

УМІСТ ЛІПІДІВ У ТКАНИНАХ ОРГАНІЗМУ МЕДОНОСНИХ БДЖІЛ ЗА ЗГОДОВУВАННЯ БОРОШНА СОЇ, ЦУКРОВОГО СИРОПУ І ЦИТРАТИВ КОБАЛЬТУ ТА НІКЕЛЮ

Л. І. Романів, І. І. Ковальчук, А. Г. Пащенко, Р. С. Федорук
ecology@inenbiol.com.ua

Інститут біології тварин НААН,
вул. В. Стуса, 38, м. Львів, 79034, Україна

У статті наведено результати досліджень впливу додавання у підгодівлю медоносним бджолам цукрового сиропу (ЦС), ЦС і борошна з бобів сої (БС) (II) і ЦС, БС і цитратів Со та Ні (СоНЦ+НіНЦ) у дозі 2 і 1 мг роздільно (III, IV) та в поєднанні (V група) (1-й етап) із збереженням цієї схеми для I–II груп та додавання сої в III, IV і V групах для 2-го етапу з розміщенням їх в ентомологічних садках на показники ліпідного обміну в гомогенаті тканин організму.

Результатами досліджень на 1-му етапі не встановлено вірогідних різниць вмісту загальних ліпідів (ЗЛ) у тканинах медоносних бджіл II, III, IV та V дослідних груп порівняно з контрольною. Аналогічна тенденція без вірогідних змін за вмістом загальних ліпідів у тканинах бджіл II, III, IV і V дослідних груп зберігалась й на 2-му етапі досліджень без додавання борошна сої. Більш виражені різниці встановлені у співвідношенні окремих класів ліпідів в тканинах організму бджіл усіх дослідних груп порівняно з контролем. Підгодівля з додаванням борошна сої, цукрового сиропу і цитратів Со та Ні зумовлює вірогідне зростання вмісту фосфоліпідів у зразках тканин бджіл III, IV та V груп; моно- та диацилгліцеролів — у II, III і IV, а етерів холестеролу — лише в II і III дослідних групах на тлі вірогідного зниження вмісту триацилгліцеролів у II, III, IV та V дослідних груп порівняно з їхнім вмістом у зразках тканин бджіл контрольної (I) групи. Роздільне внесення цитратів Со і Ні в дозах 2 і 1 мг відповідно до 25 мл 50 % цукрового сиропу бджолам III та IV дослідних груп і їх поєднання 2 мг Со+1 мг Ні з 25 мл (50 %) цукрового сиропу у V групі зумовлює порівняно з контрольною (I) групою вірогідне зростання вмісту фосфоліпідів у тканинах бджіл III, IV та V, НЕЖК, моно- та диацилгліцеролів — II, III та IV дослідних груп. Однак за дії цих доз цитратів Со і Ні без борошна сої на другому етапі досліджень у тканинах організму бджіл II, III і IV дослідних груп спостерігалось вірогідне зниження вмісту етерів холестеролу і триацилгліцеролів (аналогічно до 1-го етапу) зі зростанням їх рівня лише у бджіл V групи. Відзначено зниження вмісту вільного холестеролу у тканинах бджіл V групи і його зростання у III та IV дослідних групах порівняно з контролем.

Ключові слова: БДЖОЛИ, ТКАНИНИ, ЛІПІДИ, СОЯ, ЦУКРОВИЙ СИРОП, ЦИТРАТИ КОБАЛЬТУ І НІКЕЛЮ, ЕНТОМОФІЛЬНІ САДКИ

CONTENT OF LIPIDS IN TISSUES OF THE MELLIFEROUS BEES ADDITIONAL FED WITH SOYBEAN MEAL, SUGAR SYRUP AND CITRATES OF Co AND Ni

L. I. Romaniv, I. I. Kovalchuk, A. G. Pashchenko, R. S. Fedoruk
ecology@inenbiol.com.ua

Institute of Animal Biology NAAS,
38 V. Stus str., Lviv 79034, Ukraine

The article presents the research results of the influence of addition to melliferous bees sugar syrup (SS), SS and soybean flour (SF) (II) and SS, SF and Co and Ni citrates (CoNC + NiNC) in a dose of 2 and 1 mg separately (III, IV) and in combination (V group) (the 1st stage) with the preservation of this scheme for the I and II groups on the 2nd stage — the exclusion of soybeans in III, IV and V groups I with their placement into entomological gardens on the lipid metabolism indices in the homogenate of tissues.

The research results did not show probable differences (1st stage) in the crude lipids (CL) in the tissues of melliferous bees of the II, III, IV and V experimental groups compared with the control group. Similar situation without probable changes in the content of crude lipids in the tissues of the II, III, IV and V experimental groups maintained at the second stage of the research without the addition of soybean flour. More pronounced differences were established in the correlation of individual lipids classes in the tissues of bees organism of all experimental groups compared with control. Additional feeding of soy flour, sugar syrup and Co and Ni citrates causes a significant

increase in the content of phospholipids in the samples of bees tissues of the III, IV and V groups; mono- and diacylglycerols (in II, III and IV), and cholesterol esters — only in the II and III experimental groups on the background of a probable decrease in the triacylglycerol content in the II, III, IV and V experimental groups compared with their content in the tissues samples of the control (I) group. Separate addition of Co and Ni citrates in doses of 2 and 1 mg in accordance with 25 ml of 50 % sugar syrup to the bees of III and IV experimental groups and their combination — 2 mg of Co + 1 mg of Ni with 25 ml (50 %) of sugar syrup in V group determines the probable increase in the phospholipids content in the tissues of bees of the III, IV and V groups compared with the control group (I), NEFA, mono and diacylglycerols in the II, III and IV experimental groups. However, under the action of these doses of Co and Ni citrates without soy flour on the second stage of the research in tissues of the organism of bees II, III and IV, there was a probable decrease in the content of cholesterol esters and triacylglycerols (similar to the first stage) with the increase of their level only in bees of the V group. A decrease was marked in the content of free cholesterol in the tissues of V group the bees and its increase in the III and IV experimental groups compared to the control.

