecies of honeybee (*Apis mellifera L.*) / A. Al-Sherif et al. *Physiologicak Entomology.* First published: 29 August. 2017. DOI:10.1111/phen.12213.

29. Smodiš Škerl M., Gregorc A. Characteristics of hypopharyngeal glands in honeybees (*Apis mellifera carnica*) from a nurse colony. *Slov Vet Res.* 2015. 52 (2). P. 67–74. UDC 638.121.2:638.144:612.4.09:612.33.

30. Seydur R., Ibamelaker T., Sudhanya R. Hypopharyngeal Gland Activity in Task-Specific Workers Under Brood and Broodless Conditions in *Apis Cera-na Indica* (Fab.). *Journal of Apicultural Science.* 2014. 58(2). P. 59–70. DOI:10.2478/jas-2014-0022.

31. Keskin M., Özkök A. Effects of drying techniques on chemical composition and volatile constituents of bee pollen. *Czech J. Food Sci.*, 2020. 38. P. 203–208. DOI:10.17221/79/2020-CJFS.

REFERENCES

1. Frias, B. E. D., Barbosa, C. D., Laurencio, A. P. (2016). Pollen nutrition in honey bees (*Apis mellifera L.*). Impact on adult health. *Apidologie.* 47, pp. 15–25. DOI:10.1007/s13592-015-0373-y.

2. Filipiak, M., Kuszewska, K., Asselman, M., Denisow, B., Stawiarz, E., Woyciechowski, M., Weiner, J. (2017). Ecological stoichiometry of the honeybee: Pollen diversity and adequate species composition are needed to mitigate limitations imposed on the growth and development of bees by pollen quality. *PLoS ONE.* 12:e0183236. DOI:10.1371/journal.pone.0183236.

3. Haase, A., Hoffmann, K. (2021). Pollen Diet-Properties and Impact on a Bee Colony. *Insects.* 12(9), 798 p. DOI:10.3390/insects12090798.

4. Dolezal, A. G., Carrillo-Tripp, J., Judd, T. M., Allen Miller, W., Bonning, B. C., Toth, A. L. (2019).

Interacting stressors matter: Diet quality and virus infection in honeybee health. *R. Soc. Open Sci.*, 6:181803. DOI:10.1098/rsos.181803.

5. Chang, H., Ding, G., Jia, G., Feng, M., Huang, J. (2022). Hemolymph Metabolism Analysis of Honey Bee (*Apis mellifera L.*) Response to Different Bee Pollens. *Insects.* 30, 14(1), 37 p. DOI:10.3390/insects14010037.

6. Taha, E., Al-Kahtani, S., Taha, R. (2019). Protein content and amino acids composition of bee-pollens from major floral sources in Al-Ahsa, eastern Saudi Arabia. *Saudi J Biol Sci.*, 26(2), pp. 232–237. DOI:10.1016/j.sjbs.2017.06.003.

7. DeGrandi-Hoffman, G., Gage, S. L., Corby-Harris, V., Carroll, M., Chambers, M., Graham, H., Watkins deJong, E., Hidalgo, G., Calle, S., Azouz-Olden, F., Meador, C., Snyder, L., Ziolkowski, N. (2018). Connecting the nutrient composition of seasonal pollens with changing nutritional needs of honey bee (*Apis mellifera L.*) colonies. *J Insect Physiol.*, 109, pp. 114–124. DOI:10.1016/j.jinsphys.2018.07.002.

8. Di Pasquale, G., Alaux, C., Le Conte, Y., Odox, J. F., Pioz, M., Vaissière, B. E., Belzunces, L. P., Decourtye, A. (2016). Variations in the Availability of Pollen Resources Affect Honey Bee Health. *PLoS One.* 15, 11(9):e0162818. DOI:10.1371/journal.pone.0162818.

9. Corby-Harris, V., Snyder, L. (2018). Measuring Hypopharyngeal Gland Acinus Size in Honey Bee (*Apis mellifera L.*) Workers. *J Vis Exp.*, (139), 58261 p. DOI:10.3791/58261.

10. Corby-Harris, V., Snyder, L., Meador, C., Ayotte, T. (2018). Honey bee (*Apis mellifera*) nurses do not consume pollens based on their nutritional quality. *PLoS One.* 13(1):e0191050. DOI:10.1371/journal.pone.0191050.

