

## ГЛУТАТІОН-S-ТРАНСФЕРАЗНА АКТИВНІСТЬ БДЖІЛ-ФУРАЖИРІВ *APIS MELLIFERA* L. ПРИ ЛІТНІЙ ПІДГОДІВЛІ ПЕВНИМИ ВУГЛЕВОДНИМИ ДІЄТАМИ

В. В. КАРАВАН, В. І. ЦАРУК, В. Ф. ЧЕРЕВАТОВ, Л. С. ЯЗЛОВИЦЬКА\*

Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича,  
58012, м. Чернівці, вул. Коцюбинського, 2, Україна  
\*e-mail: l.yazlovitska@chnu.edu.ua

Недостатність природних джерел їжі для медоносних бджіл, яка часом спостерігається влітку, спричиняє необхідність їх додаткової підгодівлі на пасіках. Наслідки впливу такої підгодівлі на фізіологічні та біохімічні процеси в організмі бджоли остаточно не з'ясовано. Зокрема, слабо вивчено можливі зміни системи антиоксидантного захисту організму комах за даних умов, наприклад глутатіон-S-трансферази (GST) – основного ферменту детоксикації ксенобіотиків, який бере участь у захисті клітин від різних видів стресу. Робота присвячена дослідженню активності глутатіон-S-трансферази (GST) у фуражирів *Apis mellifera* за умов підгодівлі різними вуглеводними дієтами в літній період зниженого медозбору. Експериментальні колонії попередньо підгодовували влітку протягом двох місяців 30 %-ним розчином цукру. Надалі протягом чотирьох днів бджолосім'ї були переведені на різні вуглеводні дієти: першу групу підгодовували 30 %-ним розчином глюкози, другу – 30 %-ним розчином фруктози, третя не отримувала додаткової підгодівлі, четверта група (контроль) – отримувала 30 %-ний розчин цукру. Після цього всі дослідні колонії перевели на додаткову підгодівлю 30 %-ним розчином цукру. Активність GST визначали (i) перед початком підгодівлі різними вуглеводними дієтами, (ii) після закінчення утримання на різних вуглеводних дієтах, та (iii) на 8-й день після повернення колоній до підгодівлі 30 %-ним розчином цукру. Встановлено органоспецифічність активності GST у бджіл-фуражирів: найвища – в тканинах черевця, найнижча – в тканинах грудей. Виявлено, що припинення підгодівлі цукром супроводжувалося зниженням глутатіон-S-трансферазної активності в тканинах черевця у всіх дослідних групах. При цьому вид вуглеводної дієти суттєво не вплинув на активність глутатіон-S-трансферази у тканинах голови та грудей. Протягом тижня після повернення до підгодівлі 30 %-ним розчином цукру, активність GST повернулася на попередній рівень. Отже, найвищі значення активності GST виявлено при застосуванні для підгодівлі бджолосім'ей 30 %-ного розчину цукру, а найнижчі – без підгодівлі або при додатковому отриманні бджолами 30 %-ного розчину глюкози чи фруктози. Наші дані свідчать про те, що споживання різних вуглеводів і наступні зміни в обміні речовин можуть специфічно впливати на глутатіон-S-трансферазну активність у різних частинах тіла медоносної бджоли.

Ключові слова: *Apis mellifera*, глутатіон S-трансфераза, вуглеводні дієти, фуражири

**Вступ.** Дослідження механізмів стійкості *Apis mellifera* L., 1758 до дії абіотичних та біотичних стресових факторів – важлива ланка у розв'язанні багатьох практичних проблем сучасного бджільництва. Медоносних бджіл широко використовують для комерційного запилення сільськогосподарських культур, яке оцінюється мільярдами доларів, тому *A. mellifera* – одна з економічно найкорисніших комах, яка як забезпечує продовольчу безпеку людини, так і виробляє цінні продукти бджільництва.

Втрати колоній медоносних бджіл в останні роки набули загрозливих масштабів (Fedoryak et al., 2017, Trapp et al., 2017). Наразі дослідники дискутують про вплив на здоров'я медоносних бджіл низки факторів. Загибель бджолосім'ей може бути зумовлена численними стресовими факторами, як-от, впливом хімічних забруднювачів навколишнього середовища (пестициди, інсектициди, важкі метали) (Thorbek et al., 2017), дія паразитів та збудників хвороб

(Dainat et al., 2012), а також взаємопосилувальна дія кількох факторів (Trapp et al., 2017).

Один із чинників, який негативно впливає на здоров'я бджіл, викликаючи загибель цілих колоній, є погіршення кормової бази комах (монофлорна дієта, вкорочення вегетаційного періоду рослин тощо) (Smart et al., 2016, Goulson et al., 2015, Frias et al., 2016). Харчування визначає напрямок розвитку стаза, сили колоній медоносних бджіл та їх здоров'я. Вуглеводи як складові харчового раціону забезпечують комах енергією для всіх видів діяльності і всередині вулика, і під час збирання нектару та пилку. Бджоли отримують вуглеводи природним шляхом, збираючи нектар. Проте, коли природні джерела обмежені, їх штучно забезпечують додатковим джерелом вуглеводів (Brodschneider and Crailsheim 2010). Зазвичай для підгодівлі бджіл використовують розчини цукру (сахарози), інвертований цукровий або інші сиропи, такі як крохмальний і кукурудзяний із високим вмістом

фруктози (LeBlanc et al., 2009; Ruiz-Matute et al., 2010, Jennette, 2017). Встановлено, що деякі вуглеводи, наприклад галактоза, маноза та лактоза, у певних концентраціях токсичні для медоносних бджіл (Margott J. 2014, Barker 1977), тому їх не застосовують для підгодівлі. Ще одна речовина, токсична для бджіл, яка міститься в сиропі для підгодівлі колоній, – це гідроксиметилфурфурол (HMF). Дана хімічна сполука утворюється з вуглеводів, особливо фруктози, в умовах термічної та/або кислотної її деградації. HMF утворюється у таких продуктах харчування, як інвертований цукор, соки, джеми, сиропи та мед за неналежних умов зберігання (Alabdeen Makawi et al. 2009, Le Blanc et al. 2009), які часом використовуються для додаткової підгодівлі медоносних бджіл.