Keywords: BEES, TISSUES, LIPIDS, SOYBEAN, SUGAR SYRUP, COBALT AND NICKEL CITRATES, ENTOMOPHILIC GARDENS

СОДЕРЖАНИЕ ЛИПИДОВ В ТКАНЯХ ОРГАНИЗМА МЕДОНОСНЫХ ПЧЕЛ ПРИ СКАРМЛИВАНИИ МУКИ СОИ, САХАРНОГО СИРОПА И ЦИТРАТОВ Со и Ni

Л. И. Романив, И. И. Ковальчук, А. Г. Пащенко, Р. С. Федорук
ecology@inenbiol.com.ua

Институт биологии животных НААН,
ул. В. Стуса, 38, г. Львов, 79034, Украина

В статье приведены результаты исследований влияния добавления в подкормку медоносным пчелам сахарного сиропа (СС)(I), СС и муки с бобов сои (МС) (II) и СС, МС и цитратов Со и Ni (СоНЦ+ NiНЦ) в дозе 2 и 1 мг отдельно (III, IV группы) и в сочетании (V) (I-й этап) с сохранением этой схемы к I и II группе с исключением сои в III, IV и V группах на 2-м этапе с помещением их в энтомологических садках на показатели липидного обмена в гомогенате тканей организма.

Исследованиями не установлено достоверных различий (I) содержания общих липидов (ОЛ) в тканях медоносных пчел II, III, IV и V опытных групп по сравнению с контрольной. Аналогичная тенденция без достоверных изменений содержания общих липидов в тканях пчел II, III, IV и V опытных групп сохранялась и на втором этапе исследований без добавления муки сои в III, IV и V группах. Более выраженные различия установлено в соотношении отдельных классов липидов в тканях организма пчел всех опытных групп по сравнению с контролем. Подкормка с добавлением муки сои, сахарного сиропа и цитратов Со и Ni предопределяет достоверный рост содержания фосфолипидов в образцах тканей пчел III, IV и V групп, моно- и диацилглицеролов (в II, III и IV), а эфиров холестерина — только во II и III опытных группах на фоне достоверного снижения содержания триацилглицеролов для II, III, IV и V опытных групп по сравнению с их содержанием в образцах тканей пчел контрольной (I) группы. Раздельное внесение цитратов Со и Ni в дозах 2 и 1 мг соответственно до 25 мл 50 % сахарного сиропа пчелам III и IV й опытных групп и их сочетание — 2 мг Со + 1 мг Ni с 25 мл (50 %) сахарного сиропа в V группе вызывает по сравнению с контрольной (I) группой достоверный рост содержания фосфолипидов в тканях пчел III, IV и V, НЭЖК, моно- и диацилглицеролов — у пчел II, III и IV опытных групп. Однако за действия этих доз цитратов Со и Ni без муки сои на 2-м этапе исследований в тканях организма пчел II, III и IV опытных групп наблюдалось достоверное снижение содержания эфиров холестерина и триацилглицеролов (аналогично I-му этапу) с ростом их уровня только у пчел V группы. Отмечено снижение содержания свободного холестерина в тканях пчел V и его рост в III и IV опытных группах по сравнению с контрольной (I) группой.

Ключевые слова: ПЧЕЛЫ, ТКАНИ, ЛИПИДЫ, СОЯ, САХАРНЫЙ СИРОП, ЦИТРАТЫ КОБАЛЬТА И НИКЕЛЯ, ЭНТОМОФИЛЬНЫЕ САДКИ

Відомо, що для нормального росту і розвитку бджолиних сімей та одержання від них високоякісної продукції необхідні кормові ресурси у вигляді нектару і пилку, продуцентами яких є вегетуючі нектаро- та пилконосні

рослини. Медоносні бджоли споживають пергу, первинною сировиною для якої є квітковий пилок рослин (чоловічий гаметофіт), що формується у бджолине обніжжя і заноситься робочими бджолами у комірочки (чарунки) стіль-

ників вулика. З біохімічної оцінки перга — це концентрат есенціальних компонентів (протеїнів, незамінних амінокислот, макро- мікро- та ультрамікроелементів, вітамінів, каротиноїдів), а також незамінне джерело надходження до організму медоносних бджіл ліпідів. З літературних джерел відомо, що квітковий пилок містить значну їх кількість — від 5,1 % в аличі (*Prunus cerasifera*) до 14,0–15,5 % у кульбаби лікарської (*Taraxacum officinale*) та 15,7 і 10,3 % у груші (*Pyrus communis* L.) і конюшини (*Trifolium*) [11]. Ліпіди пилку представлені жирами і жироподібними речовинами, зокрема протоплазматичними фосфоліпідами (15–21 %) і фітостеринами (0,5–1,5 %), які є антагоністами холестеролу з вираженою антиатеросклеротичною дією в організмі людини і тварин. Ліпідний склад бджолиного обніжжя не обмежується наявністю суто амфіфільних класів, оскільки ще містить й моно- та диацилгліцероли, вільний холестерол, неетерифіковані жирні кислоти, триацилгліцероли та етери холестеролу. Окрім полярних та нейтральних ліпідів, до його складу входять найбільш поширені насичені і ненасичені жирні кислоти: лауринова (12:0), міристинова (14:0), пальмітинова (16:0), стеаринова (18:0), арахідова (20:0), пальмітоолеїнова (16:1), олеїнова (18:1), лінолева (18:2), ліноленова (18:3) та арахідонова (20:4) [4, 6]. Енергетичну і біологічну цінність ліпідів пилку для організму бджіл формують передусім довголанцюгові (C_{16} – C_{24}) жирні кислоти, оскільки для цих комах вони є набагато ціннішими за амінокислоти і вуглеводи [9, 12]. Так, олеїнова і пальмітинова кислоти в жирнокислотному складі тіла дорослих бджіл становлять біля 60 %, а у личинок — тільки 40 %. У полярних ліпідах (фосфоліпідах) тіла бджіл домінує олеїнова кислота, а в нейтральних (триацилгліцеролах і етерах холестеролу) — пальмітинова. ПНЖК, лінолева і ліноленова створюють для організму бджіл, як і в інших тварин узагалі, не тільки енергетичну, але й біологічну цінність ліпідів. Обидві вони є необхідними для формування ліпідного бішару біомембран і стимуляції обміну холестеролу.