11. Wright, G. A., Nicolson, S. W., Shafir, S. (2018). Nutritional Physiology and Ecology of Honey Bees. *Annu Rev Entomol.* 7, 63, pp. 327–344. DOI:10.1146/annurev-ento-020117-043423.

12. Liolios, V., Tananaki, C., Kanelis, D. (2022). The microbiological quality of fresh bee pollen during the harvesting process. *Journal of Apicultural Research*, Published online: 03 Nov 2022. DOI:10.1051/apido:2000130.

13. Zheng, B., Wu, Z., Xu, B. (2014). The Effects of Dietary Protein Levels on the Population Growth, Performance, and Physiology of Honey Bee Workers During Early Spring. *J Insect Sci.*, 14, 191 p. DOI:10.1093/jisesa/ieu053.

14. Attia, Y., Al-Khalafah, H., Ibrahim, M., Al-Hamid, A., Al-Harthi, M., El-Naggar, A. (2017). Blood Hematological and Biochemical Constituents, Antioxidant Enzymes, Immunity and Lymphoid Organs of Broiler Chicks Supplemented with Propolis, Bee Pollen and Mannan Oligosaccharides Continuously or Intermittently. 96 (12), pp. 4182–4192. DOI:10.3382/ps/pex173.

15. Sirotkin, A., Tarko, A., Alexa, R., Fakova, A., Alwasel, S., Harrath, A. (2020). Bee pollens originating from different species have unique effects on ovarian cell functions. *Pharm Biol.*, 58 (1), pp. 1101–1106. DOI:10.1080/13880209.2020.183 9514.
16. Kolesarova, A., Bakova, Z., Capcarova, M., Galik, B., Juracek, M., Simko, M., Toman, R., Sirotkin, A.V. (2013). Consumption of bee pollen affects rat ovarian functions. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)*, 97 (6), pp. 1059–1065. DOI:10.1111/jpn.12013.
17. Kolesarova, A., Capcarova, M., Bakova, Z., Galik, B., Juracek, M., Simko, M., Sirotkin, A. (2011). The effect of bee pollen on secretion activity, markers of proliferation and apoptosis of porcine ovarian granulosa cells *in vitro*. *J Environ Sci Health B*, 46(3), pp. 207–212. DOI:10.1080/03601234.2011.540202.
18. Höcherl, N., Siede, R., Illies, I., Gätschenberger, H., Tautz, J. (2012). Evaluation of the nutritive value of maize for honey bees. *J Insect Physiol.*, 58(2), pp. 278–85. DOI:10.1016/j.jinsphys.2011.12.001.
19. Branchiccela, B., Castelli, L., Corona, M. (2019). Impact of nutritional stress on the honeybee colony health. *Sci Rep.*, 9, 10156 p. DOI:10.1038/s41598-019-464 53-9.
20. Béjar, V., Garduño, J., Calvillo, K., García, E. (2022). Survival, Body Condition, and Immune System of *Apis mellifera ligustica* Fed Avocado, Maize, and Polyfloral Pollen Diet. *Neotrop Entomol.* 51(4), pp. 583–592. DOI:10.1007/s13744-022-00974-7.
21. Pasquale, G., Salignon, M., Conte, Y., Belzunces, L., Decourtye, A., Kretzschmar, A., Suchail, S., Brunet, J., Alaux, C. (2013). Influence of pollen nutrition on honey bee health: do pollen quality and diversity matter? *PLoS One.* 5, 8(8):e72016. DOI:10.1371/journal.pone.0072016.
22. Azzouz-Olden, F., Hunt, A., DeGrandi-Hoffman, G. (2018). Transcriptional response of honey bee (*Apis mellifera L.*) to differential nutritional status and *Nosema* infection. *BMC Genomics.* 19(1), 628 p. DOI:10.1186/s12864-018-5007-0.
23. Kjeldahl, J. (1883). Neue Methode sur Bestimmung der Stickstoffs in organischen Korpern. *S. Anal. Shem.*, no. 22, 366 p.
24. Stabler, D., Power, E., Borland, A. (2018). A method for analysing small samples of floral pollen for free and protein-bound amino acids. *Methods Ecol Evol.* 9(2), pp. 430–438. DOI:10.1111/2041-210X.12867.
25. Kovalskyi, Yu.V., Kyryliv, Ya.I. (2014). The influence of the vital range of temperature on the physiological, biochemical and morphological parameters of honey bees (*Apis mellifera L.*) in the post-embryonic period: methodological recommendations. Lviv: Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies of Lviv, 105 p.
26. Kovalskyi, Yu., Kyryliv, Ya. (2014). The effect of reduced incubation temperature of honey bee brood on the morphological features of the structure of the pharyngeal gland. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies*, Vol. 16, no. 3 (60), Part 2, pp. 141–147.
27. Shcherbatyy, Z. Ye., Kos, V. F., Kropyvka, Yu. H. (2014). *Henetyka z biometriyeyu [Genetics with biometrics]. (Laboratno-praktychnyy kurs [(Laboratory and practical course)]*. Lviv, 288 p.
28. Al-Sherif, A., Mazeed, A., Ewis, M., Emad, A., Hagag, E., Kamel, A. (2017). Activity of salivary glands in secreting honey-elaborating enzymes in two subspecies of honeybee (*Apis mellifera L.*). *Physiologicak Entomology*. First published: 29 August 2017. DOI:10.1111/phen. 12213.
29. Smodiš Škerl, M., Gregorc, A. (2015). Characteristics of hypopharyngeal glands in honeybees (*Apis mellifera carnica*) from a nurse colony. *Slov Vet Res*, 52 (2), pp. 67–74. UDC 638.121.2:638.144:612 .4.09:612.33.
30. Seydur, R., Ibamelaker, T., Sudhanya, R. (2014). Hypopharyngeal Gland Activity in Task-Specific Workers Under Brood and Broodless Conditions in *Apis Cerana Indica* (Fab.). *Journal of Apicultural Science*, 58(2), pp. 59–70. DOI:10.2478/jas-2014-0022.
31. Keskin, M., Özkök, A. (2020). Effects of drying techniques on chemical composition and volatile constituents of bee pollen. *Czech J. Food Sci.*, 38, pp. 203–208. DOI:10.17221/79/2020-CJFS.

