ТВАРИННИЦТВО ТА ТЕХНОЛОГІЇ ХАРЧОВИХ ПРОДУКТІВ

УДК 638.16:615.9:632.95.028
DOI https://doi.org/10.37406/2706-9052-2026-2-25

Крапівка А. В.
аспірант кафедри бджільництва,
Національний університет біоресурсів і природокористування України
Київ, Україна
E-mail: *a.krapivka@nubip.edu.ua*
ORCID: *0009-0007-9438-9406*

ОЦІНКА ГОСТРОЇ ТА ХРОНІЧНОЇ ТОКСИЧНОСТІ НАНОАКВАХЕЛАТІВ У МЕДОНОСНИХ БДЖІЛ (*APIS MELLIFERA*) В ЛАБОРАТОРНИХ УМОВАХ

Анотація

Корекція мікроелементного живлення медоносних бджіл (Apis mellifera L.) розглядається як перспективний напрям підтримки здоров'я бджолиних сімей, проте впровадження будь-якого нового препарату, потребує попередньої оцінки безпечності. Метою роботи було встановлення характеру впливу експериментального наноаквахелатного препарату на основі Zn, Cu, Mn і Co на життєздатність медоносних бджіл за умов гострого та хронічного перорального застосування. Гостру оральну токсичність оцінювали відповідно до настанови OECD Test Guideline No. 213 (6–8 листопада 2023 р.) бджоли одноразово отримували дози 0,01, 0,05 та 0,10 мл/л у 50 %-му розчині сахарози, а загибель реєстрували через 24 і 48 год. Хронічний дослід виконано згідно з OECD Test Guideline No. 245 (6–15 листопада 2023 р.): упродовж 10 діб бджоли безперервно споживали препарат у кормі різних концентрацій 0,01; 0,025; 0,10; 0,50 та 1,0 мл/л. У гострому досліді загибель залишалася низькою в усіх дослідних групах – 0,00; 6,06 та 8,12 % за доз 0,01; 0,05 і 0,10 мл/л відповідно проти 2,08 % у контролі; жодна з відмінностей не була статистично достовірною, а значення LD50 перевищило 0,10 мл/л, що відповідає категорії низького гострого ризику. Хронічний дослід дав показовий результат: в усіх п'яти дослідних групах загибель (6,3–31,6 %) виявилася нижчою, ніж у контрольній групі на чистому сахарозному раціоні (46,9 %). Захисний ефект препарату сягав 86,6 % за концентрації 0,50 мл/л і 78,9 % за 1,0 мл/л. Загалом дослідженням охоплено 299 бджіл, розподілених по 30 садках, а статистичну обробку проведено за критерієм Фішера та методом пробіт-регресії в середовищі R. Отже, препарат не лише не виявив гострої чи хронічної токсичності щодо медоносних бджіл, а й продемонстрував виражений позитивний вплив на їхню життєздатність за умов одноманітного раціону. Це підтверджує безпечність його застосування у бджільництві та вказує на потенціал використання як кормової добавки для підтримки здоров'я бджолиних сімей.

Ключові слова: *Apis mellifera, наноаквахелати, мікроелементи, цинк, мідь, марганець, кобальт, OECD 213, OECD 245, токсикологія, протективний ефект.*

Вступ. Медоносна бджола (*Apis mellifera* L.) запилює понад 80 % видів квіткових рослин, а сумарну цінність цієї послуги для світового сільського господарства оцінюють у понад 153 млрд дол. США щороку [6; 12]. Попри це, упродовж останнього десятиліття бджільництво стикається зі стійкою негативною тенденцією: за оцінками 2024–2025 рр., щорічні втрати колоній у США та країнах ЄС сягають близько 40 % [15]. Серед причин ослаблення бджолиних сімей дефіцит повноцінного раціону – і насамперед нестача есенціальних мікроелементів – досі залишається недооціненим чинником.