Тому на практиці, внаслідок природного дефіциту вуглеводно-білкового корму (нектару і пилку рослин) передбачені заходи екстреної підгодівлі бджіл штучними замінниками проте-

їнів перги з додаванням компонентів тваринного і рослинного походження, зокрема сухого молока, інактивованих дріжджів, сироватки крові ссавців, борошна окремих бобових і злакових культур, незбираного сухого молока, яєчних білків [16, 17]. Однак збалансоване живлення медоносних бджіл передбачає забезпечення їх також необхідними макро- та мікроелементами, які надходять до організму робочих бджіл і розплуду, відіграючи важливу роль в онтогенезі та життєздатності цих комах. Мінеральні речовини в організмі тварин використовуються як структурний матеріал і як компоненти багатьох вітамінів, гормонів та ензимів, забезпечуючи їхню фізіологічну функцію та необхідну інтенсивність обміну речовин [10].

Однією з таких добавок є соєве борошно, яке може ефективно конкурувати з іншими екзогенними протеїново-жировими компонентами, у тому числі синтетичного походження [11, 14].

Борошно з бобів сої (*Glycine max*), крім великої кількості білка (36–48 %), ліпідів (13–27 %) та вуглеводів (17–34 %), містить широкий спектр макроелементів (мг/100 г сухої речовини): Кальцію (Ca) — 250–348; Хлору (Cl) — 30–64; Магнію (Mg) — 100–280; Фосфору (P) — 480–780; Калію (K) — 1607–2780; Сульфору (S) — 214–244; Натрію (Na) — 6,0–44,0 і мікроелементів (мкг/100 г сухої речовини): Силіцію (Si) — 177–400; Феруму (Fe) — 9,7–25,7; Цинку (Zn) — 2,01–4,89; Мангану (Mn) — 2,8–8,0; Купруму (Cu) — 0,1–0,8; Моібдену (Mo) — 99–250; Кобальту (Co) — 31,2; Йоду (I) — 5,0–8,2; Флуору (F) — 120; Селену (Se) — 11–30,0; Хрому (Cr) — 16,0 [14]. Однак, незважаючи на багатий макро- та мікроелементний склад, борошно сої містить мізерну кількість есенціальних для організму бджіл ультрамікроелементів, зокрема Со.

Відомо, що іони Со впливають на показники вмісту загального білка, його окремих фракцій та підвищення рівня β - і γ -глобулінів у гемолімфі бджіл [4, 7]. Встановлено, що іони Со активніше зв'язуються з альбуміновою фракцією сироватки крові ссавців, вміст якої є нижчим, ніж глобулінів, тоді як у пилку і маточному молочку бджіл вміст альбумінової фракції є вищим порівняно з глобуліновою. Це підтверджується дослідженнями [6, 13], в яких вста-

новлено, що альбумінова і глобулінова фракції загального білка у маточному молочку містяться у співвідношенні 2:1. Однак, за даними інших дослідників [2, 18], у співвідношенні білкових фракцій маточного молочка переважають глобуліни. Вказується на високу імуні- і резистентну здатність організму бджіл, яка більше проявляється у молодих бджіл і маток, що може зумовлюватися впливом глобулінових фракцій білкових компонентів молочка.

Важливим є те, що повноцінне маточне молочко як екзосекрет гіпофарингіальних залоз молодих бджіл-годувальниць, крім протеїну, незамінних амінокислот, вуглеводів, ліпідів, вітамінів, гормоноподібних речовин, містить низку мінеральних елементів, зокрема Ферум (Fe), Сульфур (S), Магній (Mg), Манган (Mn), Кальцій (Ca), Хром (Cr), Сіліцій (Si), Нікель (Ni), Кобальт (Co), Цинк (Zn), Аргентум (Ag), Фосфор (P) та інші. Важливо відзначити, що серед водорозчинних вітамінів групи B міститься багато (до 150 мкг/г) ціанкобаламіну (вітамін B₁₂), у структурі якого локалізуються атоми Кобальту (Co³⁺), формуючи коринову кільцеву систему (кофактор віт. B₁₂), яка є структурно спорідненою з порфірінами гемі та гемовмісними білками [3, 11].

Отже, від наявності тих чи інших біотичних елементів залежить інтенсивність обміну речовин і перетворення енергії. Комплексне збагачення компонентів підгодовлі бджіл рослинного і тваринного походження окремими есенціальними мікроелементами дає можливість коригувати метаболічні показники, зокрема й обміну ліпідів, в організмі медоносних бджіл, підвищити адаптаційну здатність (енантиостаз) до абіотичних факторів та покращити біологічну цінність одержаної від них продукції. Однак використання у підгодовлі бджіл солей мінеральних кислот може викликати аліментарний (сольовий) токсикоз. Відомо й те, що надмірно високе надходження окремих важких металів — Pb, Cu та Fe до організму робочих бджіл знижує кількість домінуючих катіонів K ($r = -0,44$; $-0,82$) і Mg ($r = -0,63$; $-0,72$) у циркуляторній системі гемолімфи бджіл. Необхідно відзначити вплив окремих макроелементів, які не зв'язані з білками гемолімфи, а перебувають в іонізованій формі, зокрема Na,

Ca, K, Mg на організм медоносних бджіл [1, 13, 15]. Ці біотичні елементи підтримують осмотичний тиск клітин, забезпечують транспорт окремих іонів через клітинні мембрани та активують біоелектричні процеси в мембранах тканин організму медоносних бджіл. Встановлено, що їхнє кількісне співвідношення змінюється у процесі онтогенезу бджіл [2].

