

## АНОТАЦІЯ

*Караван В.В.* «Вплив дієти на біомаркери стресу у *Apis mellifera*». – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 – Біологія. – Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича МОН України, Чернівці, 2024 рік

Дисертація присвячена дослідженню впливу підгодівлі та температури утримання на метаболічні показники стресу у бджоли медоносної.

У *Вступі* висвітлені загальні характеристики роботи, мета, поставлені завдання, актуальність виконаного дослідження, його об'єкт та предмет. Вказано особистий внесок здобувача у роботу та матеріали, які засвідчують апробацію отриманих результатів. Закінчується цей розділ відомостями про кількість опублікованих наукових праць за тематикою досліджень та зв'язок теми дисертації з науковою тематикою кафедри.

*Перший розділ* присвячений огляду наукової літератури за тематикою роботи. Тут описано стресові фактори різної природи, які впливають на медоносних бджіл, виділено основні стресори, які можуть негативно позначатись на виживаності цих комах. Описано також температурний та оксидативний стрес та їх вплив на біохімічні процеси в організмі медоносної бджоли. Зібрано інформацію про механізми відповіді на температурний та оксидативний стрес, зокрема про ферменти, задіяні у стресовій відповіді. Також цей розділ містить інформацію з літературних джерел про компоненти природного харчування бджіл та різноманітні штучні дієти, які застосовуються для підтримання життя бджолиних колоній за дії несприятливих факторів довкілля. З аналізу зібраної літератури зроблено висновок, що вплив дієт на виживаність та біохімічні маркери фізіологічного стану медоносної бджоли за різних температурних режимів утримання все ще залишаються недостатньо вивченими.

З огляду на вище сказане, *метою* даного дисертаційного дослідження було оцінити виживаність/смертність робочих бджіл, зміни біомаркерів стресу та механізми захисної відповіді у *Apis mellifera* при споживанні різних дієт.

Для досягнення мети були поставлені наступні *завдання*:

1. Визначити вплив літньої підгодівлі різними варіантами вуглеводної дієти на активність антиоксидантних ферментів в умовах польового експерименту.

2. Оцінити вплив підгодівлі пилком, пергою та сумішшю амінокислот на виживаність/смертність робочих бджіл та біомаркери стресу в умовах лабораторного експерименту.

3. Розробити оригінальний дизайн експерименту, який забезпечує в лабораторії близькі до природніх умови існування бджоли медоносної та дає можливість контролювати склад та кількість спожитої їжі та температуру утримання.

4. Проаналізувати вплив вуглеводних дієт на біохімічні маркери стресу за різних температур утримання бджоли медоносної в умовах лабораторного експерименту.

*Об'єкт дослідження* – механізми пристосованості бджіл до умов довкілля.

*Предмет дослідження* – метаболізм бджоли медоносної за дії різних температурних режимів та харчових дієт.

*Методи дослідження* – під час виконання дисертаційної роботи були використані лабораторні методи досліджень, що описані в *Розділі 2*. Цей розділ присвячено опису дизайну експерименту, а також матеріалів та методів дослідження. Зокрема, представлено методики визначення активності ферментів (супероксиддисмутази, каталази, глутатіон-S-трансферази) та біохімічних показників, які відображають стан неферментативної ланки захисту організму (вміст ТБК-активних продуктів,

тіолових груп та карбонільних похідних білків). Наведено інформацію про статистичну обробку отриманих результатів.

*Розділ 3* містить результати дисертаційного дослідження, наукову новизну яких розкривають наступні положення:

1. Вперше встановлено, що в умовах польового експерименту літня підгодівля медоносних бджіл сахарозою викликала зростання, а підгодівля фруктозою та глюкозою - зниження активності каталази.

2. У медоносних бджіл інтенсивність перекисного окислення ліпідів у всіх частинах тіла є нижчою протягом зимівлі за температури 5 °С, ніж за 14 °С. При цьому за температури 5 °С відбувається зростання активності каталази у тканинах грудей.

3. Розроблено оригінальний дизайн експерименту, який забезпечує близькі до природних умови існування бджоли медоносної за лабораторних умов та дає можливість контролювати температуру утримання та склад і кількість спожитої їжі.

4. Показано, що споживання пилку верби, або перги верби та ріпаку зменшувало смертність робочих бджіл та супроводжувалось зростанням активності каталази, вмісту ТБК-активних продуктів та карбонільних груп білків в умовах лабораторного експерименту.

5. Продемонстровано, що досліджені вуглеводні дієти по-різному впливають на смертність бджіл за різних температур утримання. Споживання фруктози або сахарози підвищувало, а глюкози - знижувало виживаність робочих бджіл за 28 °С; при температурі утримання 14 °С найменша смертність спостерігалась при споживанні фруктози.