Сахароза як компонент харчового раціону, неосновний учасник метаболічних перетворень в організмі комах, оскільки її засвоєння пов'язане з гідролітичним розщепленням на глюкозу та фруктозу (Blatt and Roces, 2001). Результати досліджень на медоносних бджолах та інших модельних організмах свідчать, що споживання глюкози та фруктози може по-різному позначатися на життєдіяльності комах завдяки різній участі цих вуглеводів в реакціях обміну. Зокрема виявлено, що у плодової мушки *Drosophila melanogaster* Meigen, 1830 споживання сахарози може викликати ознаки оксидативного стресу (Ровенко, 2016). Фруктоза в розчині кукурудзяного фруктозного сиропу, за умови перетворення на токсичний побічний продукт – гідроксиметилфурфурол, може негативно впливати на здоров'я та виживаність бджіл (Krainger et al., 2016), викликаючи симптоми дизентерії і навіть загибель комах (Le Blanc et al. 2009).

Отже, можна припустити, що форма надходження вуглеводів в організм комах може впливати на рівень активних форм кисню (АФК) та підтримку редокс-балансу в організмі медоносної бджоли. Захист організму бджоли від деструктивної дії АФК забезпечується активністю ферментів антиоксидантної системи (АОС).

Відомо, що глутатіон-S-трансфераза (GST) є основним ферментом детоксикації ксенобіотиків у комах (Parandopoulos et al., 2004). Крім того, дослідження експресії гену глутатіон-S-трансферази зета класу у бджіл *Apis cerana cerana* Fabr., 1793 свідчить про те, що білок, який експресується цим геном, стрес-індукуючий антиоксидантний фермент котрий відіграє важливу роль у захисті клітин від оксидативного стресу і може мати вирішальне значення для виживання медоносних бджіл (Yan et al. 2012). Це дозволяє розглядати цей фермент як індикатор

загального стану антиоксидантної системи комах (Badiou-Bénéteau et al., 2012). Зміни фізіологічного стану бджіл за дії різних вуглеводних дієт можуть бути оцінені шляхом визначення активності стрес-асоційованих ферментів, зокрема GST у період адаптації медоносних бджіл до різних вуглеводних дієт.

Враховуючи вищезазначене, метою нашого дослідження стала оцінка глутатіон-S-трансферазної активності у бджіл-фуражирів у літній період зниженого медозбору за різних експериментальних вуглеводних дієт.

**Матеріали та методи.** Об'єктом дослідження були 25–30 денні медоносні бджоли-фуражири *A. mellifera*, які є основними споживачами вуглеводних добавок у вулику (Crailsheim et al., 1992, Paoli et al., 2014). У дослідженні використано бджіл місцевої популяції (гібриди карпатської та української степової порід). Додаткову підгодівлю комах здійснювали на базі експериментальної пасіки Чернівецького національного університету імені Юрія Федьковича. Для досліду відібрали 12 здорових, без клінічних ознак інфекційних захворювань, бджолосімей, однакових за своєю силою (близько 40 000 бджіл у кожній колонії). Для вирівнювання сили сімей, перед початком досліду з підгодівлі різними вуглеводами, протягом двох місяців досліджувані сім'ї підгодовували 30 %-ним розчином цукру (підготовчий етап досліду).

Для встановлення можливого впливу вуглеводної дієти на ферментативну активність глутатіон-S-трансферази (GST) бджіл із досліджуваних сімей відбирали три рази з крайніх рамок вуликів. (1) Перший відбір проводили безпосередньо перед початком підгодівлі різною вуглеводною дієтою. Після цього здійснювали підгодівлю бджолиних сімей протягом чотирьох днів 30 %-ним розчинами глюкози, фруктози або цукру. Частина сімей підгодівлі не отримували. (2) Другий відбір бджіл проводили на наступний день після завершення підгодівлі. Після другого відбору бджіл всі сім'ї переводили на початкову дієту, тобто підгодовували 30 %-ним розчином цукру протягом 8 днів. (3) Третій відбір проводили на 8-й день такої підгодівлі. Біологічний матеріал заморожували рідким азотом та зберігали в морозильній камері за мінус 70 °C для біохімічних аналізів протягом наступних двох місяців.

Заморожених бджіл препарували на холоді. Відібрані частини тіла –голова/груди/черевце (по 10 штук на пробу) розтирали гомогенізатором Heidolph в 1000 мкл холодного буфера (40 mM Na-фосфат (pH 7,4), 10 mM NaCl, 1 %-ний тритон X-100 (Di Pasquale et al, 2013)) у який додавали 0,01 %-ну фенілтіосечовину (Weirich et al, 2002).

Відокремлення супернатанту виконували центрифугуванням за 12000 g, 5 °C 10 хвилин і далі його використовували для ферментативних вимірювань. Активність GST визначали в реакційному буфері, який містив 100 mM Na-фосфат (pH 7,4), 1 mM ЕДТА, 2,5 mM GSHред та 1 mM розчин 1-хлор-2,4-динітробензен (ХДНБ) у ролі субстрату шляхом вимірювання зміни абсорбції утвореного комплексу між глутатионом і ХДНБ за 340 нм протягом 2 хв, використовуючи для розрахунків активності коефіцієнт молярної абсорбції цього комплексу –  $9,6 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ . За одиницю активності ензиму брали таку його кількість, яка утворює 1 мкМ продукту за 1 хв. Питому активність ферменту виражали в міжнародних одиницях (МОд) та нормували на міліграм розчинного протеїну в супернатанті. Концентрацію протеїну вимірювали за методом Бредфорда із використанням кумасі яскраво-блакитного G-250 (Bradford, 1976). Як стандарт застосовували бичачий сироватковий альбумін.

Для кожного варіанту підгодовлі використано по три бджолині сім'ї. Отримані результати аналізували за критеріями Вілкоксона, Манна-Уїтні та Краскела-Уолліса. Опис вибіркового розподілу даних проводили на основі значень медіани (Me), нижнього (25 %) та верхнього (75 %) квантилів. Критичний рівень значущості під час перевірки статистичних гіпотез дорівнював  $p \leq 0,05$ .