Тому перспективним напрямом є збагачення штучного корму бджіл мікроелементами з використанням нанокарбоксилатів біотичних елементів, які підвищують його біологічну цінність. Такі органічні сполуки мають високу біологічну дію, краще засвоюються в організмі, активно використовуються в процесах обміну речовин, зокрема у бджіл, підвищують їхню резистентність, життєздатність і репродуктивну функцію [8].

У зв'язку з цим, метою досліджень було вивчити вплив роздільної та поєднаної підгодовлі бджіл цукровим сиропом, борошном сої та «наноцитратами» Co і Ni на вміст загальних ліпідів і співвідношення окремих їхніх класів у тканинах усього організму бджіл за умов експериментальної акліматизації у садках термостату.

Матеріали і методи

Дослідження проводили в умовах ізоляції медоносних бджіл, отриманих з пасіки-віварію ІБТ НААН, які утримувались у садках і розміщувались в термостаті з дотриманням заданих параметрів мікроклімату за $t + 27^{\circ}\text{C}$ і відносній вологості 60–80 %. Дослідний період охоплював два етапи підгодовлі тривалістю 14 діб кожний.

На першому етапі досліджень було сформовано п'ять груп по 44–45 бджіл у кожній: I група — контрольна (К): підгодовля 25 мл (50 %) цукровим сиропом (ЦС); II — дослідна (Д): 25 мл 50% ЦС+ 25 г борошна сої (БС); III — дослідна (Д): 25 мл 50 % ЦС+25 г БС+ 2 мг Co у вигляді цитрату Co; IV — дослідна (Д): 25 мл 50 % ЦС+25 г БС+1 мг Ni у цій же сполуці; V — дослідна (Д): 25 мл 50 % ЦС+25 г БС+2 мг Co і 1 мг Ni у вигляді цитрату. На другому етапі досліджень, проведеному на контрольній (I) і чотирьох дослідних групах бджіл, вивчали вплив згодовування їм ЦС з борошном

сої (лише у II групі) та цитратів Co і Ni на вміст загальних ліпідів та співвідношення окремих їх класів у тканинах усього організму бджіл порівняно з I контрольною групою за схемою: I (К) — 25 мл 50 % ЦС; II (Д) — 25 мл 50 % ЦС+50 г БС; III (Д) — 25 мл 50 % ЦС+2 мг Со з СоНЦ; IV (Д) — 25 мл 50 % ЦС+1 мг Ni з NiНЦ; V (Д) — 25 мл 50 % ЦС+2 мл Со з СоНЦ+1 мг Ni з NiНЦ. Після завершення підгодівлі через 14 діб відбирали по 30–35 бджіл з кожної групи і залишали їх в морозильній камері впродовж 30–40 хв. Проводили гомогенізацію тканин бджіл кожної групи і розділяли їх на три паралельні зразки тканин по 1 г.

Для біохімічних досліджень у гомогенатах тканин медоносних бджіл визначали вміст загальних ліпідів (ЗЛ), попередньо екстрагуючи контрольні і дослідні зразки тканин за методом Фолча [5]. Абсолютну кількість загальних ліпідів у досліджуваних зразках тканин бджіл, одержаних після екстрагування, визначали гравіметричним методом, зважуючи доведені до постійної маси тканинні екстракти з ліпідами за допомогою аналітичної ваги, отримані масові величини їх вмісту виражали у г%.

Відносний вміст окремих класів ліпідів (%) — фосфоліпідів (ФЛ), моно- та диацилгліцеролів (МДАГ), вільного холестеролу (ВХ), неестерифікованих жирних кислот (НЕЖК), триацилгліцеролів (ТАГ), естерів холестеролу (ЕХ) досліджували за допомогою тонкошарової хроматографії з використанням силікагелевих пластин *Sorbfil Plates* (ПТСХ-П-А) з подальшим вимірюванням показників оптичної густини у досліджуваних біологічних зразках на спектрофотометрі СФ-46 ($\lambda=440$ нм) [19].

Цифрові дані опрацьовані статистично з використанням комп'ютерної програми *Microsoft Excel* з використанням середніх величин M , їх відхилень $\pm m$ і ступеня вірогідності між групових різниць з використанням коефіцієнта Стюдента (P).

Результати й обговорення

Аналіз отриманих результатів досліджень вказує на незначні відхилення показників вмісту загальних ліпідів у зразках тканин бджіл II, III, IV та V дослідних груп, що проявляв лише

тенденцію до підвищення порівняно з контрольною (I) групою (табл. 1). Більше виражені зміни встановлені щодо вмісту окремих класів ліпідів, вірогідні різниці яких були відзначені у II, III, IV та V дослідних групах порівняно з показниками контролю. Зокрема, відзначено вірогідне (108,2; 107,5 і 111,8 %; $P<0,01$) зростання вмісту фосфоліпідів (ФЛ) у тканинах бджіл III, IV і V дослідних груп порівняно з величиною цього показника у контрольній групі. Це може вказувати на стимулювальний вплив Со і Ni цитратів на синтез цих ліпідів в організмі бджіл і їхню адаптаційну здатність.