The effect of the method of preservation of bee honey on the development of the pharyngeal gland in honey bees *Apis mellifera L*

Kovalskyi Yu., Perig N.

Modern agricultural systems involve the use of large monocultures, which significantly limits the variety of flowers for bees. The article presents data on the biochemical composition of monofloral bee pollen and its influence on the development of pharyngeal glands in honey bees. The conducted studies give reason to believe that the protein content in bee pollen depends on the species origin and the preservation method. The studied samples for protein content show that its amount ranges from 11.9 to 24.9 %. The maximum amount of protein was found in fresh rapeseed and apple bee pollen. To study the influence of monofloral diets on the growth and development of the pharyngeal gland, 9 groups of analogous bee families were formed, 3 in each, which were fed three types of feed. The first type is fresh bee pollen from the following plants: apple tree, dandelion, winter rapeseed, buckwheat, clover, chestnut, raspberry. The second type is a similar bee pollen, only after a year of deep freezing storage. The ration of the third species consisted of the indicated bee pollen only in the process of harvesting it was dried. Along with this, the formed group of bee families was divided into two more subgroups. Some consumed mixed feed in equal proportions, others did not have any protein feed. The duration of the experiment was 15 days. On the 10th day, the development

of acini of the pharyngeal gland was determined. The morphometry of the acini and the dynamics of vesicle filling indicate that the best indicators were found in the group of bees that consumed mixed bee pollen. A highly beneficial increase in the length and width of the acini of the pharyngeal gland was revealed by 36.4 and 34.7 % compared to bees that did not consume pollen at all. A group of bees that received fresh rapeseed and apple seed in their diet fully demonstrated their potential for royal jelly production. The worst development of the pharyngeal gland was found in the

group of bees that consumed dried dandelion nectar. In this group of bees, the area of the acini ranged from 15.5 to 16.4 thousand μm^2 . The relationship between the protein content in the diet and the degree of development of the pharyngeal gland was revealed. Of the researched methods of its preservation, the conditions of deep freezing turned out to be the best. The use of experimental monofloral diets has a negative effect on the internal indicators of the body of honey bees.

Key words: *Apis mellifera* L., pharyngeal gland, nutrition, protein, bee pollen, pollen storage.



Copyright: Ковальський Ю.В., Періг М.Д. © This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.



ORCID iD:

Ковальський Ю.В.

Періг М.Д.

<https://orcid.org/0000-0002-5751-5844>

<https://orcid.org/0000-0001-5933-728X>