

## ГІСТОЛОГІЧНІ ЗМІНИ В СТРУКТУРІ РЕПРОДУКТИВНОЇ СИСТЕМИ ТРУТНІВ В УМОВАХ КОНТАМІНАЦІЇ АМЕРИКАНСЬКИМ ГНИЛЬЦЕМ (*PAENIBACILLUS LARVAE*)

Кісіль Дмитро Олександрович

доктор філософії, старший викладач

Сумський національний аграрний університет, м. Суми, Україна

ORCID: 0000-0003-3088-951X

dima\_kisill@meta.ua

*В анатомії розвитку та гістологічних дослідженнях репродуктивної системи як комах в загалом, так і окремо трутнів медоносною бджолою були досить добре задокументовані ще попередніми вченими. Відомо, що вперше репродуктивна система була описана вченим Яном Свамердамом у його власне посмертній публікації ще в 18 столітті, де було писано що репродуктивні органи складаються з парних статевих залоз, провідних проток і каналців, деяких додаткових статевих залоз і власне ендофалуса.*

*Такі вчені, як Зандер, Бішоп та Снодгрес описували анатомічну особливість розвитку сім'яників трутнів ще на стадії личинки та їх гістологічну структуру, вчений а Лаго в 2020 році описав більше детальний атлас відповідно до процесу сперматогенезу і власне розвиток сім'яників трутнів до їх виходу з комірки. Слід зауважити, що функціональними одиницями сім'яників трутнів є власне каналці яєчок, також вони мають назву тестикулярні фолікули або навіть сперматозоїдами. Відомо що фактично сотні каналців входять в сім'яиносні протоки через анатомічно розташовані окремі сім'яиносні каналці, які в свою чергу проходять разом із базиллярним каналцем і проходять до апікального каналця, фактично на периферію сім'яника. Зандер описав що ще на ранній личинковій стадії розвитку вже спостерігаються трубочки сім'яника. Сперміогенез у трутнів відбувається фактично на завершальній стадії розвитку лялечки або так званої особини фарату. В цей період сперматозоїди утворюються із сперматид.*

*Але дослідження нормальної гістології не дає повної картини розвитку репродуктивної системи трутня. Як правило, вони не досить добре охарактеризовані в літературних джерелах. Слід зазначити, що в літературних даних не описано вплив різного типу захворювань бджіл на розвиток репродуктивної системи трутня. В дослідженні описано основні фази змін в тканинах під час статевого дозрівання в умовах контамінації американським гнильцем.*

*Гістологічні зміни яєчка під час дозрівання характеризуються такими основними послідовними фазами: перша фаза характерна завершенням сперміогенезу, друга фаза виходу сперматозоїдів у просвіт трубок, наступна третя фаза показує відповідну прогресуючу атрофію фолікулярних клітин і власне остання фаза – повна атрофія і відповідно колапс.*

*Тубулярні зміни відбуваються в базиллярному напрямку до апікального, де сегменти, розташовані ближче до сім'яиносної протоки, є гістологічно більш зрілими, ніж відповідні апікальні сегменти. Крім того, слід зауважити, що своєрідна швидкість розвитку дозрівання репродуктивних органів може змінюватися з сезонним прогресуванням. Дане дослідження прогресуючої атрофії репродуктивної системи трутня може бути корисним для майбутніх селекціонерів, так як гістологічне дослідження показує результат контамінації збудником гнильцевої хвороби який має фактично негативні результати і може вплинути на селекційні показники бджолою сім'ї.*

**Ключові слова:** трутень, *A. mellifera*, мікроскоп, сім'яник, бджола, репродукція, гістологія.

DOI <https://doi.org/10.32782/bsnau.vet.2024.3.2>

**Вступ.** В наш час відомо, що заразні хвороби бджіл можуть негативно впливати на репродуктивну функції як жіночих особин, так і чоловічих *Apis mellifera*. Це може негативно вплинути на рівень селекції на пасічних господарствах. Тому слід більш детально вивчити структуру та функціональність репродуктивної системи трутнів та власне який вплив можуть нести на них заразні хвороби бджіл (Kisil et al., 2023).