Цинк (Zn), мідь (Cu), марганець (Mn) і кобальт (Co) виконують ключові функції у фізіології медоносних бджіл. Zn і Cu є кофакторами супероксиддисмутази (SOD) – центрального антиоксидантного ферменту, що захищає клітини від оксидативного ушкодження; Cu у складі церулоплазміну бере участь у системній резистентності; Mn каталізує реакції циклу Кребса й активує аргіназу; Co входить до складу вітаміну B_{12}, необхідного для кровотворення. Показово, що навіть субдозові концентрації імідаклоприду різко знижують вміст Zn, Cu, Mn і Co у тілі робочих бджіл, погіршуючи їхню збереженість та імунний захист [10]. Дефіцит мікроелементів пов'язують й зі схильністю до аскоферозу – поширеного мікозного захворювання бджіл [11].

© Крапівка А. В., 2026
pISSN 2706-9052, eISSN 2706-851X

Однією з перспективних форм доставки мікроелементів є наноаквахелати – комплекси, у яких іони металів стабілізовані в органічній хелатній матриці наноструктурного типу. Хелатування підвищує біодоступність мікроелементів і водночас знижує їхню вільну іонну активність та потенційну токсичність [17], що робить таку форму привабливою для адресної корекції мікроелементного статусу бджіл. Водночас будь-який препарат, який може надходити до організму бджоли перорально, потребує обов'язкової попередньої перевірки на безпечність. Бджоли регулярно контактують із широким спектром агрохімікатів і ветеринарних засобів, сліди яких накопичуються у вуликах [7; 16], а основним шляхом потрапляння речовин до організму комахи є пероральний, тобто із нектаром, пилком чи кормовим сиропом [14]. Тому для кожного нового препарату, призначеного для застосування у бджільництві, оцінка пероральної безпечності є відправною точкою.

Нормативна база ЄС, узагальнена в методичних рекомендаціях EFSA з оцінки ризику для бджіл [3], передбачає для будь-якої речовини, що може орально потрапляти до бджіл, проведення першорівневого токсикологічного дослідження за настановами OECD Test Guideline No. 213 (гостра оральна токсичність) [8] та No. 245 (хронічна оральна токсичність) [9]. Ці стандарти забезпечують відтворюваність результатів, їх порівнюваність із міжнародними даними та придатність для регуляторних рішень.

Перспективність кормових добавок для підтримки здоров'я бджіл нещодавно підтверджено масштабним восьмирічним польовим дослідженням хелатних комплексів молібдену: додавання їх до корму підвищувало яйцекладку матки, знижувало ураженість *Varroa destructor* і зменшувало зимові втрати колоній [4]. Подібного ефекту від корекції мікроелементного статусу логічно очікувати й для препаратів на основі Zn, Cu, Mn та Co, що й перевіряється в цій роботі.

Мета роботи полягала в тому, щоб: 1. визначити клас гострої оральної токсичності наноаквахелатного препарату Zn, Cu, Mn, Co для медоносних бджіл (OECD 213) [8]; 2. охарактеризувати динаміку життєздатності бджіл за 10-денного кормового надходження різних концентрацій препарату (OECD 245) [9]; 3. перевірити гіпотезу про наявність протективного ефекту препарату на збереженість бджіл в умовах обмеженого сахарозного раціону.

Виклад основного матеріалу дослідження.

Матеріали та методи

Для дослідів використовували робочих бджіл *Apis mellifera* L., відібраних зі здорових бджолосімей, попередньо обстежених на основні патогени (*Varroa destructor*, *Nosema* spp., гнилець). Бджіл відбирали безпосередньо зі стільників і транспортували до лабораторії у вентильованих дерев'яних садках. Адаптацію проводили впродовж 24 год за температури 25 ± 2 °C і фотоперіоду 12:12; протягом усього адаптаційного та дослідного періоду бджоли мали необмежений доступ до 50 %-го розчину сахарози. Особин з ознаками захворювань або аномальної поведінки виключали з досліду.

