






**original article** | UDC 638.158:546.655-022.513.2 | doi: 10.31210/visnyk2022.04.18**BIOLOGICAL EFFECTIVENES OF COLLOIDAL (NANOSIZED) CERIUM DIOXIDE  
IN APIS MELLIFERA BEES***L. Nikitina*<sup>1\*</sup>ORCID  [0000-0002-8153-2812](https://orcid.org/0000-0002-8153-2812)*D. Zasiakin*<sup>1</sup>ORCID  [0000-0001-9358-214X](https://orcid.org/0000-0001-9358-214X)*N. Zholobak*<sup>2</sup>ORCID  [0000-0003-2792-9787](https://orcid.org/0000-0003-2792-9787)*T. Efimenko*<sup>3</sup>ORCID  [0000-0001-9611-6769](https://orcid.org/0000-0001-9611-6769)*G. Odnosum*<sup>3</sup>ORCID  [0000-0001-5126-4952](https://orcid.org/0000-0001-5126-4952)*V. Postoienko*<sup>3</sup>ORCID  [0000-0002-6515-7004](https://orcid.org/0000-0002-6515-7004)<sup>1</sup> National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, 15 Heroyiv Oborony St., Kyiv, 03041, Ukraine<sup>2</sup> Institute of Microbiology and Virology named after D. K. Zabolotnyi of National Academy of Sciences of Ukraine, 154 Akademika Zabolotnogo St., Kyiv, 03143, Ukraine<sup>3</sup> National Scientific Center “Institute of beekeeping named after P. I. Prokopovych”, 19 Akademika Zabolotnogo St., Kyiv, 03680, Ukraine

\*Corresponding author

E-mail: [lesja.nikitina@gmail.com](mailto:lesja.nikitina@gmail.com)

## How to Cite

Nikitina, L., Zasiakin, D., Zholobak, N., Efimenko, T., Odnosum, G., & Postoienko, V. (2022). Biological effectiveness of colloidal (nanosized) cerium dioxide in *Apis mellifera* bees. *Bulletin of Poltava State Agrarian Academy*, (4), 148–157. doi: 10.31210/visnyk2022.04.18

The paper presents the results of experimental studies on determining the biological effect on bees at oral and contact ingestion of colloidal (nanosized) cerium dioxide (nano-CeO<sub>2</sub>). The research was carried out based on the laboratory of technological and special measures for the prevention of bee diseases of the National Scientific Center “Institute of beekeeping named after P. I. Prokopovych” and in the laboratory apiary. The drug was used twice in concentrations of 58 mM; 29 mM; 5,8 mM; 2,9 mM with an interval of 7 days during 24 hours with 50% sugar syrup. The body of the bees was also treated twice with aqueous solutions of drugs from a fine-dispersed sprayer on the days of drug feeding. The experimental insects were kept in a thermostat at a temperature of 34–35°C and a relative humidity of 60–70%. The conducted research found that all of the examined concentrations did not reveal acute toxicity for bees, but concentrations of 58 mM; 29 mM; 5,8 mM accelerated their mortality up to 30% during feeding (22,8±8,7 – in the control and 55,3±15,5 – in the experiment) and up to 40% – for processing their body (40,0±14,2 – in the control and 79,2±11,0 – in the experiment). At the same time, no clear correspondence was observed between the mortality of insects and the concentration of the drug. However, nano-CeO<sub>2</sub> in a concentration of 2,9 mM prolonged the life of bees, which indicates its bio-stimulating effect. The optimal concentration of 2,9 mM tested under natural conditions for the recovery of bee colonies, in comparison with the “Sterile period for the recovery of bee queen removal” – a technological means that proved to be effective for fungal and bacterial diseases of the bee brood. It was found that feeding bees with nano-CeO<sub>2</sub> at a concentration of 2,9 mM reduced foulbrood from a high (more than 50 larvae per hive) to a medium degree (10–50 larvae per hive), compared to this indicator of the control group. Creating a sterile period in sick families for the duration of the breeding of new bee queens proved to be an effective measure. Based on obtained results regarding the increase in the survival period of 50% of bees under laboratory conditions of feeding them on sugar syrup together with colloidal (nano-sized) cerium dioxide in a concentration of 2,9 mM or lower it is

possible to recommend this approach for further research on bee colonies the subject of therapeutic and prophylactic properties for viral, fungal, bacterial diseases of the bee brood.

**Keywords:** *Apis mellifera*, colloidal (nanosized) cerium dioxide (nano-CeO<sub>2</sub>), toxicity, oral and contact use, bee diseases, Sacbrood virus, bee barren period.

### БІОЛОГІЧНА ЕФЕКТИВНІСТЬ КОЛОЇДНОГО (НАНОРОЗМІРНОГО) ДІОКСИДУ ЦЕРІЮ У БДЖІЛ *APIS MELLIFERA*

Л. М. Нікітіна<sup>1</sup>, Д. А. Засєкін<sup>1</sup>, Н. М. Жолобак<sup>2</sup>, Т. М. Єфіменко<sup>3</sup>, Г. В. Односум<sup>3</sup>, В. О. Постоецько<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Національний університет біоресурсів та природокористування України, м. Київ, Україна

<sup>2</sup> Інститут мікробіології і вірусології імені Д. К. Заболотного НАН України, м. Київ, Україна

<sup>3</sup> ННЦ «Інститут бджільництва імені П. І. Прокоповича», м. Київ, Україна