Слід зазначити, що вперше в історії репродуктивна система трутнів медоносною бджолою була описана та проілюстрована вченим Свамердамом у своїй останній посмертній публікації яка мала назву *Biblia Naturæ*. Репродуктивні органи комах складаються як правило з парних сім'яників, каналців і проток, так званих сім'явидних проток. Також в репродуктивну систему включаються додаткові статеві залози, такі як сім'яні пухирці та ендофалус. Після такі вчені як Мурс і Біллен в 2009 році

та Лаго в 2020 році описували морфологічні структури репродуктивної системи трутня під час статевого дозрівання як макроскопічно так і мікроскопічно (Power et al., 2020).

Такі вчені як Зандер в 1916 році, Бішоп в 1920 році та Снодгрес і Морсе в 1956 році описували анатомічну особливість розвитку сім'яників трутнів ще на стадії личинки та їх гістологічну структуру, вчений а Лаго в 2020 році описав більше детальний атлас відповідно до процесу сперматогенезу і власне розвиток сім'яників трутнів до їх виходу з комірки. Слід зауважити що функціональними одиницями сім'яників трутнів є власне каналці яєчок, також вони мають назву тестикулярні фолікули або навіть сперматозоїдами. Відомо що фактично сотні каналців входять в сім'яиносні протоки через анатомічно розташовані окремі сім'яиносні каналці, які в свою чергу проходять разом із базиллярним каналцем і

проходять до апікального каналця, фактично на периферію сім'яника. Зандер в 1916 році описав що ще на ранній личинковій стадії розвитку вже спостерігаються трубочки сім'яника. Сперміогенез у трутнів відбувається фактично на завершальній стадії розвитку лялечки або так званої особини фарату. В цей період сперматозоїди утворюються із сперматид (Fenech et al., 2019).

Круз-Ландім в 1980 році описав, що деякі каналці сім'яників оточені внутрішньою очеревинною оболонкою, вона містить фолікулярні клітини, їх також називають клітинами цисти. Їх основна функція містити та підтримувати в спеціалізованих внутрішньоклітинних порожнинах розвиток гамет у спеціалізованих внутрішньоклітинних порожнинах. Власне сам сім'яник оточений своєрідною очеревинною оболонкою яка називається тестикулярною капсулою.

Було доведено, що найбільш диференційовані гамети локалізуються в базиллярних сегментах каналців яєчок. Зародкові клітини продовжують сперматогенез у фолікулах, які поступово утворюють сперматогонії, сперматоцити та сперматозоїди, які в свою чергу є індикатором визначення гістологічної зони росту, а також дозрівання та відповідно її трансформації. Під час активного сперматогенезу можна спостерігати різні зони, але у трутнів які тільки вийшли з комірок, гістологічно можна спостерігати тільки кінцеву стадію (RedHead et al., 2019).

Сім'яники у щойно народжених трутнів утворюють вже зрілі сперматозоїди, які, як правило зберігаються в пухирцях протягом перших кількох днів життя, а після можуть зазнавати інволюції та досить помітного зменшення розміру. Доведено що зменшення розміру яєчок може бути показником функціональної зміни комах. Хронологічно інволюція сім'яника була попередньо описана у декількох видів перетинчастокрилих, у мурах та інших видів бджіл. Однак, слід зазначити, що детального гістологічного опису хронологічної інволюції сім'яників під час статевого дозрівання трутнів в умовах ураження розплоду Американським гнильцем в наш час ще немає (Zattara et al., 2021).

Відповідно, було вирішено провести гістологічне дослідження на наявність хронологічних змін, відповідно пов'язаних із інволюцією сім'яників комах під час статевого дозрівання трутнів після контамінації Американським гнильцем, враховуючи вік від 1 до 21 дня після виходу з комірки.