6. Охарактеризовано вплив вуглеводних дієт на біохімічні маркери стресу за різних температур утримання бджоли медоносної в умовах лабораторного експерименту. Зокрема показано, що споживання глюкози викликало зменшення, а фруктози або сахарози - збільшення перекисного окислення ліпідів.

7. Встановлено, що збільшення виживаності робочих бджіл за споживання певних дієт може бути пов'язано зі зростанням перекисного окислення ліпідів та карбонилування білків.

В ході практичного опрацювання методів та підходів здобувачем було отримано патенти на корисну модель низькотемпературного препарувального столика та клітки для тривалих досліджень кластеру бджіл в лабораторних умовах.

Отримані результати лабораторних досліджень можуть бути використані як практичні рекомендації для ведення бджільництва при несприятливій дії природних чинників на бджолу медоносну. Частина отриманих результатів впроваджено у селекційну роботу ГО «Асоціація виробників продуктів бджільництва «Буковинський бджоляр»».

Тематика дисертаційної роботи повністю відповідає науковій тематиці кафедри молекулярної генетики та біотехнології Чернівецького національного університету в рамках кафедральної теми: «Структурно-функціональна організація геному та механізми адаптації у еукаріот» (2021-2025; номер державної реєстрації 0121U111109) та держбюджетної теми «Генетичний поліморфізм, розповсюдженість та адаптаційні здатності українських порід медоносної бджоли» (2020-2022; номер державної реєстрації 0120U102119).

Дисертаційну роботу викладено на 132 сторінках машинописного тексту. Дисертація складається зі вступу, огляду наукової літератури, опису використаних матеріалів та методів досліджень, отриманих результатів та їх обговорення, висновків, списку використаних джерел літератури та додатків та містить 3 таблиці, 20 рисунків. Бібліографічний список складається з 202 літературних джерел.

**Ключові слова:** бджола медоносна (*Apis mellifera*), бджільництво, втрата колоній, стрес, дієти, смертність, підгодівля, цукровий сироп, перекиси ліпідів, окиснювальна модифікація протеїнів, карбонільні похідні,

SH-групи, супероксидисмутаза (SOD), каталаза (CAT), глутатіон-S-трансфераза (GST).

## ABSTRACT

*Karavan V.V. "Effects of diet on biomarkers of stress in *Apis mellifera*".*  
Manuscript.

Thesis for the degree of Doctor of Philosophy (PhD) in speciality 091 – Biology. – Yuriy Fedkovych Chernivtsi National University, Chernivtsi, 2024

The dissertation is focused on the study of the influence of feeding and housing temperature on metabolic indicators of stress in honey bees.

The *Introduction* highlights the general characteristics of the work, the purpose, the tasks, and the relevance of the research, its object and subject. It contains information on the author's personal contribution to the work and on the publication of results in scientific papers and on the approval of the dissertation at scientific forums. This section ends with information on the number of scientific publications and the connection between the topic of the dissertation and the scientific research of the department.

*The first chapter* is a review of scientific literature on the topic of the dissertation. Stress factors of various nature that affect honey bees are described here, the main stressors that have negative effect on the survival of these insects are highlighted. Temperature and oxidative stress and their influence on biochemical processes in the body of the honey bee are also described. Information was collected on the mechanisms of temperature and oxidative stress resistance, particularly on the enzymes involved in the stress response. Also, this section contains information from literature about the components of the natural diet of bees and various artificial diets that are used to support the survival of bee colonies under the influence of adverse environmental factors. From the analysis of the literature, it was concluded that the influence of diets on survival and biochemical

markers of the physiological state of the honey bee under different maintenance temperature still remain obscure.

In view of this, the *aim* of the dissertation research was to evaluate the survival/mortality of worker bees, changes in stress biomarkers and defense response mechanisms in *Apis mellifera* when consuming different diets.

To achieve the goal, the following *tasks* were set:

1. To determine the influence of summer top-feeding with different variants of a carbohydrate diet on the antioxidant enzymes activity in field experiment.
2. To evaluate the effect of feeding with pollen, beebread and a mixture of amino acids on the survival/mortality of worker bees and stress biomarkers in laboratory condition.
3. To develop an original experimental design that simulates the natural conditions for the honey bee in the laboratory and makes it possible to control the composition and amount of food consumed and the temperature of keeping.
4. To analyze the effect of carbohydrate diets on biochemical markers of stress at different temperatures of keeping honey bees in the conditions of a laboratory experiment.

The *object of research* is the mechanisms of adaptation of bees to environmental conditions.

The *subject of the study* is the metabolism of the honey bee under the influence of different temperature and food diets.