**Результати та їх обговорення.** Дослідження глутатіон-S-трансферазної активності показало, що влітку у бджіл-фуражирів, які два місяці отримували додаткову підгодовлю 30 %-ним розчином цукру, спостерігається органоспецифічна активність даного ферменту з найвищим його рівнем у черевці, порівняно з головою та тораком. При цьому найбільша різниця виявлена між тканинами тораксу та черевця. Дана закономірність спостерігалася протягом усього експерименту і за інших варіантів дієт (рис. 1).

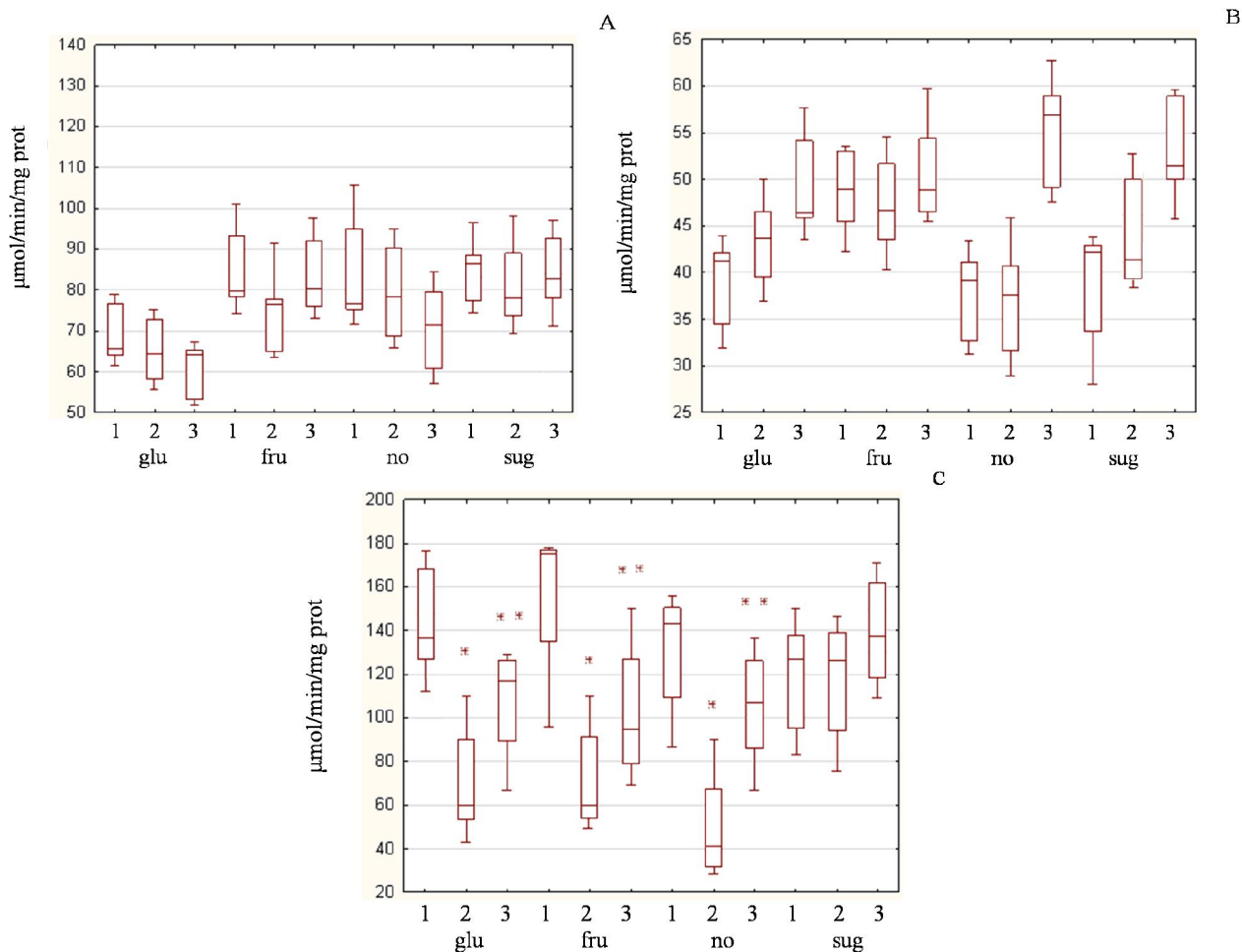
Аналогічні результати отримано (Weirich et al., 2002) під час вивчення механізмів антиоксидантного захисту в особин різних каст *A. mellifera*. Зокрема, найменшу активність глутатіон-S-трансферази встановлено у м'язах грудей робочих бджіл, запліднених та незапліднених маток, а найвища – у тканинах кишечника. Вища активність GST ц тканинах кишечника при порівнянні з тканинами голови імаго виявлена і під час досліджень впливу пилкової дієти на організм медоносних бджіл (Di

Pasquale et al. 2013). Рівень експресії гена глутатіон-S-трансферази зета класу у *Apis cerana cerana* в кишечнику був вищим, ніж у тканинах мозку та м'язів у імаго робочих бджіл (Yan et al. 2012).

Відповідно, найвищу глутатіон-S-трансферазну активність, виявлену нами в тканинах черевця, можна пояснити високою активністю даного ферменту в кишечнику.

GST – це багатофункціональний фермент, який виконує каталітичні реакції детоксикації широкого спектра токсичних сполук (du Rand et al., 2015). GST здатний інактивувати ксенобіотики та продукти перекисного окислення ліпідів шляхом утворення комплексних сполук із редукованим глутатионом, сприяючи їх видаленню з організму; блокувати стероїдні гормони, простагландини (Badiou- Bénétteau et al. 2012; Enayati et al. 2005). Із їжею в організм бджоли потрапляє значна кількість шкідливих речовин, які в кишечнику знешкоджуються GST, зменшуючи ендогенну інтоксикацію та її окисно-стресові наслідки (Enayati et al. 2005, du Rand et al., 2015). Крім того, у певних видів бджіл GST володіє пероксидазною активністю, тому він бере участь не лише у відновленні, а й у запобіганні окислювальним пошкодженням (Yan et al. 2012, Enayati et al. 2005, du Rand et al., 2015). Ймовірно, висока активність ферменту в черевці досліджуваних бджіл опосередковано пов'язана із підвищенням утворенням АФК як у процесах власного травлення комах, так і внаслідок життєдіяльності мікроорганізмів, що мешкають у кишечнику бджіл (Hroncova et al., 2015; Engel et al., 2016).