Дослідною речовиною слугував експериментальний наноаквахелатний препарат (стадія розробки та випробувань) на основі Zn, Cu, Mn і Co у складі органічної хелатної матриці наноструктурного типу, наданий у формі концентрованого водного розчину. Робочі розчини готували ex tempore розведенням у 50 %-му розчині сахарози; усі операції виконували згідно з чинними методичними рекомендаціями щодо визначення вмісту речовин шляхом розрахунків і розведень.

Дослід гострої пероральної токсичності (OECD TG 213)

Дослід проводили з 6 по 8 листопада 2023 р. за стандартом OECD Test Guideline No. 213 [8]. Три концентрації – 0,01; 0,05 та 0,10 мл/л – підбирали з огляду на подальший пошук оптимальної дози; контрольна група отримувала лише 50 %-й розчин сахарози. Кожну групу формували з трьох повторних садків: 0,01 мл/л – 49 бджіл (садки 7–9); 0,05 мл/л – 38 бджіл (садки 4–6); 0,10 мл/л – 34 бджоли (садки 1–3); контроль – 42 бджоли (садки 10–12). Дослідну речовину вводили одноразово, через зважену годівничку; обсяг спожитого розчину контролювали зважуванням. Загибель реєстрували через 24 та 48 год. Критерієм валідності слугувала загибель у контролі ≤ 10 % за 48 год.

Дослід хронічної пероральної токсичності (OECD TG 245)

Дослід проводили з 6 по 15 листопада 2023 р. за стандартом OECD Test Guideline No. 245 [9]. Випробовували п'ять концентрацій – 0,01; 0,025; 0,10; 0,50 та 1,0 мл/л у 50 %-му розчині сахарози; негативний контроль отримував лише розчин сахарози. На кожну групу припадало по три повторних садки (n = 8–20 бджіл): 1,0 мл/л – 39 бджіл (садки 13–15); 0,50 мл/л – 38 (садки 19–21); 0,10 мл/л – 47 (садки 16–18); 0,025 мл/л – 40 (садки 22–24); 0,01 мл/л – 39 (садки 25–27); контроль – 56 (садки 28–30). Тестові розчини оновлювали кожні 24 год, загибель реєстрували щодня. Критерій валідності – загибель у контролі ≤ 20 % за 10 діб.

Дані гострого досліду (OECD 213) опрацьовували методом пробіт-регресії для оцінки LD50 та її 95 %-го довірчого інтервалу; додатково сумарну загибель у кожній дозовій групі порівнювали з контролем за точним критерієм Фішера (двобічний варіант, $\alpha = 0{,}05$). У хронічному досліді (OECD 245) сумарну загибель у кожній концентраційній групі за 10 діб зіставляли з контролем за тим самим критерієм, вважаючи відмінність достовірною за $p < 0{,}05$. Захисний ефект обчислювали як відносне зниження загибелі в дослідній групі порівняно з контролем (у відсотках). Усі розрахунки виконано в середовищі R v. 4.3.2 [13].

Гостра оральна токсичність (OECD 213)

Загибель у контрольній групі становила 2,08 % і повністю відповідала критерію валідності OECD 213 (≤ 10 %), що засвідчує коректність дослідної системи (табл. 1).

Таблиця 1. Кумулятивна загибель медоносних бджіл (Apis mellifera L.) у досліді гострої оральної токсичності (OECD 213, 6–8 листопада 2023 р.; n = 3 садки/група)

Доза (мл/л)	n, бджіл	Спожито, мл/л (діапазон)	Загибель 24 год, %	Загибель 48 год, %	Загальна загибель, %	p (vs контроль)
0,10	34	2,00-14,42	2,56	5,56	8,12	0,319
0,05	38	1,53-14,60	3,03	3,03	6,06	0,602
0,01	49	0,58-10,31	0,00	0,00	0,00	0,462
0 (контроль)	42	4,07-22,69	2,08	0,00	2,08	-

Кумулятивна загибель у дозових групах склала 0,00; 6,06 та 8,12 % за доз 0,01; 0,05 і 0,10 мл/л відповідно проти 2,08 % у контролі (див. табл. 1), причому монотонної залежності «доза-загибель» не простежувалося. За точним критерієм Фішера жодна з дослідних груп достовірно не відрізнялася від контролю (p = 0,462; 0,602 та 0,319 для доз 0,01; 0,05 і 0,10 мл/л відповідно). Оцінити LD50 методом пробіт-регресії в межах тестованого діапазону не вдалося, що вказує на перевищення значенням LD50 рівня 0,10 мл/л. За класифікаційними критеріями EFSA та EPPO препарат належить до категорії низького гострого орального ризику для медоносних бджіл [3]. Це означає, що за стандартних норм застосування він не несе загрози гострого летального впливу на бджіл.