У роботі наведено результати експериментальних досліджень з визначення біологічної дії для бджіл за умови перорального та контактного потрапляння в їх організм колоїдного (нанорозмірного) церію діоксиду (нано-CeO<sub>2</sub>). Дослідження проведені в ННЦ «Інститут бджільництва імені П. І. Прокоповича» на базі пасіки та в лабораторії технологічних та спеціальних заходів профілактики захворювань бджіл. Нано-CeO<sub>2</sub> застосовували протягом 24 годин як підгодівлю у складі 50 % цукрового сиропу в концентраціях 58 мМ; 29 мМ; 5,8 мМ; 2,9 мМ двічі з інтервалом 7 днів. Поверхню тіла бджіл обробляли водними розчинами нано-CeO<sub>2</sub> у відповідних концентраціях з дрібнодисперсного обприскувача також двічі з дати згодовування. Дослідних комах утримували в термостаті за температури 34–35°C та відносній вологості 60–70 %. Встановлено, що всі із досліджених концентрацій не виявили гострої токсичної дії, однак у концентрації 58 мМ; 29 мМ; 5,8 мМ нано-CeO<sub>2</sub> прискорювали їх відмирання до 30 % в режимі згодовування (22,8±8,7 – у контролі і 55,3±15,6 – у досліді) і до 40% – за умови обробки поверхні тіла бджіл (40,0±14,2 % – у контролі і 79,2±11,0 % – у досліді). Чіткої закономірності між швидкістю відмирання комах і вказаними концентраціями розчину не виявлено. Водночас колоїдний розчин нано-CeO<sub>2</sub> в концентрації 2,9 мМ подовжує життя бджіл у півтора раза порівняно з контрольною групою комах, що свідчить про його біостимулюючий ефект. З метою оздоровлення бджолиних сімей у природних умовах апробована мінімальна досліджена, прийнята як оптимальна (2,9 мМ) концентрація нано-CeO<sub>2</sub>. З'ясовано, що згодовування бджолам нано-CeO<sub>2</sub> з цукровим сиропом та обробка розплоду і поверхні тіла бджіл водним розчином нано-CeO<sub>2</sub> в концентрації 2,9 мМ зменшували ураження гнильцем до середнього ступеня (10–50 личинок на стільник) порівняно із високим (понад 50 личинок на стільник) показником контрольної групи. Ефективним оздоровчим заходом виявилось створення у хворих сім'ях безрозплідного періоду на термін виведення нових маток (28–35 днів). На підставі отриманих результатів щодо збільшення періоду виживання 50 % бджіл за лабораторних умов згодовування цукрового сиропу разом з нано-CeO<sub>2</sub> в концентрації 2,9 мМ, можна рекомендувати цей підхід для подальшого дослідження на бджолиних сім'ях лікувальних та профілактичних заходів за наявності вірусних та бактеріальних хвороб розплоду.

**Ключові слова:** *Apis mellifera*, колоїдний (нанорозмірний) діоксид церію (нано-CeO<sub>2</sub>), токсичність, пероральне та контактне застосування, хвороби бджіл, вірус мішечкуватого розплоду, безрозплідний період.

#### Вступ

Оксид церію, діоксид церію, двоокис церію (CeO<sub>2</sub>) – хімічна сполука церію і кисню. Утворюється випалюванням оксалату церію чи гідроксиду церію. Розповсюджена і доступна за ціною речовина має унікальні окисно-відновні властивості, що визначають широке коло її застосування. Нанорозмірні частинки діоксиду церію здатні зворотно поглинати та вивільняти кисень, що робить можливим їх застосування в медицині і ветеринарії при лікуванні захворювань, пов'язаних із розвитком окислювального стресу. Наночастинки церію діоксиду (нано-CeO<sub>2</sub>) та матеріали на їх основі широко використовуються у промислових, екологічних, біоаналітичних, біомедичних сферах. Нано-CeO<sub>2</sub> підвищує активність антимікробних препаратів та є агентом для їх доставки у клітини. Окрім того, нано-CeO<sub>2</sub> властива антивірусна, антибактеріальна та антифунгальна дія [1–2]. Зважаючи на те, що бджоли мають схильність до захворювань, що спричиняють патогенні бактерії, грибки, мікроспоридії та віруси, ми припустили, що згодовування колоїдного (нанорозмірного) діоксиду церію (нано-CeO<sub>2</sub>) може мати певну оздоровчу дію на організм бджіл. Загострення вірусних захворювань у бджіл часто

спостерігається при високому ступені інвазії кліщем *Varroa destructor* та мікроспоридіями *Nosema apis* і *Nosema ceranae* [3–10].

Проти вірусних захворювань імаго бджіл та розплоду рекомендують антивірусні препарати природного походження чи хімічного синтезу: лозеваль, ізатизон, рибонуклеазу, ендонуклеазу, а також препарати, що містять ремантадину гідрохлорид, аскорбінову кислоту, екстракт часнику, амінокислоти, вітаміни групи А, В, глюкозу тощо [3, 11–13].

Наші дослідження протягом багатьох років були спрямовані на пошук та апробацію безпечних для бджіл та довкілля технологічних прийомів, речовин і препаратів рослинного та біоорганічного походження, які могли би бути ефективними для оздоровлення бджіл за наявності інфекційних та інвазійних захворювань [14]. Ми вперше апробували й запропонували для оздоровлення бджолиних сімей за наявності хвороб розплоду (аскосферозу та європейського гнильцю) технологічний прийом створення у хворих сім'ях «Безрозплідного періоду на термін виведення нової матки» [15–16].

Нині актуальними є дослідження, спрямовані на пошук та апробацію речовин і препаратів, а також технологічних прийомів, безпечних для бджіл та довкілля, які могли би бути ефективними для оздоровлення бджіл за наявності вірусних захворювань.

**Мета роботи** – визначити в лабораторних умовах на ізольованих у садки бджолах біологічну дію колоїдного (нанорозмірного) діоксиду церію (нано- $\text{CeO}_2$ ) (в концентраціях 58 мМ; 29 мМ; 5,8 мМ; 2,9 мМ) за умови його контактного чи перорального потрапляння в організм та дослідити вплив на бджіл у природних умовах оптимальної із відібраних концентрацій нано- $\text{CeO}_2$ .

### Матеріали і методи досліджень

Досліди з визначення біологічної дії для бджіл та ефективності діоксиду церію (нано- $\text{CeO}_2$ ) у лабораторних та природних умовах проведені в лабораторії технологічних та спеціальних заходів профілактики захворювань бджіл ННЦ «Інститут бджільництва імені П. І. Прокоповича» та на пасіці лабораторії в рамках творчих договорів з Національним університетом біоресурсів і природокористування України та Інститутом мікробіології і вірусології імені Д. К. Заболотного НАН України. У досліді задіяна українська степова порода бджіл *Apis mellifera*.