Склад вуглеводів їжі безперечно впливає на обмінні процеси у тварин та здатен викликати зміни в роботі антиоксидантної системи. Зокрема, сахароза, яка є нередукуючим дисахаридом, здатна вступати у різноманітні метаболічні перетворення, в тому числі взаємодіяти з білками тільки після її гідролізу на складові компоненти –  $\alpha$ -глюкозу і  $\beta$ -фруктозу (Blatt and Roces, 2001; Even et al., 2012). Біохімічні особливості перетворень вуглеводів досить специфічні, тому, ми припустили, що дисахарид – сахароза та окремо моносахариди глюкоза чи фруктоза можуть по-різному впливати на метаболічні процеси, насамперед ті, в яких утворюються АФК. Відповідно, нами досліджено вплив на активність глутатіон-S-трансферази дієт із різними вуглеводами у період зниженого медозбору бджолами.



**Рис. 1** Глутатіон-S-трансферазна активність (мкмоль/хв/мг білка) у тканинах голови (A), тораксу (B) та черевця (C) бджіл-фуражирів *A. mellifera* за різних дієт (– – медіана; □ – 25-75%; ⊞ – розмах без викидів): glu – підгодуєля 30 %-ною глюкозою, fru – підгодуєля 30 %-ною фруктозою, no – без підгодуєлі, sug – підгодуєля 30 %-ним цукром; 1 – після двомісячної підгодуєлі 30 %-ним розчином цукру та перед початком підгодуєлі різними вуглеводними дієтами, 2 – після закінчення підгодуєлі різними дієтами, 3 – на 8-й день після повернення до підгодуєлі 30 %-ним розчином цукру).

Примітка: різниця достовірна ( $p < 0,05$ ) при порівнянні даних: \* – першого та другого етапів відбору бджіл, \*\* – другого та третього етапів відбору бджіл

Виявлено, що припинення підгодуєлі бджіл 30 %-ним розчином цукру (яка здійснювалася на підготовчому етапі досліду) призводила до зменшення активності глутатіон-S-трансферази в тканинах черевця на 72 %, натомість у тканинах голови та тораксу статистично значущих відмінностей не спостерігалось (рис. 1C). Зазначимо, що період проведення досліду характеризувався недостатньою кількістю квітучих медоносних рослин у природі. Отже, внаслідок нестачі нектару, бджоли експериментальних сімей, які не отримували

**Fig. 1** Glutathione-S-transferase activity ( $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg prot}$ ) in tissues of head (A), thorax (B) and abdomen (C) of forager bees (– – median; □ – 25-75% interquartile range; ⊞ range of values excluding outliers): glu – feeding with 30 % glucose, fru – feeding with 30 % fructose, no – no feeding, sug – feeding with 30 % sugar; 1 – after two-month feeding with 30 % sugar and before the beginning of different carbohydrate diets, 2 – after the end of different carbohydrate diets, 3 – at the 8<sup>th</sup> day after return to feeding with 30 % sugar solution.

Note: \* – denotes significant differences ( $p < 0.05$ ) between the first and second phases of the experiment; \*\* – denotes significant differences between the second and third the stage of selection of bees

додаткової підгодуєлі, мали споживати власні запаси меду, які зберігались у їхніх вуликах.

Дослідження впливу харчових токсинів на вразливість бджіл до природних та синтетичних ксенобіотиків показало, що характер дієти, яку споживають бджоли, впливає на морфологічний стан їхнього кишечника. Зокрема, середня кишка бджіл, яких годували медом, морфологічно відрізнялася від тих, які споживали сахарозу. В останніх стінка середньої кишки була тоншою, менш пружною та рухливою (Johnson et al., 2012).

Підгодівля бджіл протягом 4 днів 30 %-ними розчинами глюкози або фруктози призводило до зниження активності GST у тканинах черевця – на 34 % та 65 % відповідно, порівнянно зі значеннями, які спостерігались у цих сім'ях за тривалої підгодівлі розчином цукру на підготовчому етапі досліду (рис. 1С). Отже, найнижчі значення глутатіон-S-трансферазної активності виявлено у бджіл, які споживали власний мед (який являє собою суміш вуглеводів, в якому концентрація моноцукрів (глюкози та фруктози) значно перевищує концентрацію такого дисахариду, як сахароза (Ruiz-Matute, 2010)) без додаткової підгодівлі, або ж отримували 30 %-ний розчин глюкози чи фруктози, а найвищі – у бджіл, які додатково споживали розчин цукру. При цьому вид вуглеводної дієти суттєво не вплинув на активність глутатіон-S-трансферази в тканинах голови та грудей (рис. 1 А, В).

Повернення бджіл до попередньої вуглеводної дієти (30 %-ний розчин цукру) зумовлювало зростання глутатіон-S-трансферазної активності в тканинах черевця (рис. 1 С). При цьому через 8 днів, наприкінці експерименту, активність глутатіон-S-трансферази поверталася до рівня, виявленого нами на підготовчому етапі досліду (рис. 1). У контрольній групі бджіл, які протягом всього досліду споживали додатково 30 %-ний розчин цукру, активність глутатіон-S-трансферази зазнавала певних коливань (рис. 1).

Отримані нами результати узгоджуються з наслідками оксидативного стресу, який викликали продукти розщеплення сахарози у плодової мушки *Drosophila melanogaster*. Зокрема показано, що утримання самок імаго на дієті з 1 %-ною глюкозою або 1 %-ною фруктозою призводить до зменшення активності глутатіон-S-трансферази порівняно з дводенними імаго з обмеженою доступністю вуглеводів у дієті та з мухами, які утримувалися на дієті з 0,25 %-ною глюкозою (Ровенко, 2016). Крім того, дослідження каталазної активності – ферменту першої лінії антиоксидантного захисту, залежно від характеру харчування бджіл, показало подібну реакцію-відповідь організму бджоли на підгодівлю моно- та дисахаридами. Зокрема, зростання активності каталази в тканинах черевця за підгодівлі бджіл 30 %-ним розчином цукру, на відміну від періоду споживання бджолою меду або 30 %-них розчинів фруктози чи глюкози (Язловицька та ін., 2016).