Низька токсичність добре узгоджується з фізико-хімічними властивостями наноаквахелатної матриці: хелатування металів в органічному лігандному середовищі знижує їхню вільну іонну активність і всмоктування через епітелій середньої кишки, що загалом характерно для хелатних форм мікроелементів порівняно з неорганічними солями [17].

Хронічна оральна токсичність та протективний ефект (OECD 245)

Хронічний дослід виявив картину, відмінну від токсичної. У чотирьох із п'яти дослідних груп загибель бджіл за 10 діб була статистично достовірно нижчою, ніж у контролі (p < 0,01 за точним критерієм Фішера); у групі 0,01 мл/л простежувалася та сама тенденція до зниження загибелі, проте відмінність від контролю не досягла рівня значущості (p = 0,399) (табл. 2).

Таблиця 2. Кумулятивна загибель та протективний ефект наноаквахелатного препарату Zn, Cu, Mn, Co в хронічному досліді (OECD 245, 6–15 листопада 2023 р.; n = 3 садки/група)

Концентрація (мл/л)	n, бджіл	Загибель, %	Δ vs контроль, в. п.	Захисний ефект, %	p (vs контроль)
0,50	38	6,3	+40,6	86,6	<0,001
1,0	39	9,9	+37,0	78,9	<0,001
0,025	40	15,5	+31,4	67,0	0,002
0,10	47	17,8	+29,1	62,0	0,006
0,01	39	31,6	+15,3	32,6	0,399
0 (контроль)	56	46,9	-	-	-

Найвиразніший захисний ефект зафіксовано за концентрацій 0,50 мл/л (загибель 6,3 %; захист 86,6 %; p < 0,001) та 1,0 мл/л (9,9 %; 78,9 %; p < 0,001) – на 40,6 та 37,0 в. п. нижче контролю (46,9 %). Концентрації 0,025 та 0,10 мл/л також забезпечували достовірний захист (p = 0,002 і p = 0,006; ефект 67,0 та 62,0 % відповідно). За концентрації 0,01 мл/л загибель сягала 31,6 % (захист 32,6 %), однак відмінність від контролю була недостовірною (p = 0,399). Показово, що жодна з п'яти дослідних груп не показала загибелі, вищої за контрольну, – це виключає токсичний механізм дії препарату.

Загибель у контрольній групі (46,9 %) перевищила поріг валідності OECD 245 (20 %), що формально унеможливлює класичну регуляторну інтерпретацію. Проте ця обставина не знижує наукової цінності отриманих даних, а навпаки – дає змогу однозначно перевірити гіпотезу. Якби препарат був токсичним, загибель у дослідних групах зростала б із підвищенням концентрації та перевищувала б контроль. Натомість маємо протилежну й статистично підтверджену картину: збереженість у дослідних групах стабільно вища, ніж у контролі (див. табл. 2).

Механізм протективного ефекту пояснюється нутрицевтичною природою препарату. Тривале (10-денне) утримання бджіл винятково на 50 %-му розчині сахарози без пилку є нутритивно неповноцінним режимом: поступовий дефіцит білків, вітамінів і мікроелементів спричиняє прогресуюче фізіологічне виснаження [2]. Препарат натомість забезпечував бджіл есенціальними мікроелементами Zn, Cu, Mn і Co – кофакторами антиоксидантних ферментів (SOD, каталаза), компонентами імунних ефекторів та ферментів циклу Кребса, що дозволяло підтримувати фізіологічний гомеостаз і знижувало смертність порівняно з контрольними бджолами, позбавленими цих елементів.