Відомо, що завдяки притаманній амфільності фосфоліпіди беруть активну участь в утворенні ліпідного бішару біомембран, впливають на біохімічні механізми температурної адаптації, підтримуючи мікрорівність мембран, у тому числі й низку метаболічних функцій, зокрема реакцій ензимного каталізу, транспорт іонів та синаптичну передачу в організмі тварин. Звісно ж, функціонування таких адаптивних механізмів у тварин може мати видові особливості. Це насамперед пов'язано з особливостями ліпідного обміну, зокрема кількістю подвійних зв'язків в молекулі жирних кислот у складі протоплазматичних ліпідів (фосфоліпідів), активацією й інактивацією низки термолабільних мітохондріальних ензимів-десатураз та їхньою індукцією за умов гіпотермічного стресу. Відомі також й інші видоспецифічні тканинні кріопротектори у тварин, зокрема макромолекулярні антифризи — пептиди і глікопептиди. Амінокислотні залишки цих сполук містять багато аланіну, треоніну, серину, цистеїну та проліну, однак клас комах *Insecta* здебільшого характеризується наявністю тканинних кріопротекторів пептидної природи, багатих серином і цистеїном [6].

Встановлено виражені зміни щодо вмісту моно- та диацилгліцеролів (МДАГ) з вірогідним ($P<0,05-0,02$) зростанням їхнього рівня у тканинах бджіл II групи на 19,2 % і III та IV дослідних груп — на 12,5 та 12,1 % порівняно з їхнім вмістом в контрольній групі. Комахи перетравлюють і всмоктують ліпіди корму аналогічно механізмам біологічної абсорбції хребетних тварин. Однак існують також і деякі видові метаболічні відмінності цих процесів. Зокрема, характерною рисою жирового обміну у бджіл є

Таблиця 1

Вміст загальних ліпідів і співвідношення окремих їхніх класів у тканинах організму бджіл за годоування борошна сої та цитратів Со і Ні в ентомофільних садках ($M \pm m$, $n=3$)
The content of total lipids and the ratio of their individual classes in the tissues of the body of bees for the feeding of soy flour and Co and Ni citrates in the entomophyllic gardens ($M \pm m$, $n=3$)

Класи ліпідів Classes of lipids	Група медоносних бджіл / Group of honey bees				
	I-К, 25 мл 50 % ЦС I-C, 25 ml 50 % SS	II-Д, 25 мл ЦС + 25 г БС II-E, 25 ml SS + 25 g SF	III-Д, 25 мл ЦС + 25 г БС + 2 мг Со (CoHЦ) III-E, 25 ml SS + 25 g SF + 2 mg Co (CoNC)	IV-Д, 25 мл ЦС + 25 г БС + 1 мг Ні (NiHЦ) IV-E, 25 ml SS + 25 g SF + 1 mg Ni (NiNC)	V-Д, 25 мл ЦС + 25 г БС + 2 мг Со + 1 мг Ні (CoHЦ+NiHЦ) V-E, 25 ml SS + 25 g SF + 2 mg Co + 1 mg Ni (CoNC+NiNC)
ЗЛ, г% / TL, g%	3,60±0,11	3,96±0,21	3,40±0,15	3,66±0,12	3,73±0,26
ФЛ, % / PL, %	30,98±0,40	32,33±0,36	33,52±0,33**	33,31±0,26**	34,65±0,18**
МДАГ, % / MAG-DAG, %	11,90±0,43	14,19±0,37*	13,39±0,24*	13,34±0,20*	12,23±0,15
ВХ, % / FC, %	11,34±0,40	11,86±0,28	11,66±0,30	11,60±0,30	11,80±0,37
НЕЖК, % / NEFA, %	16,12±0,41	15,44±0,35	15,50±0,15	15,32±0,23	15,62±0,17
ТАГ, % / TAG, %	16,26±0,39	10,61±0,35***	10,84±0,30***	12,95±0,17**	11,72±0,23***
ЕХ, % / CE, %	13,25±0,17	15,26±0,18**	15,09±0,26**	13,42±0,18	13,81±0,31

Примітка: вірогідні різниці вмісту загальних ліпідів і співвідношення окремих їхніх класів у тканинах організму медоносних бджіл II, III, IV і V дослідних груп порівняно з контролем: * — $P < 0,05$, ** — $P < 0,01$, *** — $P < 0,001$. У цій і наступній таблицях: ЗЛ — загальні ліпіди, ФЛ — фосфоліпіди, МДАГ — моно-і диацилгліцеролі, ВХ — вільний холестерол, НЕЖК — неестерифіковані жирні кислоти, ТАГ — триацилгліцеролі, ЕХ — етери холестеролу, БС — борошно сої, ЦС — цукровий сироп, СоHЦ — наноцитрат Со, NiHЦ — наноцитрат Ні.

Note: probable differences in the content of common lipids and the ratio of their individual classes in the tissues of the body of honey bees II, III, IV і V experimental groups compared with control: * — $P < 0,05$, ** — $P < 0,01$, *** — $P < 0,001$. In this and the next table: TL — total lipids, PL — phospholipids, MAG-DAG — mono-end diacylglycerols, FC — free cholesterol, NEFA — neesterified fatty acids, TAG — triacylglycerols, CE — cholesterol esters, SF — soya flour, SS — sugar syrup, CoNC — Co nanocitrate, NiNC — Ni nanocitrate.

особливість ліпідтранспортної системи. Основні ліпіди корму в організмі бджіл трансформуються у диацилгліцеролі, виконуючи, як і глюкоза, функцію енергетичного забезпечення, вміст якої визначають відмінні від ссавців гомеостатичні механізми, що контролюють її рівень у циркуляторному руслі гемолімфи бджіл. Відомо, що саме ці процеси здійснюються за допомогою ліпопротеїнів високої щільності (ЛПВЩ) під назвою ліпофорин, утворюючи при цьому циркулюючі макромолекулярні аполіпопротеїн-транспортні комплекси з фосфоліпідами, холестеролом, естерами холестеролу і триацилгліцеридами. Ліпофорин вважають транспортним елементом, який забирає ліпіди з кишечника і доставляє їх до тканин для депонування або ж інтенсивного використання без участі ендоцитозних механізмів, які є загальними для ссавців. Аналогічну транспортну функцію в організмі ссавців виконують ліпопротеїни найбільшої щільності — хіломікрони, які навантажені (до 85 %) молекулами триацилгліцеролів і містять низку унікальних аполіпопротеїнів

(apo-B48; apoE і apoC-II). Наприклад, apoC-II в організмі тварин активує ліпопротеїніліпазу в капілярах жирової тканини, серця, скелетних м'язів та лактуючих молочних залоз, забезпечуючи при цьому надходження неестерифікованих жирних кислот (НЕЖК) до цих тканин.