Матеріали і методи досліджень. Дослідна бджолина сім'я відбиралася із місцевих районуваних колоній Української степової бджоли (*Apis mellifera scossimai*). Бджолині сім'ї були розташовані в місті Охтирка Сумської області на пасічних господарствах приватного сектора, бджолині сім'ї зареєстровані в місцевих державних установах. Бджолині сім'ї утримувались в стандартних 10-ти рамкових вуликах (Лангстрота), висота рамки яких становила 300 мм (Рамка Шарль Дадана). Відбір проводили серед бджолиних сімей покоління селекції «f1» та «f2». Після відбору сильної бджолиної сім'ї, яка розташовувалась на 10 рамках було проведено встановлення контамінованої американським гнильцем соторамку (*paenibacillus larvae*) у гніздо бджолосім'ї. Після розвитку контамінації

захворювання в бджолиній сім'ї, на підставі епізоотичних, клінічних та лабораторних даних проводили лікування. Під час лікування застосовували препарат широкого спектру дії «Апіхелс» ТОВ «Бровафарма», гелеподібної консистенції на основі природних компонентів.

Після виліковування бджолиної сім'ї, у вулик встановлювали розплідну камеру в якій знаходилась штучна соторамка для трутнів, з більш розширеними комірками характерних для розмірів трутневого розплоду. Для того щоб виростити трутнів бджолину матку поміщали в камеру на 24 години, яка містила пластикову соторамку для вирощування трутнів. В рамках вбудована вощина з натурального воску, яка представляла з себе воскову основу для розплоду. А також поруч ставили соторамку з відкритим розплодом та кормову. Після засіву маткою її звільняли, а штучну соторамку з майбутнім трутневим розплодом залишали в розплідній камері. Після виходу молодих бджіл із комірок в розплідній камері їх звільняли від трутневого розплоду, для того щоб запобігти не експериментальних умов у гнізді вулика. Далі щоб точно відстежити дату виходу молодих експериментальних трутнів камеру перевіряли кожен день починаючи з 22 по 27 день після засіву маткою яєць. Кожного трутня маркували за допомогою спеціального маркера для маркування бджолиних маток. Відбирали 20 трутнів, починаючи з 24 червня по 13 липня і кожен день поміщали по одній комахі в пробірку з 10-відсотковим буферним формаліном для збереження матеріалу під час транспортування до лабораторії.

Після чого проводилася макроскопічна оцінка репродуктивного апарату комах, проводили моніторинг за допомогою Цифровий мікроскоп «SIGETA Forward 10-500x 5.0Mpx LCD» та відповідно проводили фотофіксацію за допомогою вбудованого програмного забезпечення. Заміри проводили за допомогою вбудованого програмного забезпечення «Micro ruler». Після чого була проведена 3D обробка макрофото репродуктивного апарату за допомогою програмного забезпечення Paint 3D.

Наступним етапом була підготовка гістослайду для дослідження під мікроскопом «Olympus CX22LED», проводили дорсальний розтин черевної порожнини в попереку хітинового покриву по одній комахі на добу протягом 20 днів. Таким чином кожен трутень був на одну добу старший, що давало нам змогу точно відслідити зміни в репродуктивній системі комах. Фіксацію проводили за стандартною методикою, подібною до обробки тканин ссавців. Дослідний матеріал подавали процесу дегідратації у спиртах (75, 85, 95, 100 %) протягом 15 хв., в кожній. Проводили за допомогою автомату для гістологічної обробки тканин карусельного типу «STP-120». Зображено на рис. 1.

Після чого поміщали в Ксилол на одну годину, перед тим як проводити парафінізацію при температурі 65 °С. Використовували модуль для заливки «HistoStar». Зображено на рис. 2.

Для більш точного виготовлення дослідного препарату, для запобігання утворення артефакту за допомогою спеціальних інструментів знімали хітиніві покриви. Після чого проводили охолодження парафіну в охолод-

жувачі «Cooling Plate CP-35» до  $-16^{\circ}\text{C}$ . Нарізання парафінізованого матеріалу проводили на мікромомі «PFM medical», товщина дослідного матеріалу якого становила 0,3 мкм. Зображено на рис. 3.