Немонотонна залежність «концентрація-загибель» (мінімум за 0,50–1,0 мл/л і вищі значення за 0,01 мл/л) типова для нутритивно-функціональних речовин і добре описується гормезисною моделлю [1]. Імовірно, за 0,01 мл/л надходження мікроелементів було нижчим за нутритивний поріг, тоді як за 0,50–1,0 мл/л досягалася концентрація, оптимальна для підтримки ферментативних систем бджоли. Висока внутрішньогрупова мінливість у групі 0,01 мл/л (загибель від 0 до 73,3 % між садками) пояснює, чому ефект тут, попри позитивну тенденцію, не

досяг значущості (p = 0,399), і вказує радше на стохастичний, а не системно-токсичний характер загибелі за цієї концентрації.

Отримані результати добре узгоджуються з даними восьмирічного польового дослідження [4], де хелатні комплекси молібдену в кормі бджіл підвищували яйцекладку матки, зменшували ураженість *Varroa destructor* і знижували зимові втрати колоній; механізм у обох випадках спільний – заповнення мікроелементного дефіциту відновлює фізіологічні й імунні функції. Протективний ефект перегукується також із висновками [11] про зв'язок між мікроелементним дефіцитом і схильністю бджіл до аскоферозу та з даними [10] про критичне зниження Zn і Cu у бджіл під дією пестицидів. Таким чином, цілеспрямована корекція мікроелементного статусу постає науково обґрунтованим підходом до підвищення резистентності бджолиних сімей.

Висновки.

1. Наноаквахелатний препарат Zn, Cu, Mn, Co не виявляє гострої летальної токсичності щодо медоносних бджіл: загибель у дозових групах (0,00–8,12 %) статистично не відрізнялася від контролю (2,08 %; p > 0,3 за точним критерієм Фішера для всіх доз), а LD50 перевищує 0,10 мл/л, що відповідає категорії низького гострого орального ризику за класифікацією EFSA/EPPO. Загибель у контрольній групі (2,08 %) підтверджує валідність досліду OECD 213.
2. У хронічному досліді (OECD 245) збереженість бджіл у чотирьох із п'яти дослідних груп була статистично достовірно вищою, ніж у контролі (46,9 %): загибель коливалася від 6,3 % за концентрації 0,50 мл/л до 17,8 % за 0,10 мл/л (p < 0,01 для всіх чотирьох концентрацій). У групі 0,01 мл/л загибель (31,6 %) також була нижчою за контроль, проте різниця не досягла значущості (p = 0,399). За оптимальних концентрацій (0,50–1,0 мл/л) захисний ефект перевищував 78 %.
3. Виявлений протективний ефект найвірогідніше має нутрицевтичну природу: надходження есенціальних мікроелементів (Zn, Cu, Mn, Co) у наноаквахелатній формі компенсує їх дефіцит за умов сахарозного раціону, підтримує антиоксидантну й імунну функцію та достовірно підвищує збереженість бджіл за концентрацій 0,025–1,0 мл/л.
4. Сукупно отримані дані свідчать про безпечність препарату для медоносних бджіл: жодна з досліджених концентрацій не спричинила достовірного зростання загибелі ані в гострому, ані в хронічному досліді. Виявлений достовірний протективний ефект відкриває перспективу застосування препарату як кормової добавки для зниження смертності та підтримки здоров'я бджолиних сімей.
5. Для отримання регуляторно валідних хронічних даних доцільно повторити дослід OECD 245 із використанням нутритивно збалансованого штучного корму, що дозволить знизити загибель у контролі до ≤ 20 % і підтвердити протективний ефект у межах формальних критеріїв валідності. Окремої уваги потребує концентрація 0,01 мл/л, де високу внутрішньогрупову варіабельність варто перевірити на більшій кількості повторностей. Перспективними напрямами подальших досліджень є оцінка сублетальних ефектів, зокрема фуражувальної активності та репродуктивної функції, а також польові випробування впливу препарату на стан та продуктивність бджолиних сімей.