**Досліди за лабораторних умов** проведені на льотних бджолах літньої генерації, відібраних у садки безпосередньо перед дослідом у червні. Пероральну дію нано- $\text{CeO}_2$  визначали шляхом згодовування дослідним бджолам 50 %-го цукрового сиропу з препаратом у концентраціях 58 мМ; 29 мМ; 5,8 мМ; 2,9 мМ, стоковий золь якого отримано від к.х.н., с.н.с. ІМВ імені Д. К. Заболотного НАН України О. Б. Щербакова (відповідні розведення золю готували *ex tempore*). Контактну дію нано- $\text{CeO}_2$  вивчали шляхом обприскування тіла бджіл водним розчином препарату в цих же ж концентраціях. Препарати у складі 50 %-го цукрового сиропу згодовували бджолам у день відбору в дослід протягом 24 годин. Повторне згодовування проводили через 7 днів. Поверхню тіла бджіл обробляли водним зольом нано- $\text{CeO}_2$  з дрібнодисперсного обприскувача також двічі в дати згодовування препаратів. Дослідних комах утримували в термостаті за температури 34–35°C та відносної вологості 60–70 %. Одному варіанту відповідала одна досліджувана концентрація нано- $\text{CeO}_2$ . Кожен варіант мав три повторності по 15–30 бджіл у кожній. Облік смертності комах проводили кожні 48 годин протягом двох тижнів від початку досліді. На базі отриманих даних визначено відсоток смертності у кожній групі на відповідний день спостереження, розраховано середню гармонічну тривалість життя ( $\tau$ ) для кожної групи бджіл за формулою:

$1/\tau = (1/t_1 + 1/t_2 + \dots + 1/t_N)/N$ , де  $t_1, t_2 \dots t_N$  – час життя кожної комахи у групі з  $N$  комах, оброблених відповідною дозою. Комахам, що залишились живими на закінчення періоду спостереження, брали умовний час виживання – 20 діб [17]. Визначено тривалість виживання 50 % комах у групах із застосуванням методу Ріда і Менча [18, 19] за формулою:

$$T_{50} = T_{>50} - (C_{>50} - 50) / (C_{>50} - C_{<50}),$$

де  $T_{50}$  – тривалість виживання 50 % комах у групі,  $T_{>50}$  – доба, коли відмерло більше 50 % бджіл з групи,  $C_{>50}$  – відсоток відмерлих бджіл у  $T_{>50}$ ,  $C_{<50}$  – відсоток відмерлих бджіл у  $T_{<50}$ . Статистична обробка проведена із застосуванням методів непараметричної статистики: розраховані медіанні показники, 1 та 3 інтерквартильний інтервал.

**Досліди за природних умов** проведено на пасіці лабораторії технологічних та спеціальних заходів профілактики захворювань бджіл, на якій улітку 2021 р. було досліджено біологічну ефективність нано- $\text{CeO}_2$  в концентрації 2,9 мМ. Сім'ї на момент дослідження загалом мали по 6–7 рамок, обсиджених бджолами. У досліді був передбачений контроль – сім'ї, які обробляли тільки водою у дні обробок дослідних сімей препаратом. На кожен варіант брали по 3 сім'ї.

Обробляли бджолині сім'ї 4-кратно. Для цього згодовували препарат у концентрації 2,9 мМ у складі 50 % цукрового сиропу (у об'ємі 1 л на сім'ю) з одночасним обприскуванням тіла бджіл та розплоду його водним розчином у цій же концентрації з інтервалом 7 діб (2.08; 9.08; 16.08; 23.08) із розрахунку 10 мл на вулик. Бджолам контрольної групи застосовували обробку 50 %-им цукровим сиропом (у об'ємі 1 л на сім'ю) з додаванням аналогічного об'єму кип'яченої води.

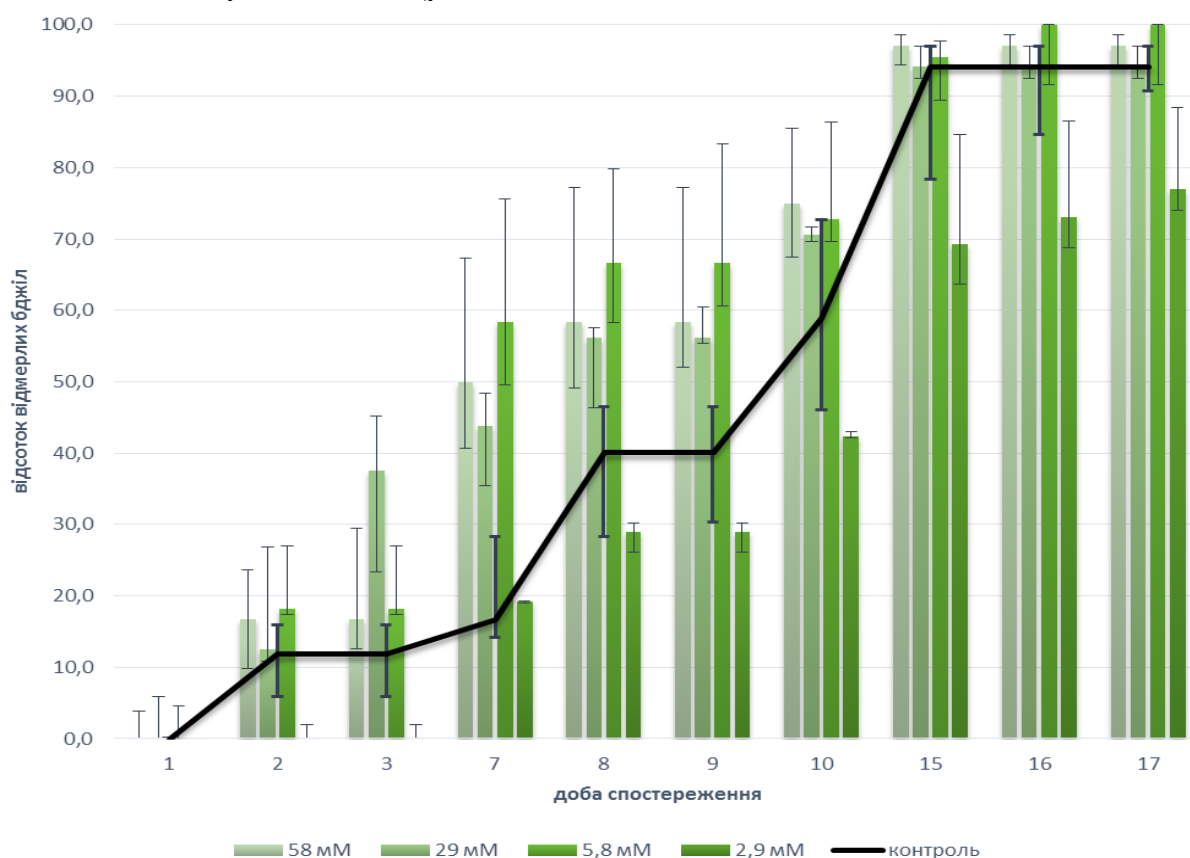
Безрозплідний період у дослідних варіантах створювали шляхом вилучення із хворих сімей маток на термін виведення нових і початку відкладання яєць як описано [15]. Спостереження за дослідними сім'ями тривало до припинення яйцекладки матками, пов'язаного з настанням осінньо-зимового періоду (листопад 2021).