Можна припустити, що форма надходження вуглеводів в організм медоносною бджолою впливає на рівень АФК та стан антиоксидантної

системи. Така точка зору підтверджується результатами, отриманими під час дослідження експресії генів у медоносних бджіл-фуражирів, які утримувалися на різній вуглеводній дієті (мед або сахароза, або кукурудзяний сироп із високим вмістом фруктози). Виявлено, що вищезазначені експериментальні дієти впливають на експресію генів, продукти яких беруть участь в обміні білків, окисно-відновних процесах та спричиняють у жировому тілі комах зміни ліпідного та вуглеводного обмінів (Wheeler and Robinson, 2014). Більше того, встановлено, що годування *A.mellifera* кукурудзяним сиропом із високим вмістом фруктози або кукурудзяним сиропом, який містив тільки глюкозу, призводить до зниження експресії специфічних для гліколітичного шляху генів порівнянно з бджолами, які споживали тільки мед (Jennette, 2017).

Отже, представлені нами результати вказують на те, що споживання різних вуглеводів і подальші зміни в обміні речовин можуть впливати на глутатіон-S-трансферазну активність у певних тканинах медоносною бджолою.

**Висновки.** Встановлено, що у медоносних бджіл-фуражирів глутатіон-S-трансферазна активність суттєво відрізняється у різних частинах тіла: найвища вона в черевці і найменша – в тораксі. Додаткова підгодівля бджіл 30 %-ним розчином цукру викликає зростання активності глутатіон-S-трансферази, а 30 %-ними розчинами глюкози або фруктози суттєво не змінює її активність порівняно з комахами, які не отримували додаткового підгодовування. Ці ефекти спостерігаються тільки в тканинах черевця, на відміну від тканин тораксу та голови, в яких активність ферменту не залежала від виду вуглеводної дієти.

*Автори висловлюють щире подяку професору Роману Анатолійовичу Волкову за слушні зауваження та побажання надані при плануванні експерименту та обговоренні отриманих результатів.*

#### Список літератури:

1. Alabdeen Makawi S.Z, Taha M.I, Zakaria B.A, Siddig B, Mahmud H, Elhussein A.R.M, Gad Kariem E.A. Identification and quantification of 5-hydroxymethylfurfural HMF in some sugar containing food products by HPLC // Pak J Nutr. – 2009. –8(9). – P.1391–1396
2. Badiou- Bénétiau A., Carvalho S. M., Brunet J-L., Carvalho G.A., Buleté A., Giroud B., Belzunces L.P. Development of biomarkers of exposure to xenobiotics in the honey bee *Apis mellifera*: application to the systemic insecticide thiamethoxam // Ecotoxicol.