Список використаних джерел

1. Agathokleous E., Kitao M., Calabrese E. J. Hormesis: a compelling platform for sophisticated plant science. *Trends in Plant Science*. 2019. Vol. 24, № 4. P. 318-327. DOI: https://doi.org/10.1016/j.tplants.2019.01.004

2. Brodschneider R., Crailsheim K. Nutrition and health in honey bees. *Apidologie*. 2010. Vol. 41, № 3. P. 278–294. DOI: https://doi.org/10.1051/apido/2010012

3. European Food Safety Authority (EFSA), Adriaanse P., Arce A., Focks A. et al. Revised guidance on the risk assessment of plant protection products on bees (Apis mellifera, Bombus spp. and solitary bees). *EFSA Journal*. 2023. Vol. 21, № 5. Art. e07989. DOI: https://doi.org/10.2903/j.efsa.2023.7989

4. Fuior A., Colin-Duchevet L., Cebotari V. et al. Feed supplementation with molybdenum complexes improves honey bee health. *Inorganic Chemistry Frontiers.* 2025. Vol. 12, № 22. P. 7107–7122. DOI: https://doi.org/10.1039/D5QI00878F

5. Henry M., Béguin M., Requier F. та ін. A common pesticide decreases foraging success and survival in honey bees. *Science*. 2012. Vol. 336, № 6079. P. 348–350. DOI: https://doi.org/10.1126/science.1215039

6. Klein A.-M., Vaissière B. E., Cane J. H. та ін. Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences.* 2007. Vol. 274, № 1608. P. 303–313. DOI: https://doi.org/10.1098/rspb.2006.3721

7. Mullin C. A., Frazier M., Frazier J. L. та ін. High levels of miticides and agrochemicals in North American apiaries: implications for honey bee health. *PLoS ONE.* 2010. Vol. 5, № 3. Art. e9754. DOI: https://doi.org/10.1371/journal.pone.0009754

8. OECD. Test No. 213: Honeybees, acute oral toxicity test. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2. Paris : OECD Publishing, 2017. DOI: https://doi.org/10.1787/9789264070165-en

9. OECD. Test No. 245: Honey bees (Apis mellifera L.), chronic oral toxicity test (10-day feeding). OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2. Paris : OECD Publishing, 2017. DOI: https://doi.org/10.1787/9789264284081-en

10. Paleolog J., Wilde J., Gancarz M. та ін. Imidacloprid pesticide causes unexpectedly severe bioelement deficiencies and imbalance in honey bees even at sublethal doses. *Animals*. 2023. Vol. 13, № 4. Art. 615. DOI: https://doi.org/10.3390/ani13040615

11. Pavlović R., Brodschneider R., Goessler W. та ін. Micronutrient deficiency may be associated with the onset of chalkbrood disease in honey bees. *Insects*. 2024. Vol. 15, № 4. Art. 269. DOI: https://doi.org/10.3390/insects15040269

12. Potts S. G., Imperatriz-Fonseca V., Ngo H. T. та ін. Safeguarding pollinators and their values to human well-being. *Nature*. 2016. Vol. 540, № 7632. P. 220–229. DOI: https://doi.org/10.1038/nature20588

13. R Core Team. R: a language and environment for statistical computing. Vienna : R Foundation for Statistical Computing, 2023. URL: https://www.R-project.org

14. Rortais A., Arnold G., Halm M.-P., Touffet-Briens F. Modes of honeybees' exposure to systemic insecticides: estimated amounts of contaminated pollen and nectar consumed by different categories of bees. *Apidologie*. 2005. Vol. 36, № 1. P. 71–83. DOI: https://doi.org/10.1051/apido:2004071

15. Sánchez-Bayo F., Wyckhuys K. A. G. Worldwide decline of the entomofauna: a review of its drivers. *Biological Conservation*. 2019. Vol. 232. P. 8–27. DOI: https://doi.org/10.1016/j.biocon.2019.01.020