### Результати досліджень та їх обговорення

**За лабораторних умов проведено дослід** з визначення пероральної та контактної дії нано- $\text{CeO}_2$  на бджіл, ізольованих у садки. Отримані результати представлені на малюнках 1 і 2 та в таблицях 1 і 2.

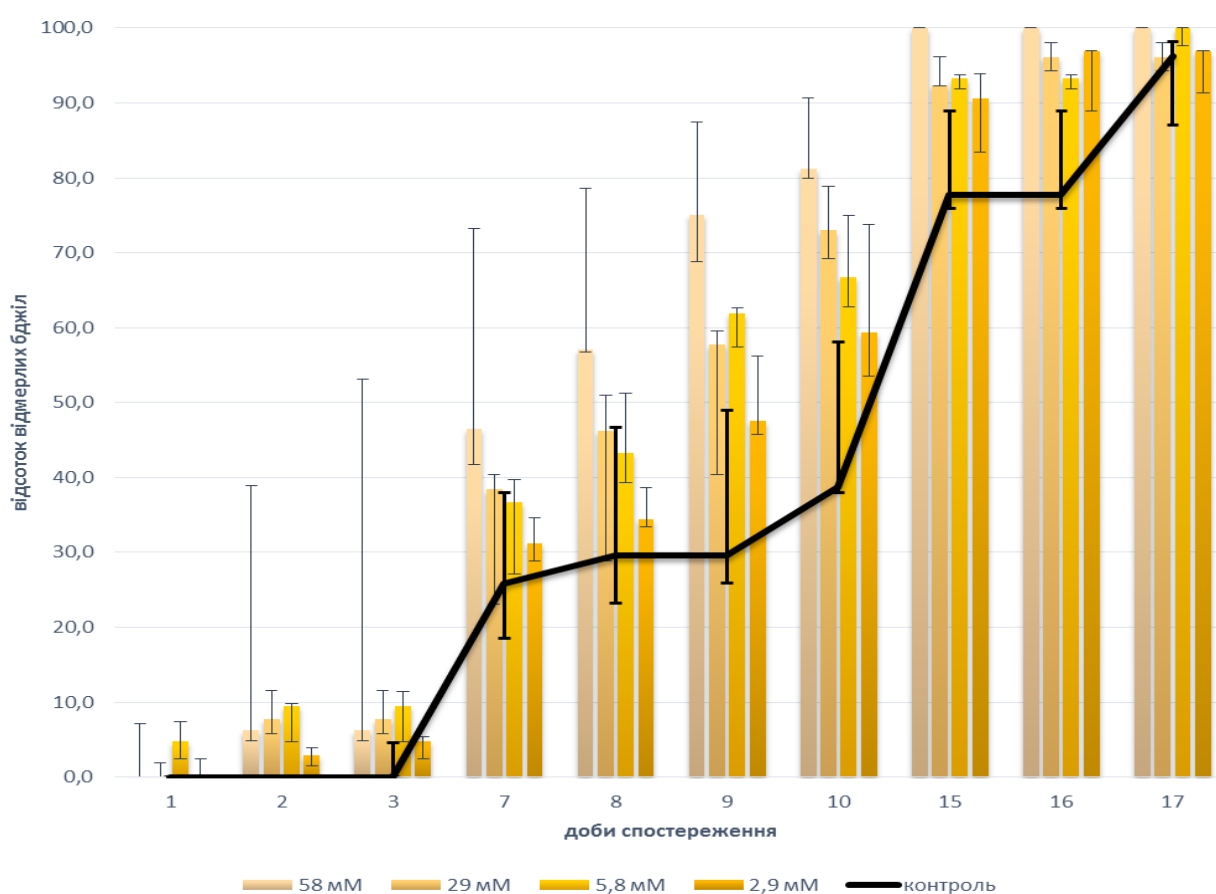
Встановлено, що згодовування бджолам 50 %-го цукрового сиропу з нано- $\text{CeO}_2$  в усіх досліджених концентраціях (58 мМ; 29 мМ; 5,8 мМ) не справляло гострого токсичного впливу для бджіл, однак прискорювало їх відмирання порівняно з контролем на різних часових відрізках у процесі моніторингу природного відмирання комах до 30 % ( $22,8 \pm 8,7$  % – у контролі і  $55,3 \pm 15,6$  % – у досліді). При цьому чіткої залежності між швидкістю відмирання і концентрацією препарату не виявлено. Водночас нано- $\text{CeO}_2$  в концентрації 2,9 мМ практично півторакратно подовжує життя бджіл, що свідчить про біостимулюючий ефект.

Що стосується обробки поверхні тіла бджіл водним розчином нано- $\text{CeO}_2$ , то препарат також не виявляв гострої токсичної дії в усіх досліджених концентраціях, однак найбільша із них (58 мМ) значною мірою прискорювала їх відмирання (до 40 %) порівняно з контрольними комахами, у яких поверхню тіла обробляли водою без нано- $\text{CeO}_2$  ( $40,0 \pm 14,2$  % – у контролі і  $79,2 \pm 11,0$  % – у досліді). Динаміка відмирання бджіл при обробці водним розчином нано- $\text{CeO}_2$  в концентраціях була практично тотожна з такою контрольних комах (рис. 2).



**Рис. 1.** Показники відмирання ізольованих у садках бджіл за умови двократного перорального застосування різних концентрацій нано- $\text{CeO}_2$  у складі 50 % цукрового сиропу.

Примітки: результати представлені як медіана та 1 і 3 інтерквартильний інтервал.



**Рис. 2.** Показники відмирання ізольованих у садках бджіл за умови їх двократної обробки різними концентраціями водного золю  $\text{nano-CeO}_2$ .

Примітки:– результати представлені як медіана та 1 і 3 інтерквартильний інтервал.

Відомо, що ступінь загальної небезпечності наночастинок може бути вищим, ніж такий для мікро- та макроматеріалів та залежати від великої кількості характеристик і властивостей наночастинок та їх змін в організмі [20, 21]. Підтвердженням є виявлена в лабораторних досліджах певна токсичність при контактному та пероральному попаданні в організм бджіл досліджених надвисоких концентрацій  $\text{nano-CeO}_2$ .

Інтегральним показником токсичності  $\text{nano-CeO}_2$  для досліджених об'єктів є показник середньої гармонічної тривалості життя бджіл –  $\tau$ , який враховує час життя кожної комахи та чисельність оброблених відповідною концентрацією  $\text{nano-CeO}_2$  бджіл у групі. Результати розрахунку показника середньої гармонічної тривалості життя бджіл у кожній із груп наведено у таблиці 1.