Зрізи тканин фарбували стандартним методом барвника «Гематоксилін Еозин». Готові дослідні слайди досліджували за допомогою мікроскопу «Olympus CX22LED». Зображено на рис. 4.



Рис. 1. Автоматична обробка гістологічних тканин (STR-120)

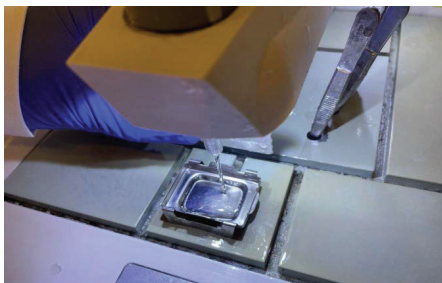


Рис. 2. Заливка парафіном на модулі «HistoStar»

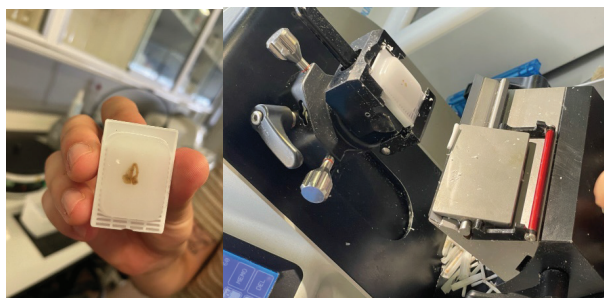


Рис. 3. Підготовка та власне нарізання гістологічної тканини



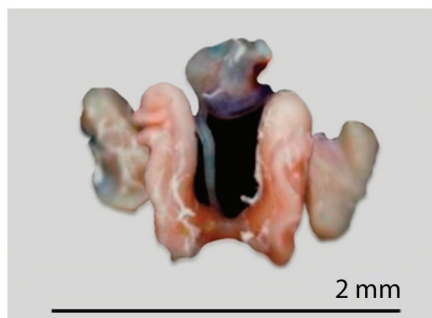
Рис. 4. Дослідження гістозрізів за допомогою «Olympus CX22LED»



**Результати досліджень.** В період, після метаморфозу та після виходу комахи з комірки до явних показників статевої зрілості трутня, реєструвалась значна атрофія паренхіми та строми (загальне зменшення в розмірах органу) на рівні 81 % з урахування апроксимації вимірів. Заміри були оцінені за рахунок фотофіксацією поверхневої площі сім'яників та вимірювання за допомогою мікро лінійкою. Слід зазначити, що ураження бджолою Американським гнильцем високо вплинуло на загальний розвиток та статево зрілість трутнів. Відмічалась тенденція пролонгованої зрілості та значної інволюції репродуктивних органів у комах які вийшли з комірок у кінці серпня місяця (уражені Американським гнильцем) фактично на 4-5 днів довше в порівнянні з трутнями які виходили з комірок на початку липня місяця.

Трутні набували максимальних розмірів сім'яників, фактично до 5 мкм, а потім інволюціювали до кінцевої стадії атрофії органів, фактично до 1,5 мкм вже після статевої зрілості. Цей період становив між 10-14 днями.

Відповідно розміри сім'яників у комах які вийшли у кінці червня мали значну різницю у порівнянні з трутнями які вийшли на початку липня, їх різниця становила 5-7 днів. Візуально зображено на рис. 5.

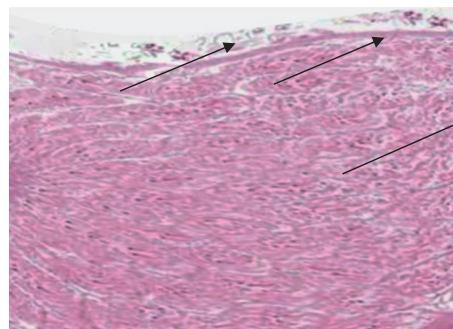


**Рис. 5. Атрофія сім'яників після ураження Американським гнильцем**

Слід зауважити, що прогресивна атрофія сім'яника була рівноправній гістокартині зрізів тканин репродуктивних органів у комах, як у самій паренхімі сім'яників, так і у їх підтримуючій строми. Ці визначені картини сегментів були більш чітко відповідними на початкових стадіях гістологічного дослідження. Зміни в сім'яниках поділялися на декілька основних фаз: завершальна стадія сперміогенезу, вихід сперматозоїдів в просвіт каналців, атрофія фолікулярних клітин паренхіми, та власне повна атрофія тканин.