- Environ. Saf. – 2012. – Vol. 82. – P. 22-31. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2012.05.005
3. Barker R. J Some carbohydrates found in pollen and pollen substitutes are toxic to honeybees // J Nutr – 1977. – 107.- P.1859–1862
  4. Blatt J., Roces F. Haemolymph sugar levels in foraging honeybees (*Apis mellifera carnica*): dependence on metabolic rate and in vivo measurement of maximal rates of trehalose synthesis // J. Exp. Biol. – 2001. – Vol. 204., № 15. – P. 2709–2716.
  5. Bradford M. M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding // Analyt. Biochem. – 1976. – Vol. 72. – P. 248 – 254.
  6. Brodschneider R., Crailsheim K. Nutrition and health in honey bees // Apidologie. – 2010. – Vol. 41. – P. 278–294. DOI: <http://dx.doi.org/10.1051/apido/2010012>
  7. Crailsheim, K., Schneider L. H. W., Hrassnigg N., Bühlmann G., Brosch U., Gmeinbauer R., Schöffmann B. Pollen consumption and utilization in worker honeybees (*Apis mellifera carnica*): dependence on individual age and function // J. Insect Physiol. – 1992. – Vol. 38., № 6. – P. 409–419
  8. Dainat B., Evans J.D., Chen Y.P., Gauthier L., Neumann P. Predictive markers of honey bee colony collapse// PLOS ONE. – 2012. – Vol. 7, № 2. – P. E 32151 <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0032151> <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0032151> DOI:
  9. Di Pasquale G., Salignon M., Le Conte Y., Belzunces L.P., Decourtye A., Kretzschmar A., Suchail S., Brunet J.-L., Alaux C. Influence of pollen nutrition on honey bee health: Do pollen quality and diversity matter? // PLoS One. – 2013 – Vol. 8, Is 8. – P.1–13- e72016 . doi: 10.1371/journal.pone.0072016
  10. Du Rand E. E., Smit S., Beukes M., Apostolides Z., Pirk C. W.W., Nicolson S. W. Detoxification mechanisms of honey bees (*Apis mellifera*) resulting in tolerance of dietary nicotine // Scientific reports. – 2015. – 5.- P.1–11 [www.nature.com/scientificreports/5:11779](http://www.nature.com/scientificreports/5:11779) | doi: 10.1038/srep11779
  11. Enayati A. A., Ranson H., Hemingway J. Insect glutathione transferases and insecticides resistance // Insect Mol. Biol. - 2005. – № 14 (1). – P. 3–8. DOI: 10.1111/j.1365-2583.2004.00529
  12. Engel P., Kwong W.K., McFrederick Q., Anderson KE, Barribeau SM, Chandler JA, Cornman RS, Dainat J, de Miranda JR, Doublet V, Emery O, Evans JD, Farinelli L, Flenniken ML, Granberg F, Grasis JA, Gauthier L, Hayer J, Koch H, Kocher S, Martinson VG, Moran N, Munoz-Torres M, Newton I, Paxton RJ, Powell E, Sadd BM, Schmid-Hempel P, Schmid-Hempel R, Song SJ, Schwarz RS, vanEngelsdorp D, Dainat B. The bee microbiome: impact on bee health and model for evolution and ecology of host-microbe interactions // mBio. – 2016. – Vol. 7., № 2. –:e02164-15. DOI:10.1128/mBio.02164-15
  13. Fedoriak, M.M., Tymochko, L.I., Kulmanov, O.M., Volkov, R.A., Rudenko, S.S. (2017). Winter losses of honey bee (*Apis mellifera* L.) colonies In Ukraine (monitoring results of 2015-2016) //Ukrainian Journal of Ecology. – 2017. –7(4). – P. 604–613 DOI:10.15421/2017\_167
  14. Frias B. E. D., Barbosa C. D., Lourenço A. P. Pollen nutrition in honey bees (*Apis mellifera*): impact on adult health// Apidologie – 2016.– Vol.47., Issue 1. – P.15–25 DOI: 10.1007/s13592-015-0373-y
  15. Goulson D, Nicholls E, Botias C, Rotheray E.L Bee declines driven by combined stress from parasites, pesticides, and lack of flowers // Science. – 2015. – Vol. 347., Issue 6229. – P.12559571. – 12559579. DOI: 10.1126/science.1255957
  16. Jennette M.R. High Fructose Corn Syrup Down-Regulates the Glycolysis Pathway in *Apis mellifera* / Bridgewater State University, 2017. – 35 p. [http://vc.bridgew.edu/honors\\_proj/225](http://vc.bridgew.edu/honors_proj/225)
  17. Johnson R M, Mao W, Pollock H.S, Niu G, Schuler M.A, Berenbaum M.R. Ecologically appropriate xenobiotics induce cytochrome P450s in *Apis mellifera* // PLoS ONE. – 2012. – Vol. 7, Is. 2. – P.1–9.: e31051. DOI: 10.1371/journal.pone.0031051
  18. Krainer S., Brodschneider R., Vollmann J., Crailsheim K., Riessberger-Galle U. Effect of hydroxymethylfurfural (HMF) on mortality of artificially reared honey bee larvae (*Apis mellifera carnica*)// Ecotoxicology. – 2016. – 25– P. 320–328 DOI 10.1007/s10646-015-1590-x
  19. LeBlanc B.W, Eggleston G, Sammataro D, Cornett C, Dufault R, et al. Formation of hydroxymethylfurfural in domestic high-fructose corn syrup and its toxicity to the honey bee (*Apis mellifera*)// J Agric Food Chem. – 2009. – 57 – P. 7369–7376. DOI: 10.1021/jf9014526
  20. Margott J. Understanding how honey bee flight and senescence are connected through oxidative stress / UNLV– University of Nevada, 2014. – 145 p. <http://digitalscholarship.unlv.edu/thesesdissertations/2119>
  21. Hroncova Z., Havlik J., Killer J., Doskocil I., Tyl J. Variation in honey bee gut microbial diversity affected by ontogenetic stage, age and geographic location // PLOS ONE. – 2015. – Vol. 10., № 3. – P. 1– 17 DOI: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0118707>
  22. Paoli P.P., Donley D., Stabler D., Saseendranath A., Nicolson S.W., Simpson S.J., Wright G.A. Nutritional balance of essential amino acids and carbohydrates of the adult worker honeybee depends on age//Amino Acids. – 2014.- 46.-P.1449–1458 DOI 10.1007/s00726-014-1706-2
  23. Papandopoulos A.I., Polemitou I., Laifi P., Yiango A., Tananaki C. Glutathione S-transferase in the insect *Apis mellifera macedonica* Kinetic characteristic and effect of stress on the expression of GST isoenzymes in the adult worker bee // Comp Biochem Physiol. & Toxicol Pharmacol – 2004. – 139.(1-3) – P. 93–97. DOI: 10.1016/S1532-0456(04)00180-2
  24. Ruiz-Matute A., Weiss M., Sammataro D., Finely J., Sanz M. Carbohydrate composition of high-fructose corn syrups (HFCS) used for bee feeding: effect on honey composition // J. Agric. Food Chem. – 2010. – Vol.58, № 12. – P. 7317–7322. DOI: 10.1021/jf100758x