**1. Середня гармонічна тривалість (доби спостереження) життя ізольованих у садках бджіл за умови різних способів застосування  $\text{nano-CeO}_2$**

Спосіб застосування	Концентрація $\text{nano-CeO}_2$ , мМ				
	0 (контроль)	2,9	5,8	29	58
пероральне введення	8,2 (7,7-10,6)	11,6** (11,5-12,1)	6,5* (5,8-6,9)	6,3* (5,4-7,5)	7,3 (6,0-8,3)
обробка тіла	11,7 (10,1-12,1)	9,2* (9,1-9,9)	7,9** (7,4-9,4)	8,2** (7,8-9,2)	8,6** (5,8-8,7)

Примітки: \* –  $P < 0,05$  та \*\* –  $P < 0,01$  відносно показників контрольної групи бджіл, результати представлені як Me (LQ–UQ), де Me – медіана, LQ – 1 квартиль, UQ – 3 квартиль.

Отримані результати свідчать, що пероральне застосування nano-CeO<sub>2</sub> у мінімальній дослідженій концентрації 2,9 мМ на ~40 % збільшує значення показника середньої гармонічної тривалості життя бджіл у групі. Але вже двократне збільшення концентрації – 5,8 мМ – статистично суттєво зменшує тривалість життя комах у групі ( $P < 0,05$ ). Цікаво, що концентрація nano-CeO<sub>2</sub>, яка є в десять разів вищою – 58 мМ – не викликає статистично значущого скорочення тривалості життя бджіл, навіть порівняно із контрольними комахами. Тобто токсичні ефекти за умови перорального застосування nano-CeO<sub>2</sub> мають нелінійний характер: у максимально дослідженій концентрації зниження показника середньої гармонічної тривалості життя бджіл є недостовірним, у діапазоні концентрацій ~5–30 мМ зниження вказаного показника на 20 % є статистично значущим ( $P < 0,05$ ), а його статистично значуще ( $P < 0,01$ ) збільшення показано за умови концентрації ~3 мМ.

З іншого боку, обробка поверхні тіла бджіл водним розчином nano-CeO<sub>2</sub> у всіх досліджених концентраціях супроводжувалась статистично значимим зниженням показника середньої гармонічної тривалості життя на ~20–30 %.

Визначення тривалості виживання 50 % комах у групі дозволяє тонко охарактеризувати можливий токсичний чи стимулюючий вплив досліджуваних речовин на цілісний організм. У таблиці 2 наведені розраховані за отриманими значеннями відсотку відмерлих бджіл дані тривалості (добы спостереження) виживання 50 % комах у експериментальних групах.

**2. Тривалість (добы спостереження) виживання 50 % ізольованих у садках бджіл за умови різних способів застосування nano-CeO<sub>2</sub>**

Спосіб застосування	Концентрація nano-CeO <sub>2</sub> , мМ				
	0 (контроль)	2,9	5,8	29	58
пероральне введення	<b>9,5</b>	<b>13,3*</b>	6,8*	7,5*	7,0*
	<b>(9,1-13,1)</b>	<b>(13,2-13,4)</b>	(6,5-7,0)	(7,2-8,4)	(6,5-8,3)
обробка тіла	<b>13,3</b>	9,2	8,4*	8,3*	7,3*
	<b>(9,1-14,3)</b>	(8,6-9,6)	(7,9-8,6)	(7,9-9,3)	(2,8-7,6)

*Примітки:* \* –  $P < 0,05$  відносно показників контрольної групи бджіл, результати представлені як Me (LQ–UQ), де Me – медіана, LQ – 1 кuartиль, UQ – 3 кuartиль.

Отримані результати свідчать, що мінімальна концентрація nano-CeO<sub>2</sub> – 2,9 мМ – за умови його двократного перорального застосування як підгодівлі у складі 50 % цукрового сиропу забезпечує статистично значуще збільшення тривалості виживання 50 % комах (13,3 доби за 2,9 мМ концентрації nano-CeO<sub>2</sub> проти 9,5 доби у контролі). Вищі концентрації nano-CeO<sub>2</sub>, навпаки, знижували вказаний показник на ~20–30 %.

Обробка поверхні тіла бджіл у всіх досліджених концентраціях nano-CeO<sub>2</sub> супроводжувалась зменшенням показника тривалості виживання 50 % бджіл на ~30–45 %. Указана закономірність концентраційно залежна.

Застосований спосіб обробки поверхні тіла бджіл дав негативні значення середньої гармонічної тривалості життя (табл. 1) та тривалості виживання 50 % бджіл (табл. 2), які можуть бути зумовлені агрегацією наночастинок nano-CeO<sub>2</sub> на поверхні тіла бджіл, що може порушувати газообмін та спричиняти численні пошкодження чутливих ворсинок і, як наслідок – прискорене відмирання комах. Зважаючи на отримані результати, можна зауважити, що, зважаючи на особливості біології бджіл, а також фізико-хімічні властивості золей наночастинок, застосований технологічний прийом обробки поверхні тіла водними золями наночастинок (не тільки nano-CeO<sub>2</sub>) може бути неефективним для комах.

**Дослід за природних умов** проведено в період із серпня по листопад 2021 р. Оскільки в лабораторних умовах згодовування бджолам препарату nano-CeO<sub>2</sub> з цукровим сиропом та обробка поверхні тіла бджіл його водним розчином гострої токсичності не мали, а пероральне застосування мінімальної дослідженої концентрації супроводжувалось статистично значущим збільшенням показників середньої гармонічної тривалості життя та тривалості виживання 50 % бджіл, для виявлення можливого антивірусного ефекту nano-CeO<sub>2</sub> у бджолиних сім'ях за природних умов була застосована саме концентрація 2,9 мМ.

Відомо, що вірус мішечкуватого розплоду (ВМР) – це перший вірус, ідентифікований у медоносних бджіл [22], і він залишається одним із найрозповсюдженіших вірусів бджіл у світі [23–25].