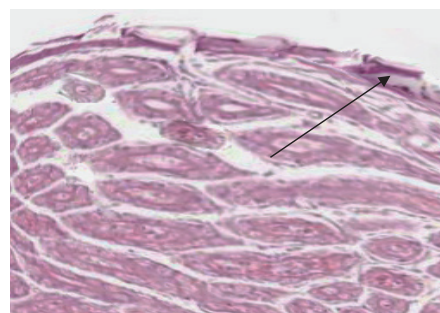
На першій фазі під час завершення сперміогенезу у фолікулах залоз спостерігалось, що власне залози були оточені плевральною тканиною та щільно прилеглим до зовнішньої оболонки сім'яника вісцеральним жиром яка в свою чергу являється зовнішньою оболонкою для сотні устаткованих мікротрубочок сім'яника. Кожна із мікротрубочок органу вкрита у свій шар який представляє себе оболонку з плоских епітеліальних клітин. Який за своєю структурі як правило охоплює цитоплазматичні порожнини із сперматозоїдами. Орієнтація сперматозоїдів, власне напрямом акросоми головки (гіалуронідази) була спрямована в напрямку базиллярної частини каналця, а

відповідно хвостики знаходились на глибині фолікулярних клітин. Зображено на рис. 6.



**Рис. 6. Мікрофото змін сім'яника трутня першої фази**

На другій фазі спостерігається вихід сперматозоїдів у просвіт каналців, з часом реєструється потовщення плевральної тканини, відповідно на заміщення товщини зовнішньої оболонки. Слід зауважити що на цьому фоні спостерігалось зменшення фолікулярних клітин, а їх ядра більш чітко прорисовувались на фоні. Зображено на рис. 7.



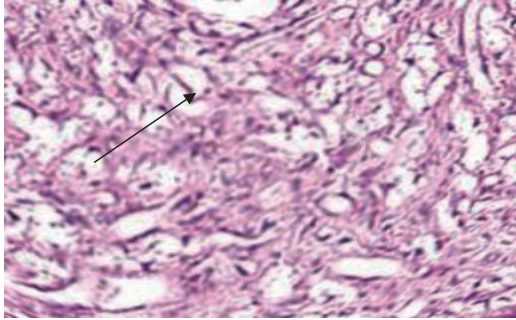
**Рис. 7. Мікрофото змін сім'яника трутня другої фази**

На третій фазі спостерігається початкова стадія атрофії фолікулярних клітин. На цьому фоні плевральна тканина потовщується, набуває специфічної зморжуваності. Тестикулярна тканина значно зменшується в своїх розмірах. В порівнянні з попередніми фазами ядра фолікулярних клітин набувають значної чіткості, не визначеної форми, чітко прорисовується хроматин в ядрах при великому збільшенні зображення. Візуально зображено на рис. 8.



**Рис. 8. Мікрофото змін сім'яника трутня третьої фази**

У тестикулярних клітинах спостерігаються зміни в ядрах (патологія ядра), як правило це каріопікноз що представляє собою нуклеарне зморщювання та каріорексис, розщеплення ядра на фрагменти. На останній фазі чітко реєструється остання стадія атрофії. У паренхіми сім'яників наступила стадія повної втрати структури. Плевральна структура набула повної зморжкованості, на фоні яких інколи спостерігаються не значні скупчення клітин фагоцитарної активності. Також спостерігаються поодинокі випадки нагромадження пігменту ліпофусцину. Зображено на рис. 9.



**Рис. 9. Мікрофото змін сім'яника трутня третьої фази**

**Обговорення.** В даному дослідженні показано відповідні зміни гістологічних тканин сім'яника трутня, починаючи від виходу з коміки стільника та до завершення статевої зрілості в умовах ураження американським гнильцем та контрольного лікування. Дослідження методом мікроскопії в період статевого дозрівання була розділена на декілька найважливіших ваз зміни тканини репродуктивних органів трутня.