25. Ровенко Б.М. Особливості обміну вуглеводів у *Drosophila melanogaster* при їх обмеженні та надлишку в живильному середовищі: автореф. дис.... канд.біол. наук: 03.00.04/Богдана Михайлівна Ровенко; [наук.кер.В.І.Лушак]: Чернівецький націон універ імені Юрія Федьковича. – Чернівці, 2016. – 21 с.
26. Smart M, Pettis J, Rice N, Browning Z, Spivak M. Linking measures of colony and individual honey bee health to survival among apiaries exposed to varying agricultural land use // PLoS ONE – 2016 – 11(3): e0152685. doi:10.1371/journal.pone.0152685
27. Thorbek P., Campbell P. J., Sweeney P. J., Thompson H. M. Using BEEHAVE to explore pesticide protection goals for European honeybee (*Apis mellifera* L.) worker losses at different forage qualities // Environ Toxicol Chem – 2017. – Vol. 36, №. 1. – P. 254–264, DOI: 10.1002/etc.3504.
28. Trapp J., Mafee A., Foster L. J. Genomics, transcriptomics and proteomics: enabling insights into social evolution and disease challenges for managed and wild bees// Molecular Ecology .-2017.-26. – P. 718–739.,DOI: 10.1111/mec.13986
29. Weirich G., Collins A., Williams V. Antioxidant enzymes in the honey bee, *Apis mellifera* // Apidologie. – 2002. – Vol 33. – № 1. – P. 3–14. DOI : 10.1051/apido:2001001
30. Wheeler M., Robinson G. Diet-dependent gene expression in honey bees: honey vs. sucrose or high fructose corn syrup // Sci. Rep. – 2014. – № 4. – P. 1–5 DOI: 10.1038/srep05726
31. Yan H., Meng F., Jia H., Guo X., Xu B. The identification and oxidative stress response of a zeta class glutathione S-transferase (GSTZ1) gene from *Apis cerana cerana* // Journal of Insect Physiology. – 2012. – Vol. 58. – P. 782–791. DOI:10.1016/j.jinsphys.2012.02.003
32. Язловицька Л.С., Косован М.Д., Череватов В.Ф., Волков Р.А. Активність каталази *Apis mellifera* L. під час літньої підгодівлі різною вуглеводною дієтою // Біол. Сист. Наук. Віс. Чернів. Ун.– 2016. – Т. 8, вип. 2 . – С.183-189. Акtyvnist katalazy *Apis mellifera* L. pid chas litnoi pihodivli riznoiu vuhlevodnoiu diietoiu.
4. Blatt J., Roces F. Haemolymph sugar levels in foraging honeybees (*Apis mellifera carnica*): dependence on metabolic rate and in vivo measurement of maximal rates of trehalose synthesis. *J. Exp. Biol.* 2001; 204 (15): 2709–2716.
5. Bradford M. M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analyt. Biochem.* 1976; 72: 248–254.
6. Brodschneider R., Crailsheim K. Nutrition and health in honey bees. *Apidologie.* 2010; 41: 278–294. doi: http://dx.doi.org/10.1051/apido/2010012
7. Crailsheim, K., Schneider L. H. W., Hrasnigg N., Bühlmann G., Brosch U., Gmeinbauer R., Schöffmann B. Pollen consumption and utilization in worker honeybees (*Apis mellifera carnica*): dependence on individual age and function. *J. Insect Physiol.* 1992; 38 (6): 409–419.
8. Dainat B., Evans J.D., Chen Y.P., Gauthier L., Neumann P. Predictive markers of honey bee colony collapse. *PLoS ONE.* 2012; 7 (2): e32151 doi: http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0032151
9. Di Pasquale G., Salignon M., Le Conte Y., Belzunces L.P., Decourtye A., Kretzschmar A., Suchail S., Brunet J.-L., Alaux C. Influence of pollen nutrition on honey bee health: Do pollen quality and diversity matter? *PLoS ONE.* 2013; 8 (8): e72016. doi: 10.1371/journal.pone.0072016
10. Du Rand E. E., Smit S., Beukes M., Apostolides Z., Pirk C. W.W., Nicolson S. W. Detoxification mechanisms of honey bees (*Apis mellifera*) resulting in tolerance of dietary nicotine. *Scientific reports.* 2015; 5:e11779 doi: 10.1038/srep11779
11. Enayati A. A., Ranson H., Hemingway J. Insect glutathione transferases and insecticides resistance *Insect Mol. Biol.* 2005; 14 (1): 3–8. doi: 10.1111/j.1365-2583.2004.00529
12. Engel P., Kwong W.K., McFrederick Q., Anderson KE, Barribeau SM, Chandler JA, Cornman RS, Dainat J, de Miranda JR, Doublet V, Emery O, Evans JD, Farinelli L, Flenniken ML, Granberg F, Grasis JA, Gauthier L, Hayer J, Koch H, Kocher S, Martinson VG, Moran N, Munoz-Torres M, Newton I, Paxton RJ, Powell E, Sadd BM, Schmid-Hempel P, SchmidHempel R, Song SJ, Schwarz RS, vanEngelsdorp D, Dainat B. The bee microbiome: impact on bee health and model for evolution and ecology of host-microbe interactions. *mBio.* 2016; 7 (2):e02164-15. doi:10.1128/mBio.02164-15
13. Fedoriak, M.M., Tymochko, L.I., Kulmanov, O.M., Volkov, R.A., Rudenko, S.S. (2017). Winter losses of honey bee (*Apis mellifera* L.) colonies In Ukraine (monitoring results of 2015-2016). *Ukrainian J. of Ecology.* 2017; 7(4): 604–613 doi:10.15421/2017\_167
14. Frias B. E. D., Barbosa C. D., Lourenço A. P. Pollen nutrition in honey bees (*Apis mellifera*): impact on adult health. *Apidologie.* 2016; 47 (1): 15–25 doi: 10.1007/s13592-015-0373-y
15. Goulson D, Nicholls E, Botias C, Rotheray E.L Bee declines driven by combined stress from parasites, pesticides, and lack of flowers. *Science.* 2015; 347 (6229):e1255957. doi: 10.1126/science.1255957

## References:

1. Alabdeen Makawi SZ, Taha MI, Zakaria BA, Siddig B, Mahmud H, Elhusein ARM, Gad Kariem EA Identification and quantification of 5-hydroxymethylfurfural HMF in some sugarcontaining food products by HPLC. *Pak J Nutr.* 2009; 8 (9): 1391–1396.
2. Badiou- Bénéteau A., Carvalho S. M., Brunet J-L., Carvalho G.A., Buleté A., Giroud B., Belzunces L.P. Development of biomarkers of exposure to xenobiotics in the honey bee *Apis mellifera*: application to the systemic insecticide thiamethoxam. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 2012; 82: 22–31. doi: 10.1016/j.ecoenv.2012.05.005
3. Barker R. J Some carbohydrates found in pollen and pollen substitutes are toxic to honeybees. *J Nut.* 1977; 107: 1859–1862