Отже, зростання рівня МДАГ у тканинах організму бджіл (II, III та IV) дослідних груп може вказувати на інтенсивніше енергетичне забезпечення їх тканин за внесення до цукрового сиропу різних доз цитратів Со та Ні на тлі активних ліполітичних процесів, обумовлених деградацією депонованих в адипоцитах жирового тіла триацилгліцеролів. Вірогідні відмінності спостерігались щодо зниження вмісту триацилгліцеролів у зразках тканин бджіл II, III, IV та V дослідних груп — на 35,8; 33,4; 20,4 та 28,0 % ($P < 0,01-0,001$) проти величини цього показника у контролі. З точки зору енергетичних потреб, що забезпечуються метаболізмом, субстрати, які використовуються комахами в умовах польоту, є різними. Зазвичай у бджіл джерелом енергії слугують вуглеводи — трега-

лоза гемолімфи або ж конвертований ендогенно з депо глікоген жирового тіла. Активність окремих ензимів гліюконеогенезу, у тому числі мітохондріальної піруваткарбоксилази льотних м'язів (торакального відділу) у медоносних бджіл залежить від нагромадження алостеричного активатора, зокрема ацетил-СоА, що утворюється в процесі катаболізму жирних кислот. Це може вказувати на використання жирних кислот триацилгліцеролів як потенційного джерела енергії у бджіл [5]. Однак дослідженнями інших авторів [6] встановлено, що саме завдяки активації ензимів гліюконеогенезу, зокрема піруваткарбоксилази, забезпечується потреба цитратсинтазної реакції в оксалоацетаті для його конденсації з ацетил-СоА, що утворюється власне з глюкози. Тому ці зміни можуть бути зумовлені також особливостями абсорбції іонів Ні в організмі бджіл. Доведено, що в організмі ссавців за умов експериментального Ні-дефіцитного стану на 50–75 % знижується ензиматична активність 7-ми дегідрогеназ, вміст триацилгліцеролів зі зростанням рівня неестерифікованого холестеролу, двох амінотрансфераз та α -амілаз [11, 12]. За участі ензимів амілолітичного спектру, зокрема α -і β -амілаз, які входять до складу секрету гіпофарингіальних залоз у бджіл старшого віку, проходять активні процеси ферментативного розщеплення крохмалю, інулїну, декстринів та інших поліцукрів незрілого меду, що підвищує його біологічну цінність [17, 18].

Вірогідні зміни встановлено за відносним вмістом естерів холестеролу у тканинах організму бджіл зі збільшенням його в II та III дослідних групах, відповідно, на 15,2 та 13,9 % ($P < 0,01$) порівняно зі зразками тканин контрольної (I) групи. Етери холестеролу з поліненасиченими жирними кислотами (ПНЖК) є важливою транспортною формою стеридів, а, отже, необхідною ланкою регуляції їх метаболізму. За нестачі ПНЖК утворення естерів гальмується, що призводить до порушень обміну холестеролу. У квітковому обніжжі сумарна кількість вільного і естерифікованого фітостерину становить 40–50 %. Привертають увагу дослідження [12], пов'язані з особливостями ліпідного обміну при діагностиці субклінічної форми нозематозу уражених спорами цього збудника

медоносних бджіл. В організмі бджіл, уражених мікроспоридією *Nosema ceranae*, простежується чітка тенденція до зростання на понад 40 % естерів холестеролу в їхніх екскрементах. Встановлені зміни дослідники трактують саме підвищеним споживанням перги, яка містить до 40 % фітостеролу естерифікованої форми. При цьому екзогенні фітостероли, які не абсорбувались, відновлюються до копростеролу екскрементів. Зростання вмісту естерів холестеролу у тканинах бджіл лише II та III дослідних груп може вказувати на вищу антиліполітичну активність ензимів, які регулюють процес його естерифікації за дії борошна сої та високої дози (2 мг) Со цитрату, і відсутність такого впливу меншої (1 мг) дози Со та Ні цитратів.

Дані табл. 2 вказують на незначні відхилення показників вмісту загальних ліпідів без вірогідних різниць (ЗЛ) у тканинах бджіл II, III, IV та V дослідних груп порівняно з контрольною (I) групою.

Застосування Со і Ні цитратів без борошна сої на другому етапі досліджень свідчить про більш виражений коригувальний вплив цих сполук на вміст окремих класів ліпідів у тканинах бджіл. Зокрема аналіз результатів досліджень співвідношення окремих класів ліпідів вказує на вірогідне ($P < 0,02$ – $0,001$) зростання вмісту фосфоліпідів у тканинах бджіл III, IV і V дослідних груп на 104,3; 106,3 і 111,8 % відповідно порівняно з їх вмістом у зразках гомогенатів тканин контрольної (I) групи. Ці дані узгоджуються з результатами вивчення відносного вмісту ФЛ у тканинах бджіл за дії Со і Ні цитратів у поєднанні з борошном сої (табл. 1), що вказує на основну дію цитратів МЕ, а не сої. Слід зазначити, що в будь-якій ліпідній мембрані ФЛ необхідні для стабілізації конформації та агрегації окремих компонентів у ферментативних білкових комплексах, а також для створення гідрофобного середовища утворенням безперервної структури з усіма властивостями, притаманними для них [6].