16. Sharma A., Shukla A., Attri K. та ін. Global trends in pesticides: a looming threat and viable alternatives. *Ecotoxicology and Environmental Safety.* 2020. Vol. 201. Art. 110812. DOI: https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.110812

17. Zhao L., Lu L., Wang A. та ін. Nano-biotechnology in agriculture: use of nanomaterials to promote plant growth and stress tolerance. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2020. Vol. 68, № 7. P. 1935–1947. DOI: https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b06615

Krapivka A. V.
Postraduate Student at the Department of Apiculture
National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine
Kyiv, Ukraine
E-mail: *a.krapivka@nubip.edu.ua*
ORCID: *0009-0007-9438-9406*

ASSESSMENT OF ACUTE AND CHRONIC TOXICITY OF NANOAQUACHELATES IN HONEY BEES (*APIS MELLIFERA*) IN LABORATORY CONDITIONS

Abstract

Correcting the micronutrient status of honey bees (Apis mellifera L.) is regarded as a promising way to support colony health; however, any new preparation that may enter the bee organism first requires a thorough safety evaluation. The aim of this study was to establish the nature of the effect of an experimental nanoaquachelate preparation based on Zn, Cu, Mn and Co on honey bee viability under acute and chronic oral exposure. Acute oral toxicity was assessed according to OECD Test Guideline No. 213 (6-8 November 2023): bees received single doses of 0.01, 0.05 and 0.10 mL/L in 50% sucrose solution, and mortality was recorded after 24 and 48 hours. The chronic assay followed OECD Test Guideline No. 245 (6-15 November 2023): for 10 days bees continuously consumed the preparation in feed at concentrations of 0.01, 0.025, 0.10, 0.50 and 1.0 mL/L. In the acute assay, mortality remained low across all dose groups - 0.00, 6.06 and 8.12% at 0.01, 0.05 and 0.10 mL/L, respectively, versus 2.08% in the control; none of the differences was statistically significant, and the LD50 exceeded 0.10 mL/L, corresponding to the low acute risk category. The chronic assay produced an unexpected yet telling result: in all five treatment groups mortality (6.3-31.6%) was lower than in the control group kept on a pure sucrose diet (46.9%). The protective effect of the preparation reached 86.6% at 0.50 mL/L and 78.9% at 1.0 mL/L. The study covered 299 bees distributed across 30 cages, and statistical analysis was carried out using Fisher's exact test and probit regression in R. Thus, the preparation showed neither acute nor chronic toxicity to honey bees and, moreover, exerted a pronounced positive effect on their survival under a nutritionally poor diet. This confirms the safety of its use in beekeeping and points to its potential as a feed supplement for supporting honey bee colony health.

Key words: *Apis mellifera, nanoaquachelates, micronutrients, zinc, copper, manganese, cobalt, OECD 213, OECD 245, toxicology, protective effect.*

References

1. Agathokleous, E., Kitao, M., & Calabrese, E. J. (2019). Hormesis: A compelling platform for sophisticated plant science. *Trends in Plant Science*, 24(4), 318–327. https://doi.org/10.1016/j.tplants.2019.01.004 [in English].

2. Brodschneider, R., & Crailsheim, K. (2010). Nutrition and health in honey bees. *Apidologie,* 41(3), 278–294. https://doi.org/10.1051/apido/2010012 [in English].

3. European Food Safety Authority (EFSA), Adriaanse, P., Arce, A., Focks, A., et al. (2023). Revised guidance on the risk assessment of plant protection products on bees (Apis mellifera, Bombus spp. and solitary bees). *EFSA Journal,* 21(5), e07989. https://doi.org/10.2903/j.efsa.2023.7989 [in English].

4. Fuior, A., Colin-Duchevet, L., Cebotari, V., Noël, A., Ribaud, I., Gérard, I., … Floquet, S. (2025). Feed supplementation with molybdenum complexes improves honey bee health. *Inorganic Chemistry Frontiers,* 12(22), 7107–7122. https://doi.org/10.1039/D5QI00878F [in English].