16. Jennette M.R. High Fructose Corn Syrup Down-Regulates the Glycolysis Pathway in *Apis mellifera* Bridgewater: Bridgewater State University; 2017. [http://vc.bridgew.edu/honors\\_proj/225](http://vc.bridgew.edu/honors_proj/225)
17. Johnson R M, Mao W, Pollock H.S, Niu G, Schuler M.A, Berenbaum M.R. Ecologically appropriate xenobiotics induce cytochrome P450s in *Apis mellifera*. *PLoS ONE*. 2012; 7 (2):e31051. doi: 10.1371/journal.pone.0031051
18. Krainer S., Brodschneider R., Vollmann J., Crailsheim K., Riessberger-Galle U. Effect of hydroxymethylfurfural (HMF) on mortality of artificially reared honey bee larvae (*Apis mellifera carnica*). *Ecotoxicology*. 2016; 25: 320–328 doi 10.1007/s10646-015-1590-x
19. LeBlanc B.W, Eggleston G, Sammataro D, Cornett C, Dufault R, et al. Formation of hydroxymethylfurfural in domestic high-fructose corn syrup and its toxicity to the honey bee (*Apis mellifera*). *J Agric Food Chem*. 2009; 57: 7369–7376. doi: 10.1021/jf9014526
20. Margott J. Understanding how honey bee flight and senescence are connected through oxidative stress. Las Vegas: University of Nevada; 2014. <http://digitalscholarship.unlv.edu/thesesdissertations/2119>
21. Hroncova Z., Havlik J., Killer J., Duskocil I., Tyl J. Variation in honey bee gut microbial diversity affected by ontogenetic stage, age and geographic location. *PLoS ONE*. 2015; 10 (3):1–17 doi: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0118707>
22. Paoli P.P., Donley D., Stabler D., Saseendranath A., Nicolson S.W., Simpson S.J., Wright G.A. Nutritional balance of essential amino acids and carbohydrates of the adult worker honeybee depends on age. *Amino Acids*. 2014; 46: 1449–1458 doi 10.1007/s00726-014-1706-2
23. Papandopoulos A.I., Polemitou I., Laifi P., Yiango A., Tananaki C. Glutathione S-transferase in the insect *Apis mellifera macedonica* Kinetic characteristic and effect of stress on the expression of GST isoenzymes in the adult worker bee. *Comp Biochem Physiol. & Toxicol Pharmacol*. 2004; 139.(1-3): 93–97. doi: 10.1016/S1532-0456(04)00180-2
24. Ruiz-Matute A., Weiss M., Sammataro D., Finely J., Sanz M. Carbohydrate composition of high-fructose corn syrups (HFCS) used for bee feeding: effect on honey composition. *J. Agric. Food Chem*. 2010; 58 (12): 7317–7322. doi: 10.1021/jf100758x
25. Rovenko B.M. Features of the metabolism of carbohydrates with their limitation and excess in the nutrient medium for *Drosophila melanogaster* [Osoblyvosti obminu vuhlevodiv u *Drosophila melanogaster* pry yikh obmezheni ta nadlyshku v zhyvylnomu seredovyshchi]: abstract. Ph.D. thesis on Biology: 03.00.04: Chernivtsi, 2016. – 21 p. (in Ukrainian)
26. Smart M, Pettis J, Rice N, Browning Z, Spivak M. Linking measures of colony and individual honey bee health to survival among apiaries exposed to varying agricultural land use. *PLoS ONE*. 2016; 11(3): e0152685. doi:10.1371/journal.pone.0152685
27. Thorbek P., Campbell P. J., Sweeney P. J., Thompson H. M. Using BEEHAVE to explore pesticide protection goals for European honeybee (*Apis mellifera* L.) worker losses at different forage qualities. *Environ Toxicol Chem*. 2017; 36 (1): 254–264, doi: 10.1002/etc.3504.
28. Trapp J., Mafee A., Foster L. J. Genomics, transcriptomics and proteomics: enabling in sights into social evolution and disease challenges for managed and wild bees. *Molecular Ecology*. 2017; 26: 718–739. doi: 10.1111/mec.13986
29. Weirich G., Collins A., Williams V. Antioxidant enzymes in the honey bee, *Apis mellifera*. *Apidologie*. 2002; 33 (1): 3 –14. doi : 10.1051/apido:2001001
30. Wheeler M., Robinson G. Diet-dependent gene expression in honey bees: honey vs. sucrose or high fructose corn syrup. *Sci. Rep*. 2014; 4: 1–5 doi: 10.1038/srep05726
31. Yan H., Meng F., Jia H., Guo X., Xu B. The identification and oxidative stress response of a zeta class glutathione S-transferase (GSTZ1) gene from *Apis cerana cerana*. *Journal of Insect Physiology*. 2012;58:782–791. doi:10.1016/j.jinsphys.2012.02.003
32. Yazlovitska L .S., Kosovan M. D., Cherevatov V. F., Volkov R. A. The catalase activity of *Apis mellifera* L. upon summer feeding with varying carbohydrate diet [Aktyvnist katalazy *Apis mellifera* L. pid chas litnoi pidhodivli riznoiu vuhlevodnoiu diietoiu]. *Sci. Herald Chern. Uni. Biol. (Biol. Sys.)*. 2016; 8 (2): 182-188. (in Ukrainian)

## **THE GLUTATHIONE-S-TRANSFERASE ACTIVITY OF *APIS MELLIFERA* L. UPON SUMMER FEEDING WITH VARYING CARBOHYDRATES DIETS**

**V. V. Karavan, V. I. Tsaruk, V. F. Cherevatov, L .S. Yazlovitska**

*The insufficiency of natural sources of food for honey bees, which is sometimes observed in the summer, necessitates their additional feeding on the apiaries. As far as it has been investigated, the physiological and biochemical consequences of the additional feeding are still not completely understood. In particular, the possible changes in the system of antioxidant protection of the insect organism in these conditions are poorly studied, protective enzymes, e.g., glutathione-S-transferase (GST). This enzyme catalyzes the conjugation of reduced glutathione to a large number of xenobiotics and, thus, deals with the cell protection against various kinds of stress. The main purpose of the study was to assess the effect of summer feeding with carbohydrates solutions on the GST activity in foraging bees. The experimental colonies were given additional feeding with a 30 % sugar solution in the course of two months. Then, these colonies were fed for 4 days with different carbohydrate solutions: the first and second groups were fed,*



respectively, with a 30 % glucose or 30 % fructose solutions, the third group got no feeding, while the fourth (control) group obtained a 30 % sugar solution. After this, all experimental colonies got 30 % sugar solution again. The activity of GST was measured (i) before the start of various carbohydrate diets, (ii) after the end of different carbohydrate diets, and (iii) on the 8th day after coming back to feeding with 30 % sugar solution. The highest GST activity was found in abdomen, and the lowest one was found in thorax revealing organ-specificity of GST activity of foraging bees. The ceasing of sugar feeding reduced GST activity in abdominal tissues in all experimental groups. At the same time, the type of carbohydrate diet did not significantly affect the activity of glutathione-S-transferase in the tissues of the head and thorax. The GST activity returned to its initial level within a week after termination of the monocarbohydrate diet and returning to feeding with 30 % sugar solution. Thus, the highest values of GST activity were found in the honey bees obtaining additional feeding with 30 % sugar solution, and the lowest ones were observed in bees which were not fed or received 30 % fructose or 30 % glucose solutions. Our results demonstrate that the different carbohydrates consumption and the following metabolic changes can specifically effect on glutathione-S-transferase activity in different body parts of honey bees.

*Keywords: Apis mellifera, glutathione-S-transferase, carbohydrate diet, foraging bees*

*Отримано редколегією 22.03.2018*