Також встановлено аналогічне зростання у тканинах бджіл II, III та IV груп відносного вмісту МДАГ на 57,2; 19,4 та 28,1 % ($P < 0,01$ – $0,001$) від рівня в контролі на тлі зниження ТАГ на 31,3; 27,4 та 26,1 % ($P < 0,001$) відповідно. Однак у бджіл V групи встановлено

Таблиця 2

Вміст загальних ліпідів і співвідношення окремих їхніх класів у тканинах організму бджіл за згодовування цукрового сиропу та цитратів Co і Ni в ентомофільних садках (M±m, n=3)
The content of common lipids and the ratio of their individual classes in the tissues of the body of bees for the feeding of sugar syrup and citrates of Co and Ni under the entomophyllic gardens (M±m, n=3)

Класи ліпідів Classes of lipids	Група медоносних бджіл / Group of honeybees				
	I-K, 25 мл 50 % ЦС I-C, 25 ml 50 % SS	II-D, 25 мл ЦС + 50 г БС II-E, 25 ml SS + 50 g SF	III-D, 25 мл ЦС + 2 мг Co (CoHЦ) III-E, 25 ml SS + 2 mg Co (CoNC)	IV-D, 25 мл ЦС + 1 мг Ni (NiHЦ) IV-E, 25 ml SS + 1 mg Ni (NiNC)	V-D, 25 мл ЦС + 2 мг Co+1 мг Ni (CoHЦ+NiHЦ) V-E, 25 ml SS + 2 mg Co + 1 mg Ni (CoNC+NiNC)
ЗЛ, г% / TL, g%	3,53±0,12	3,66±0,20	3,30±0,11	3,83±0,20	3,76±0,14
ФЛ, % / PL, %	31,21±0,30	31,73±0,28	32,58±0,18*	33,20±0,20**	34,89±0,28***
МДАГ, % / MDAG-DAG, %	9,35±0,31	14,70±0,16***	11,17±0,23**	11,98±0,28**	8,87±0,30
ВХ, % / FC, %	11,01±0,18	10,80±0,30	11,90±0,37*	12,36±0,19**	6,84±0,23***
НЕЖК, % / NEFA, %	12,00±0,34	15,52±0,27**	15,24±0,18**	14,80±0,29**	12,01±0,16
ТАГ, % / TAG, %	16,25±0,32	11,17±0,34***	11,80±0,20***	12,01±0,19***	17,34±0,19*
ЕХ, % / CE, %	19,68±0,23	15,95±0,13***	17,27±0,23**	15,60±0,28***	20,02±0,25

зростання їх рівня на 6,7 % ($P<0,05$). Одержані дані вказують на зміни вмісту НЕЖК з вірогідним зростанням їх рівня у ліпідах тканин бджіл II, III і IV дослідних груп, відповідно, на 29,3; 27,0 і 23,3 % ($P<0,01$) порівняно з контрольною (I) групою, що свідчить про активацію процесів ліполізу в організмі бджіл цих груп, оскільки зміни загального вмісту НЕЖК як попередників синтезу ліпідів, так і продуктів їхнього розпаду, а також і ТАГ в тканинах є одним з критеріїв оцінки спрямування ліпідного метаболізму: зниження кількості є свідченням активації синтезу ліпідів, а збільшення — ліполізу. Відомо, що ліполіз фізіологічно зводиться до підтримання гомеостатичних концентрацій окремих ліпідних компонентів, необхідних для аеробного клітинного дихання, а також утворення ПНЖК для забезпечення компенсації 80 % енергетичних потреб тканин [2, 18], що має особливо важливе значення у бджіл.

Припускаємо, що зростання вмісту НЕЖК у тканинах бджіл II, III та IV дослідних груп може бути пов'язано, по-перше, з вуглеводним живленням ізольованих бджіл, де субстратом виступає концентрований (50 %) розчин цукрози ($C_{12}H_{22}O_{11}+H_2O$); по-друге, з особливостями роздільного і поєднаного біологічного впливу іонів Co і Ni у вигляді цитратних сполук. Певне значення тут може виявляти регуляторна роль цих сполук у процесах гліколізу і глюконеогенезу, зокрема це стосується й тих випадків, коли інтенсивно *de novo* проходить глюконео-

генез в організмі бджіл. Доведено, що у печінці ссавців, продукт гексозомонофосфатного шляху (ГМФ) — ксилулозо-5-фосфат (К-5-Ф) є ключовим регулятором метаболізму вуглеводів і ліпідів та сприяє посиленню гліколізу за умов надходження до організму великої кількості вуглеводів. Активація гліколізу сприяє синтезу ацетил-CoA, тоді як зростання потоку гексози через гексозомонофосфатний шлях призводить до утворення НАДФН. Ацетил-CoA і НАДФН є вихідними метаболітами у синтезі жирних кислот (ЖК), концентрація яких, як відомо, суттєво зростає внаслідок підвищеного надходження вуглеводів. Ксилулозо-5-фосфат, крім цього, стимулює синтез усіх ензимів, які необхідні для утворення жирних кислот.

Таким чином, як роздільне застосування борошна сої та Co і Ni цитратів, так і їх поєднання зумовлює виражений вплив на ліпідний обмін в організмі бджіл з вираженими відмінностями біологічної дії застосованих доз Co і Ni цитрату.

Висновки

1. Комплексна підгодівля бджіл з додаванням до 25 г борошна сої 25 мл (50 %) цукрового сиропу і цитратів Co та Ni на першому етапі досліджень зумовлює вірогідне ($P<0,05$ – $0,02$; $P<0,01$) зростання у зразках тканин організму бджіл III, IV та V дослідних груп вмісту фосfolіпідів, моно- та диацилгліцеролів у II;

III та IV та етерифікованого холестеролу лише в II і III групах на тлі вірогідного ($P < 0,001$) зниження вмісту триацилгліцеролів у II; III; IV і V дослідних групах.