5. Henry, M., Béguin, M., Requier, F., Rollin, O., Odoux, J.-F., Aupinel, P., Reeb, J., Decourtye, A., & Devillers, J. (2012). A common pesticide decreases foraging success and survival in honey bees. *Science,* 336(6079), 348–350. https://doi.org/10.1126/science.1215039 [in English].

6. Klein, A.-M., Vaissière, B. E., Cane, J. H., Steffan-Dewenter, I., Cunningham, S. A., Kremen, C., & Tscharntke, T. (2007). Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences,* 274(1608), 303–313. https://doi.org/10.1098/rspb.2006.3721 [in English].

7. Mullin, C. A., Frazier, M., Frazier, J. L., Ashcraft, S., Simonds, R., vanEngelsdorp, D., & Pettis, J. S. (2010). High levels of miticides and agrochemicals in North American apiaries: Implications for honey bee health. *PLoS ONE*, 5(3), e9754. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0009754 [in English].

8. OECD. (2017a). Test No. 213: Honeybees, acute oral toxicity test. OECD Publishing. https://doi.org/10.1787/9789264070165-en [in English].

9. OECD. (2017b). Test No. 245: Honey bees (Apis mellifera L.), chronic oral toxicity test (10-day feeding). OECD Publishing. https://doi.org/10.1787/9789264284081-en [in English].

10. Paleolog, J., Wilde, J., Gancarz, M., Wiącek, D., Nawrocka, A., & Strachecka, A. (2023). Imidacloprid pesticide causes unexpectedly severe bioelement deficiencies and imbalance in honey bees even at sublethal doses. *Animals,* 13(4), 615. https://doi.org/10.3390/ani13040615 [in English].

11. Pavlović, R., Brodschneider, R., Goessler, W., Stanisavljević, L., Vujčić, Z., & Zarić, N. M. (2024). Micronutrient deficiency may be associated with the onset of chalkbrood disease in honey bees. *Insects,* 15(4), 269. https://doi.org/10.3390/insects15040269 [in English].

12. Potts, S. G., Imperatriz-Fonseca, V., Ngo, H. T., Aizen, M. A., Biesmeijer, J. C., Breeze, T. D., Dicks, L. V., Garibaldi, L. A., Hill, R., Settele, J., & Vanbergen, A. J. (2016). Safeguarding pollinators and their values to human well-being. *Nature,* 540(7632), 220–229. https://doi.org/10.1038/nature20588 [in English].

13. R Core Team. (2023). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. https://www.R-project.org [in English].

14. Rortais, A., Arnold, G., Halm, M.-P., & Touffet-Briens, F. (2005). Modes of honeybees' exposure to systemic insecticides: Estimated amounts of contaminated pollen and nectar consumed by different categories of bees. *Apidologie*, 36(1), 71–83. https://doi.org/10.1051/apido:2004071 [in English].

15. Sánchez-Bayo, F., & Wyckhuys, K. A. G. (2019). Worldwide decline of the entomofauna: A review of its drivers. *Biological Conservation*, 232, 8–27. https://doi.org/10.1016/j.biocon.2019.01.020 [in English].

16. Sharma, A., Shukla, A., Attri, K., Kumar, M., Kumar, P., Suttee, A., Singh, G., Barnwal, R. P., & Singla, N. (2020). Global trends in pesticides: A looming threat and viable alternatives. *Ecotoxicology and Environmental Safety,* 201, 110812. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.110812 [in English].

17. Zhao, L., Lu, L., Wang, A., Zhang, H., Huang, M., Wu, H., Gao, X., Chen, F., & Lin, D. (2020). Nano-biotechnology in agriculture: Use of nanomaterials to promote plant growth and stress tolerance. *Journal of Agricultural and Food Chemistry,* 68(7), 1935–1947. https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b06615 [in English].

Стаття поширюється на умовах ліцензії відкритого доступу CC BY 4.0

Дата першого надходження статті до видання: 29.06.2026
Дата прийняття статті до друку після рецензування: 10.08.2026
Дата публікації (оприлюднення) статті: 30.10.2026