За ураження у природних умовах розплоду бджіл ВМР (кількість личинок на стільник становила від 10 до понад 50) визначили вплив одночасного перорального застосування та обробки поверхні

тіла бджіл нано- $\text{CeO}_2$  у концентрації 2,9 мМ. Встановлено, що після 4-кратного згодовування бджолиним сім'ям 2,9 мМ нано- $\text{CeO}_2$  у складі 50 % цукрового сиропу (в об'ємі 1 л на сім'ю) з одночасним обприскуванням тіла бджіл та розплоду його водним розчином у цій же концентрації з інтервалом 7 діб із розрахунку 10 мл на вулик, ступінь ураження сімей гнильцем був середнім: становив 10–50 личинок на стільник та не змінювався протягом періоду спостережень. У контрольних бджолиних сім'ях, оброблених тільки водою, ступінь ураження гнильцем був сильним: понад 50 личинок на стільник. Виявлений незначний антивірусний ефект нано- $\text{CeO}_2$  у бджолиних сім'ях за природних умов може бути зумовлений особливістю біології бджіл, що не виключає перспектив для його подальшого випробування у визначених концентраціях та схемах застосування (пероральне введення) за інфекційних захворювань бджіл.

Слід зазначити, що особливістю інфекційного процесу, спричиненого ВМР, є здатність вірусу інфікувати бджіл як вертикально, так і горизонтально, а вірусні частки, присутні на пилку, мертвих личинках, чи в меду, є заразними протягом 4-х тижнів [26–27]. Тобто доросла бджола, збираючи інфікований пилко, транспортує ВМР у вулик. Подальше інфікування усієї бджолиної сім'ї може відбуватись при споживанні такого пилку та через зараження бджіл-годувальниць [28]. Інші здорові бджоли-годувальниці можуть заразитися при чистці вулика та видаленні інфікованих личинок. Тобто весь інфекційний процес пов'язаний із харчовим ланцюжком у бджолиній сім'ї. Саме тому пероральне застосування препаратів, що здатні забезпечувати резистентність до ВМР, є вирішальним (на відміну від обробки поверхні тіла бджіл).

Оскільки умовою проникнення ВМР всередину клітини є кислий рН [29], а рН золю нано- $\text{CeO}_2$  зміщений у лужний діапазон (7,8–8,2), його пероральне застосування у складі 50% цукрового сиропу в рамках підгодівлі бджолиних сімей теж може справляти гальмівний вплив на інфекційний процес, викликаний ВМР. Зважаючи на те, що у *Apis mellifera* відсутній адаптивний імунітет [30], основні складники їх антиінфекційного захисту – вивільнення антимікробних пептидів, фагоцитоз, меланізація та ферментативне руйнування патогенів [31, 32]. У відповідь на інфікування ВМР у бджіл також активується РНК-інтерференція [33, 34]. Зважаючи на дані [35] щодо мінімальної віруліцидної дії нано- $\text{CeO}_2$  проти вірусів, які не мають суперкапсиду, а ВМР належить до їх числа, антивірусна ефективність нано- $\text{CeO}_2$  може бути пов'язана саме із впливом на неспецифічну ланку антиінфекційного захисту.

Звичайно, радикальним способом гальмування поширення інфекції у бджолиній сім'ї є припинення репродукції, оскільки найбільш чутливими до ВМР є личинки, що й зумовлює сезонні спалахи інфекційного процесу [36]. В інфікованій бджолиній сім'ї рекомендують стерилізувати соти та вулик, видаляти соти з хворим розплодом для зменшення горизонтальної передачі ВМР. З точки зору вертикальної передачі збудника ізоляція матки на 10–14 днів чи її заміна на молоду і здорову справляє суттєвий позитивний вплив на стан здоров'я бджолиної сім'ї [37]. В попередні роки, коли спостерігалось враження бджолиних сімей аскосферозом та ВМР, нами було підтверджено ефективність такого підходу, що дозволило рекомендувати для оздоровлення бджолиних сімей технологічний прийом «Безрозплідний період на термін виведення нових маток» [15, 16, 38, 39].

### Висновки

1. Згодовування бджолам колоїдного (нанорозмірного) діоксиду церію (нано- $\text{CeO}_2$ ) в концентраціях 58 мМ; 29 мМ; 5,8 мМ; 2,9 мМ у складі 50 % цукрового сиропу в лабораторних умовах не справляло гострої токсичної дії, однак у концентраціях 58 мМ; 29 мМ; 5,8 мМ прискорювало їх відмирання порівняно з контролем до 30 % (22,8±8,7 % – у контролі і 55,3±15,6 % – у досліді). Закономірності між швидкістю відмирання комах і вказаними концентраціями нано- $\text{CeO}_2$  не виявлено. За показниками середньої гармонічної тривалості життя та тривалості виживання 50 % бджіл мінімальна досліджена концентрація нано- $\text{CeO}_2$  – 2,9 мМ – забезпечувала збільшення вказаних показників на 40–50 % порівняно із бджолами в контрольній групі.

2. Обробка тіла бджіл водним золем колоїдного (нанорозмірного) діоксиду церію (нано- $\text{CeO}_2$ ) в концентраціях 58 мМ; 29 мМ; 5,8 мМ не справляла гострої токсичної дії, однак найбільша із них (58 мМ) суттєво прискорювала їх відмирання порівняно з контролем до 40 % (40,0±14,2 % – у контролі і 79,2±11,0 % – у досліді). За показниками середньої гармонічної тривалості життя та тривалості виживання 50 % бджіл жодна із досліджених концентрацій нано- $\text{CeO}_2$  не забезпечувала збільшення вказаного показника, навпаки, спостерігалось 25–30 % зменшення тривалості виживання. Зважаючи на особливості біології бджіл, а також фізико-хімічні властивості золь наночастинок,

технологічний прийом обробки поверхні тіла комах водними золями наночастинок (не тільки нано- $\text{CeO}_2$ ) вважаємо неефективним для них.

3. Застосування нано- $\text{CeO}_2$  у природних умовах певним чином захищає бджолині сім'ї від ураження гнильцем: порівняно із контрольними сім'ями, що мали високий ступінь ураження, у таких бджолиних сімей він був середнім. Ефективним технологічним прийомом для оздоровлення хворих бджолиних сімей є створення «Безрозплідного періоду на термін виведення нових маток» із заміною після виходу розплоду гніздових рамок та дезінфекцією вулика.

*Перспективи подальших досліджень.* Зважаючи на те, що згодовування бджолам нано- $\text{CeO}_2$  з 50 % цукровим сиропом та обробка тіла бджіл його водним розчином у концентраціях 58 мМ; 29 мМ; 5,8 мМ не виявляли гострої токсичної дії, а також на підставі отриманих у лабораторних умовах даних щодо збільшення середньої гармонічної тривалості життя та тривалості виживання 50 % бджіл, згодовування бджолам цукрового сиропу разом з нано- $\text{CeO}_2$  в концентрації 2,9 мМ чи нижче можна рекомендувати для подальшого дослідження на бджолиних сім'ях на предмет лікувальних та профілактичних властивостей нано- $\text{CeO}_2$  за наявності вірусних, грибкових, бактеріальних хвороб розплоду.