На першій фазі спостерігалось відповідно завершальні етапи сперміогенезу, та не значні зміни в тканинах, на другій фазі було спостережено власне вихід сперматозоїдів в просвіт каналців, на наступній фазі були видно значні прогресуючі зміни у фолікулярних тканинах, власне їх початкова стадія атрофії. На останні

фазі спостерігалась власне остання та повна стадія атрофії паренхіми органів. Слід зауважити що найбільш короткими фазами були власне друга та третя, причиною цьому могло стати власне період сезонності.

Слід зауважити що на фоні гістологічних змін в тканинах відповідно зміни реєструвалися і у відмінності анатомічної морфології.

Опираючись на літературні дані та власне на дані отримані з дослідження слід відмітити що такі вчені як Бішоп та Зендер не звернули увагу на другу та третю фази детально, а власне а вплив сезонності і синергічного ефекту ураження збудником гнильцю. Відомо, що в літературі детально описується остання фаза як повний колапс і повна атрофія паренхіми. Такий вчений як Лаго в 2020 році опублікував більш детальний гістологічний атлас, де описано та ілюстровано послідовний розвиток репродуктивної системи комах.

Власне мікроскопічне дослідження дає змогу більш детально дослідити інволюцію репродуктивних органів під час статевого дозрівання в умовах контамінації збудником гнильцю та визначити наслідки які можуть вплинути на подальший рівень селекції бджолиної сім'ї. Слід зазначити, що власне зменшення розмірів сім'яників починається фактично з другої фази і закінчується повною остаточною фазою атрофії.

**Висновки.** Дане дослідження описує певну хронологічну послідовність гістологічних змін в трутневих сім'яниках в період статевого дозрівання в умовах контамінації американським гнильцем. Відповідно було встановлено чотири основні фази, під час яких спостерігались основні значні етапи змін в тканинах комах. I фаза – завершення сперміогенезу, II фаза – вихід сперматозоїдів в просвіт каналців, III фаза – відповідна атрофія у фолікулярних клітинах та остання IV фаза – власне повна атрофія паренхіми органу. Також на фоні гістологічних змін спостерігаються і анатомічні зміни, які різняться між собою. Власне дані зміни показують вплив контамінації і результат, який може значно вплинути на селекційні властивості бджолиної сім'ї.

#### **Бібліографічні посилання:**

1. Ahrenfeldt, E. J., Sigsgaard, L., Hansted, L., Jensen, A. C., & Toldam-Andersen, T. B. (2019). Forage quality and quantity affect red mason bees and honeybees differently in flowers of strawberry varieties. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 167(8), 763-773.
2. Bauer, D. M., & Wing, I. S. (2016). The macroeconomic cost of catastrophic pollinator declines. *Ecological Economics*, 126, 1-13.
3. Belsky, J., & Joshi. (2019). Impact of biotic and abiotic stressors on managed and feral bees. *Insects*, 10(8), 233.
4. Bossert, S., Wood, T. J., Patiny, S., Michez, D., Almeida, E. A., Minckley, R. L., & Murray, E. A. (2022). Phylogeny, biogeography and diversification of the mining bee family Andrenidae. *Systematic Entomology*, 47(2), 283-302.
5. Brown, M. J., Dicks, L. V., Paxton, R. J., Baldock, K. C., Barron, A. B., Chauzat, M. P., & Stout, J. C. (2016). A horizon scan of future threats and opportunities for pollinators and pollination. *PeerJ*, 4, e2249.
6. da Santos, R. S., Carneiro, L. T., de Oliveira Santos, J. P., da Silva, M. M., de Oliveira Milfont. (2021). Bee pollination services and the enhancement of fruit yield associated with seed number in self-incompatible tangelos. *Scientia Horticulturae*, 276, 109743.
7. Eeraerts, M., Vanderhaegen, R., Smagghe, G., & Meeus, I. (2020). Pollination efficiency and foraging behaviour of honey bees and non-Apis bees to sweet cherry. *Agricultural and Forest Entomology*, 22(1), 75-82.
8. Eilers, E. J., Kremen, C., Smith Greenleaf, S., Garber, A. K., & Klein, A. M. (2011). Contribution of pollinator-mediated crops to nutrients in the human food supply. *PLoS one*, 6(6), 21-63.
9. Fenech, M., Amaya, I., Valpuesta, V., & Botella, M. A. (2019). Vitamin C content in fruits: Biosynthesis and regulation. *Frontiers in plant science*, 9, 2006.