Роздільне внесення цитратів Co (CoHЦ) і Ni (NiHЦ) в дозах 2 і 1 мг до 25 мл (50 %) цукрового сиропу бджолам III та IV дослідних груп і поєднане — 2 мг Co + 1 мг Ni (CoHЦ + NiHЦ) у V групі без борошна сої зумовлює спрямовані вірогідні ($P < 0,02$ – $0,01$; $P < 0,001$) різниці зі зростанням у тканинах організму бджіл вмісту фосфоліпідів і моно- та диацилгліцеролів на тлі зниження ($P < 0,001$) вмісту триацилгліцеролів (аналогічно до першого етапу) на тлі зростання ($P < 0,05$) їх рівня лише у тканинах бджіл V групи, а також вільного холестеролу лише у III та IV ($P < 0,05$ – $0,01$) та його зниження у зразках тканин бджіл V групи ($P < 0,001$) зі зростанням ($P < 0,01$) вмісту НЕЖК у тканинах бджіл II; III і IV дослідних груп порівняно з їхнім вмістом у зразках тканин бджіл контрольної (I) групи.

Враховуючи зміни ліпідного складу тканин бджіл, можна застосовувати як комплексну підгодівлю борошном сої та Co і Ni цитратів, так і роздільне використання цих елементів живлення залежно від рівня їх забезпечення в окремі сезони року і наявної кормової бази бджіл.

Перспективи подальших досліджень.

З'ясувати вплив окремих антипоживних компонентів соєвих бобів і цитратів Co та Ni на метаболізм макро- і мікроелементів в організмі бджіл. Вивчити життєздатність бджіл дослідних груп бджіл у ентомофільних садках за дії різних поєднань борошна сої, Co і Ni цитратів.

1. Brodschneider R., Crailsheim K. Nutrition and health in honey bees. *Journal of Apidologie*, 2010, vol. 41, issue 3, pp. 278–294. DOI: 10.1051/apido/2010012.

2. Eskov E. K. *Ecology of the honeybee*. Moscow, Rosagropromizdat, 1991, pp. 200–268. (in Russian)

3. Eskov E. K., Yaroshevich G. S., Eskova M. D. Accumulation of heavy metals in the body of bees. *Journal of Beekeeping*, 2008, no. 2, pp. 14–16. (in Russian)

4. Fedoruk R. S. Lipids of bees tissues and the biological value of honey for making soy flour and citrus soybean meal in the spring period in sugar syrup and the Co and Ni citrates in the spring spring period. Scientific and technical bulletin of state scientific research control institute of veterinary medical products and fodder additives and Institute of Animal Biology, Lviv, 2015, no. 2, pp. 55–61. (in Ukrainian)

5. Folch J. A., Lees M., Sloane Stanley G. H. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissue. *Journal of Biological Chemistry*, 1957, vol. 226, no. 1, pp. 497–509.

6. Hartfelder K., Bitondi M., Brent C. S., Guidugli-Lazzarini K. R., Simoes Z. L., Stabeniner A. Physiology and biochemistry of honey bees. *Journal of Apicultural Research*, 2013, pp. 504–508.

7. Grigoryan G. A. The influence of cobalt on bees. *Beekeeping*, 1969, no. 12, pp. 19–22. (in Russian)

8. Kosinov M. V., Kaplunenko V. H. Ukrainian patent for utility model number 38391. IPC (2006). Method metal carboxylates “Nanotechnology receiving metal carboxylates”. Publish. 12.01.2009, Bull. no. 1, 4 p. (in Ukrainian)

9. Kovalchuk I. I. Heavy metals and lipids of tissues and bees production in the conditions of traditional and organic beekeeping and ways of correction of their levels. Autoref. of dis. doc. vet. scien., Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies named after S. Z. Gzhytsky, Lviv, 2015, 40 p. (in Ukrainian)

10. Kovalchuk I. I. Mineral elements in the body of honey bees for feeding selenium citrate. *Scientific Messenger of LNUVMB named after S. Z. Gzhytsky*, 2012, no. 21, pp. 239–243. (in Ukrainian)

11. Kovalsky Yu. V., Kyryliv Ya. I. Technology of production of beekeeping products, Lviv, 2011, pp. 83–92. (in Ukrainian)

12. Kovalsky Yu. V. Physiological and biochemical and productive displays of Carpathian bees for the diet of the alimentary factors. Autoref. of PhD thesis in biol. sci., Institute of Animal Biology NAAS, Lviv, 2005, 16 p. (in Ukrainian)

13. Oberlis D., Harland B., Skalniy A. *Biological role of macro and microelements in humans and animals*. Saint Petersburg, Science, 2008, 542 p. (in Russian)

14. Petibskaya V. S. Biochemistry of soybean. *Scientific Messenger of VNIIMK*, Krasnodar, 2005, pp. 80–135. (in Russian)

15. Pshenichnaya E. A., Sonitsyn V. M. Influence of BAS on the content of some chemical elements in the body of bees and honey. *Journal of Beekeeping*, 2011, no. 5, pp. 15–18. (in Russian)

16. Sadovnikova E. F. Application of protein-mineral additives in bee feeding. *Scientific notes of the educational institution “Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine”*, 2012, vol. 48, no. 2, pp. 143–145. (in Russian)

17. Taranov G. F. Carbohydrate, protein and mineral fertilizers for bees. *Journal of Beekeeping*, 1986, pp. 10–14. (in Russian)

18. Tyshchenko V. P. *Physiology of insects*. Moscow, Higher school, 1986, pp. 54–56. (in Russian)

19. Vlizlo V. V., Fedoruk R. S., Ratych I. B. *Laboratory methods of research in biology, animal husbandry and veterinary medicine*. Lviv, Spolom, 2012, 764 p. (in Ukrainian)