### References

1. Shcherbakov, A. B., Zholobak, N. M., & Ivanov, V. K. (2020). Biological, biomedical and pharmaceutical applications of cerium oxide. *Cerium Oxide (CeO<sub>2</sub>): Synthesis, Properties and Applications*, 279–358. doi: 10.1016/b978-0-12-815661-2.00008-6
2. Grinko, A. M., Brichka, A. V., Bakalinska, O. M., & Kartel, M. T. (2019). Properties, preparation methods and use of cerium nanooxide. *Surface*, 11 (26), 436–471. doi: 10.15407/surface.2019.11.436
3. Grobov, O. F., Smirnov, A. M., & Popov, E. T. (1987). *Bolezni i vrediteli medonosnyh pchel : spravochnik*. Moskva: Agropromizdat [In Russian].
4. Allen, M., & Ball, B. (1996). The incidence and world distribution of honey bee viruses. *Bee World*, 77 (3), 141–162. doi: 10.1080/0005772x.1996.11099306
5. Grabensteiner, E., Ritter, W., Carter, M. J., Davison, S., Pechhacker, H., Kolodziejek, J., Boecking, O., Derakhshifar, I., Moosbeckhofer, R., Licek, E., & Nowotny, N. (2001). Sacbrood virus of the honeybee (*Apis mellifera*): Rapid identification and phylogenetic analysis using reverse Transcription-PCR. *Clinical Diagnostic Laboratory Immunology*, 8 (1), 93–104. doi: 10.1128/cdli.8.1.93-104.2001
6. Martin, S. J. (2001). The role of Varroa and viral pathogens in the collapse of honeybee colonies: a modelling approach. *Journal of Applied Ecology*, 38 (5), 1082–1093. doi: 10.1046/j.1365-2664.2001.00662.x.
7. Berthoud, H., Imdorf, A., Haueter, M., Radloff, S., & Neumann, P. (2010). Virus infections and winter losses of honey bee colonies (*Apis mellifera*). *Journal of Apicultural Research*, 49 (1), 60–65. doi: 10.3896/ibra.1.49.1.08
8. Carreck, N. L., Ball, B. V., & Martin, S. J. (2010). Honey bee colony collapse and changes in viral prevalence associated with *Varroa destructor*. *Journal of Apicultural Research*, 49 (1), 93–94. doi: 10.3896/ibra.1.49.1.13.
9. Roy, C., Vidal-Naquet, N., & Provost, B. (2016). A severe sacbrood virus outbreak in a honeybee (*Apis mellifera* L.) colony: a case report. *Veterinárni Medicína*, 60 (6), 330–335. doi: 10.17221/8248-vetmed.
10. Luis, A. R., García, C. A. Y., Invernizzi, C., Branchiccela, B., Piñeiro, A. M. P., Morfi, A. P., Zunino, P., & Antúnez, K. (2020). Nosema ceranae and RNA viruses in honey bee populations of Cuba. *Journal of Apicultural Research*, 59 (4), 468–471. doi: 10.1080/00218839.2020.1749451
11. Alekseenko, F. M., Revenok, V. A., & Chepurko, M. A. (1991). *Spravochnik po boleznyam i vreditelyam pchel. 2-e izd.* Kiev: Urozhaj [In Russian].
12. Izatizon dlia bdzhil: Instruksiiia. Retrieved from: <https://pasika.pp.ua/about-apiary/preparations-for-bees/item/262-isatizone.html> [In Ukrainian].
13. Lozeval dlia bdzhil. Opys. Retrieved from: <https://www.uley.in.ua/shop/lozeval-10-ml-protivovirusnyj-preparat-ukraina/> [In Ukrainian].
14. Yaroshko, O., Shepelevych, V., Stepura, L., Hrytsenko, L., Yavorska, N., Svyatetska, V., Yefimenko, T., & Odnosum, H. (2017). Antibacterial effect of flower extracts on microorganisms isolated from honeycombs with affected bee brood. *Agricultural Science and Practice*, 4 (1), 50–55. doi: 10.15407/agrisp4.01.050