10. Goulson, D., & Hughes, W. O. (2015). Mitigating the anthropogenic spread of bee parasites to protect wild pollinators. *Biological Conservation*, 191, 10-19.
11. Horth, L., & Campbell, L. A. (2018). Supplementing small farms with native mason bees increases strawberry size and growth rate. *Journal of Applied Ecology*, 55(2), 591-599.
12. Isaacs, R., Williams, N., Ellis, J., Pitts-Singer, T. L., Bommarco, R., & Vaughan, M. (2017). Integrated crop pollination: combining strategies to ensure stable and sustainable yields of pollination-dependent crops. *Basic and Applied Ecology*, 22, 44-60.
13. Kerr, J. T., Pindar, A., Galpern, P., Packer, L., Potts, S. G., Roberts, S. M. (2015). Climate change impacts on bumblebees converge across continents. *Science*, 349(64), 177-180.
14. Kisil, D. O. (2023). Funhitydna diya tsyklichnykh peroxydiv na rist entomopatohennoho hryba ascospaera apis. [Fungicidal action of cyclic peroxides on the growth of the entomopathogenic fungus ascospaera apis]. Sumy: *Bulletin of Sumy National Agrarian University. The series: Veterinary Medicine*, 4 (63), 62-67 [in Ukrainian].
15. Kisil, D. O., & Nazarenko, S. M. (2023). Patomorfologichni zminy kyshkivnyka bdzholy ta imunna vidpovid' na mikrosporydioz nozema apis. [Pathomorphological changes of the bee intestine and immune response to microsporidia nozema apis]. Sumy: *Bulletin of Sumy National Agrarian University. The series: Veterinary Medicine*, 3 (62), 44-49 [in Ukrainian].
16. Kwon, H., Kim, T. K., Hong, S. M., Se, E. K., Cho, N. J., & Kyung, K. S. Effect of household processing on pesticide residues in field-sprayed tomatoes. *Food Science and Biotechnology*, 24, 1-6.
17. Lago, D. C., Martins, J. R., Dallacqua, R. P., Santos, D. E., Bitondi, M. M., & Hartfelder, K. (2020). Testis development and spermatogenesis in drones of the honey bee, *Apis mellifera*. L. *Apidologie*, 51, 935-955.
18. Metz, B. N., & Tarpay, D. R. (2019). Reproductive senescence in drones of the honey bee (*Apis mellifera*). *Insects*, 10(1), 11.
19. Moors, L., Koeniger, G., & Billen, J. (2012). Ontogeny and morphology of the bulbous, part of the male reproductive organ in *Apis mellifera carnica* (Hymenoptera, Apidae). *Apidologie*, 43, 201-211.
20. Osterman, J., Theodorou, P., Radzevičiūtė, R., Schnitker, P., & Paxton, R. J. (2021). Apple pollination is ensured by wild bees when honey bees are drawn away from orchards by a mass co-flowering crop, oilseed rape. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 315, 107383.
21. Pitts-Singer, T. L., Artz, D. R., Peterson, S. S., Boyle. (2018). Examination of a managed pollinator strategy for almond production using *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) and *Osmia lignaria* (Hymenoptera: Megachilidae). *Environmental Entomology*, 47(2), 364-377.
22. Power, K., Martano, M., Altamura, G., & Maiolino, P. (2020). Histopathological findings in testes from apparently healthy drones of *Apis mellifera ligustica*. *Veterinary Sciences*, 7(3), 124.
23. Redhead, J. W., Dreier, S., Bourke, A. F., Heard, M. S., Jordan, W. C. (2016). Effects of habitat composition and landscape structure on worker foraging distances of five bumble bee species. *Ecological Applications*, 26(3), 726-739.
24. Snodgrass, R. E. (2018). Principles of insect morphology. Cornell University Press, 41, 202-221.
25. Suvarna, K. S., Layton, C., & Bancroft, J. D. (2018). Bancroft's theory and practice of histological techniques. Elsevier health sciences, 11, 20-41.
26. Tang, J., Quan, Q. M., Chen, J. Z., Wu, T., & Huang, S. Q. (2019). Pollinator effectiveness and importance between female and male mining bee (*Andrena*). *Biology Letters*, 15(10), 20-47.
27. Turley, N. E., Biddinger, D. J., Joshi, N. K., & López-Urbe, M. M. (2022). Six years of wild bee monitoring shows changes in biodiversity within and across years and declines in abundance. *Ecology and Evolution*, 12(8), e9190.
28. Turley, N. E., Biddinger, D. J., Joshi, N. K., & López-Urbe, M. M. (2022). Six years of wild bee monitoring shows changes in biodiversity within and across years and declines in abundance. *Ecology and Evolution*, 12(8), e9190.
29. Wade, A., Lin, C. H., Kurkul, C., Regan, E. R., & Johnson. (2019). Combined toxicity of insecticides and fungicides applied to California almond orchards to honey bee larvae and adults. *Insects*, 10(1), 20.
30. Zattara, E. E., & Aizen, M. A. (2021). Worldwide occurrence records suggest a global decline in bee species richness. *One Earth*, 4(1), 114-123.