15. Yefimenko, T. M., Postoienko, V. O., Odnosum, H. V., & Vorobii, O. A. (2019). Bezroplidnyi period – samodostatnii ta dopomizhnyi tekhnolohichniy pryiom dlia likuvannia askosferozu u bdzhil. *Bdzhilnytstvo Ukrainy: nove u nauksi ta praktytsi: materialy naukovo-praktychnoi konferentsii z mizhnarodnoiu uchastiu*, m. Kyiv, NNTs «Instytut bdzhilnytstva im. P.I. Prokopovycha», 16 travnia 2019 r. Kyiv: Ekspo-Druk. [In Ukrainian].
16. Yefimenko, T. M., Postoienko, V. O., Odnosum, H. V., & Vorobii, O. A. (2019). Bezroplidnyi period – dlia likuvannia askosferozu u bdzhil. *Pasika*, 8, 12–13. [In Ukrainian].
17. Pshenichnov, V. A., Semenov, B. F., & Zezerov, E. G. (1974). *Standartizaciya metodov virusologicheskikh issledovaniy*. Moskva: Medicina [In Russian].
18. Urbah, V. Yu. (1975). *Statisticheskiy analiz v biologicheskikh i medicinskih issledovaniyakh*. Medicina, Moskva [In Russian].
19. Reed, L. J., & Muench, H. (1938). A simple method of estimating fifty per cent endpoints. *American Journal of Epidemiology*, 27 (3), 493–497. doi: 10.1093/oxfordjournals.aje.a118408
20. Leonenko, N. S., Demetska, O. V., & Leonenko, O. B. (2016). Osoblyvosti fizyko-khimichnykh vlastyvostei ta toksychnoi dii nanomaterialiv – do problemy otsinky yikhnoho nebezpechnoho vplyvu na zhyvi orhanizmy (ohliad literatury). *Ukrainskyi Zhurnal Suchasnykh Problem Toksykologii*, 1 (73), 64–76. [In Ukrainian].
21. Leonenko, N. S. (2016). Porivnialnyi analiz toksychnosti ta nebezpeky khimichnykh spoluk riznoi rozmirnosti (ohliad literatury). *Ukrainskyi Zhurnal Suchasnykh Problem Toksykologii*, 2 (74), 48–61. [In Ukrainian].
22. White, G. F. (1913). *Sacbrood, a disease of bees*. doi: 10.5962/bhl.title.56965
23. Bailey, L., Gibbs, A. J., & Woods, R. D. (1964). Sacbrood virus of the larval honey bee (*Apis mellifera linnaeus*). *Virology*, 23 (3), 425–429. doi: 10.1016/0042-6822(64)90266-1
24. Choe, S.-E., Nguyen, T. T.-D., Hyun, B.-H., Noh, J.-H., Lee, H.-S., Lee, C.-H., & Kang, S.-W. (2012). Genetic and phylogenetic analysis of South Korean sacbrood virus isolates from infected honey bees (*Apis cerana*). *Veterinary Microbiology*, 157 (1–2), 32–40. doi: 10.1016/j.vetmic.2011.12.007
25. Ellis, J. D., & Munn, P. A. (2005). The worldwide health status of honey bees. *Bee World*, 86 (4), 8–101. doi: 10.1080/0005772x.2005.11417323
26. Beaurepaire, A., Piot, N., Doublet, V., Antunez, K., Campbell, E., Chantawannakul, P., Chejanovsky, N., Gajda, A., Heerman, M., Panziera, D., Smagghe, G., Yañez, O., de Miranda, J. R., & Dalmon, A. (2020). Diversity and global distribution of viruses of the Western honey bee, *Apis mellifera*. *Insects*, 11 (4), 239. doi: 10.3390/insects11040239
27. de Miranda, J. R., Gauthier, L., Ribière, M., & Chen, Y. P. (2011). Honey bee viruses and their effect on bee and colony health. *Honey Bee Colony Health*, 71–102. doi: 10.1201/b11318-8
28. Yongsawas, R., Chaimanee, V., Pettis, J. S., Boncristiani Junior, H. F., Lopez, D., In-on, A., Chantawannakul, P., & Disayathanoowat, T. (2020). Impact of Sacbrood Virus on Larval Microbiome of *Apis mellifera* and *Apis cerana*. *Insects*, 11 (7), 439. doi: 10.3390/insects11070439
29. Feng, J., Zhang, Q., Ma, Z., Zhang, J., Huang, W., & Zhang, X. (1998). Studies on purification, crystallization and structure of Chinese sacbrood virus. *Journal of Chinese Electron Microscopy Society*, 17, 3.
30. Bull, J. C., Ryabov, E. V., Prince, G., Mead, A., Zhang, C., Baxter, L. A., Pell, J. K., Osborne, J. L., & Chandler, D. (2012). A strong immune response in young adult honeybees masks their increased susceptibility to infection compared to older bees. *PLoS Pathogens*, 8 (12), e1003083. doi: 10.1371/journal.ppat.1003083
31. Evans, J. D., Aronstein, K., Chen, Y. P., Hetru, C., Imler, J.-L., Jiang, H., Kanost, M., Thompson, G. J., Zou, Z., & Hultmark, D. (2006). Immune pathways and defence mechanisms in honey bees *Apis mellifera*. *Insect Molecular Biology*, 15 (5), 645–656. doi: 10.1111/j.1365-2583.2006.00682.x
32. Hoffmann, J. A. (2003). The immune response of *Drosophila*. *Nature*, 426 (6962), 33–38. doi: 10.1038/nature02021
33. Guo, Y., Zhang, Z., Zhuang, M., Wang, L., Li, K., Yao, J., Yang, H., Huang, J., Hao, Y., Ying, F., Mannan, H., Wu, J., Chen, Y., & Li, J. (2021). Transcriptome profiling reveals a novel mechanism of antiviral immunity upon sacbrood virus infection in Honey Bee Larvae (*Apis cerana*). *Frontiers in Microbiology*, 12. doi: 10.3389/fmicb.2021.615893
34. McMenamin, A. J., Parekh, F., Lawrence, V., & Flenniken, M. L. (2021). Investigating virus–host interactions in cultured primary honey bee cells. *Insects*, 12 (7), 653. doi: 10.3390/insects12070653

35. Nefedova, A., Rausalu, K., Zusinaite, E., Vanetsev, A., Rosenberg, M., Koppel, K., Lilla, S., Visnapuu, M., Šmits, K., Kisand, V., Tätte, T., & Ivask, A. (2022). Antiviral efficacy of cerium oxide nanoparticles. doi: 10.21203/rs.3.rs-1382761/v1

36. Chen, Y. P., & Siede, R. (2007). Honey bee viruses. *Advances in Virus Research Volume*, 70, 33–80. doi: 10.1016/s0065-3527(07)70002-7

37. Abrol, D. P. (2013). Biology of *Apis cerana*. *Asiatic Honeybee Apis Cerana*, 73–100. doi: 10.1007/978-94-007-6928-1\_3

38. Nikitina, L. M., Zholobak, N. M., Postoienco, V. O., Yefimenko, T. M., Odnosum, H. V., Vorobii, O. A., Kovalenko, I. A., & Tlusta, Yu. P. (2021) Vplyv koloidnoho (nanorozmirnoho) tseriiu dioksydu na pryrodne vidmyrannia bdzhlil. *Suchasne bdzhlilnytstvo: problemy, dosvid, novi tekhnolohii* : materialy naukovopraktychnoi konferentsii z mizhnarodnoiu uchastiu, 20 serpnia 2021 r. Kyiv : NNTs «Instytut bdzhlilnytstva imeni P.I. Prokopovycha» [In Ukrainian].

39. Yefimenko, T. M., Odnosum, H. V., Mindiashvili, N. Sh., Nikitina, L. M., Postoienco, H. V., & Vorobii, O. A. (2021). Perebih mishechkuvatoho rozplodu za stvorennia v bdzholynnykh simiakh bezrozplidnoho periodu porivniano iz zastosuvanniam probiotyku «Apinorminu», nano-rozmirnoho tseriiu dioksydu, preparatu roslynnoho pokhodzhennia «Ni nu na». *Bdzhlilnytstvo Ukrainy*, 7, 17–20. [In Ukrainian]

Стаття надійшла до редакції: 22.10.2022 р.

### Бібліографічний опис для цитування:

Нікітіна Л. М., Засекін Д. А., Жолобак Н. М., Постоецько В. О., Єфіменко Т. М., Односум Г. В. Біологічна ефективність колоїдного (нанорозмірного) діоксиду церію у бджіл *Apis mellifera*. *Вісник ПДАА*. 2022. № 4. С. 148–157.

© Нікітіна Леся Миколаївна, Засекін Дмитро Адамович, Жолобак Надія Михайлівна,  
Постоецько Володимир Олексійович, Єфіменко Тетяна Михайлівна,  
Односум Ганна Володимирівна, 2022