**Kisil D. O.**, PhD, Sumy National Agrarian University, Sumy, Ukraine

**Histological changes in the structure of the reproductive system of drones under the conditions of contamination with the American rot (*Paenibacillus larvae*)**

*The developmental anatomy and histological studies of the reproductive system of both insects in general and honey bee drones in particular have been fairly well documented by earlier scientists. It is known that the reproductive system was described by the scientist Jan Swammerdam in his own posthumous publication back in the 18th century, where it was written that the reproductive organs consist of paired gonads, conducting ducts and tubules, some additional gonads and the endophallus itself.*

*Scientists such as Zander, Bishop, and Snodgrass described the anatomical feature of the development of drone testes at the larval stage and their histological structure, and in 2020, the scientist Lago described a more detailed atlas according to the process of spermatogenesis and the actual development of drone testes before they emerge from cells. It should be noted that the functional units of the testes of drones are actually the tubules of the testicles, they are also called testicular follicles or even spermatozoa. It is known that actually hundreds of tubules enter the vas deferens through anatomically located individual seminiferous tubules, which in turn pass together with the basilar tubule and pass to the apical tubule, actually to the periphery of the testicle.*

*But the study of normal histology does not give a complete picture of the development of the drone's reproductive system. As a rule, they are not sufficiently well described in literary sources. It should be noted that the influence of various*



*types of bee diseases on the development of the reproductive system of the drone is not described in the literature. The article describes the main phases of changes in tissues during puberty under conditions of contamination with American rot.*

*Histological changes of the testicle during maturation are characterized by the following main consecutive phases: the first phase is characterized by the completion of spermiogenesis, the second phase is the exit of spermatozoa into the lumen of the tubes, the next third phase shows the corresponding progressive atrophy of follicular cells and the last phase itself – complete atrophy and, accordingly, collapse.*

*Tubular changes occur in a basilar to apical direction, with segments closer to the vas deferens being histologically more mature than the corresponding apical segments. In addition, it should be noted that the peculiar rate of development of maturation of reproductive organs can change with seasonal progression. This study of the progressive atrophy of the reproductive system of the drone can be useful for future breeders, as the histological study shows the result of contamination with the causative agent of rotting disease, which actually has negative results and can affect the breeding performance of the bee colony.*

**Key words:** *drone, A. mellifera, microscope, testicle, bee, reproduction, histology.*