*Research methods:* The laboratory methods used in the dissertation research are presented in *Chapter 2*. The experimental design, as well as research materials and methods are described in this chapter: the methods of measurements of enzymes activities (superoxide dismutase, catalase, glutathione-S-transferase) and biochemical indicators reflecting the state of the non-enzymatic cell defense (the content of TBARS, thiol groups and carbonyl derivatives in proteins). Information on the statistical analyze of the obtained results is given.

*Chapter 3* contains the results of the dissertation research, the scientific novelty of which is revealed by the following provisions:

1. It was found for the first time that under the conditions of a field experiment, summer feeding of honey bees with sucrose caused increase, whereas feeding with fructose and glucose led to a decrease in catalase activity.

2. In honey bees, the intensity of lipid peroxidation in all parts of the body is lower during wintering at a temperature of 5 °C than at 14 °C. At the same time, at a temperature of 5 °C, there is an increase in the activity of catalase in the tissues of thorax.

3. An original design of the experiment was developed, which provides close to natural conditions for the keeping of the honey bees under laboratory conditions and provides an opportunity to control the temperature of keeping and the composition and amount of food consumed.

4. It was shown that the consumption of willow pollen or willow and rapeseed beebread reduced the mortality of worker bees, which was accompanied by an increase in the activity of catalase, the content of TBARS and carbonyl groups of proteins in the conditions of a laboratory experiment.

5. It has been demonstrated that the studied carbohydrate diets have different effects on the mortality of bees at different keeping temperatures. Consumption of fructose or sucrose increased, while consumption of glucose decreased survival of worker bees at 28 °C; at a keeping temperature of 14 °C, the lowest mortality was observed when consuming fructose.

6. The influence of carbohydrate diets on biochemical markers of stress at different temperatures of honey bees keeping in the conditions of a laboratory experiment is characterized.

In the course of practical development of methods and approaches, patents were obtained for a useful model of a low-temperature dissection table and a cage for long-term studies of a cluster of bees in laboratory conditions.

The obtained results of laboratory studies can be used as practical recommendations for beekeeping in case of negative effects of environmental on the honey bee. The obtained results were partially implemented in the breeding

process of the NGO «Beekeepers' Union of Ukraine» and «Association of beekeeping products producers «Bukovynsky beekeeper»».

The topic of the dissertation fully corresponds to the research area of the Department of Molecular Genetics and Biotechnology of Chernivtsi National University within the framework of the project: «Structural-functional organization of the genome and mechanisms of adaptation in eukaryotes» (2021-2025; state registration number 0121U111109) and the state budget grant «Genetic polymorphism, distribution and adaptive abilities of Ukrainian honey bee breeds» (2020-2022; state registration number 0120U102119).

The thesis is presented on 132 pages of typewritten text. It consists of the introduction, the literature review, the description of research materials and methods, the results of own research and their discussion, the conclusions, the list of references. The work contains 3 tables and 20 figures. The references consist of 202 literature sources.

**Key words:** honey bee (*Apis mellifera*), beekeeping, colony loss, stress, diets, mortality, feeding, sugar syrup, lipid peroxides, oxidative modification of proteins, carbonyl derivatives, SH-groups, superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione-S-transferase (GST).

### **Список публікацій здобувач за темою дисертації**

*Статті у періодичних наукових виданнях, проіндексованих у базах даних Web of Science Core Collection та Scopus*

1. Yazlovytska L.S., **Karavan V.V.**, Domaciuk M., Panchuk I.I., Borsuk G. and Volkov R.A. Increased survival of honey bees consuming pollen and beebread is associated with elevated biomarkers of oxidative stress. *Frontiers in Ecology and Evolution*. 2023, 11:1098350.

*Статті у фахових наукових виданнях України:*

1. **Караван В.В.**, Качмарик Д.Ю., Череватов В.Ф., Панчук І.І., Язловицька Л.С. (2020) Вплив літньої підгодівлі вуглеводами на активність



каталази у медоносних бджіл. *Науковий вісник Чернівецького університету. Біологія (Біологічні системи)*, 12 (2). 156-165

2. **Караван В. В.**, Качмарик Д. Ю., Череватов В. Ф., Язловицька Л. С. (2021) Вплив температури зимівлі на стан антиоксидантої системи *Apis mellifera* L. *Науковий журнал Біологія тварин*, 23 (4): 32–42.

3. **Караван В.В.**, Язловицька Л.С., Череватов В.Ф., Панчук І.І. (2022) Біомаркери оксидативного стресу у *Apis mellifera* за різних вуглеводних дієт. *Науковий вісник Чернівецького університету. Біологія (Біологічні системи)*, 14(2), 129-136.

4. **Караван В. В.**, Царук В. І., Череватов В. Ф., Язловицька Л. С. (2018) Глутатіон-S-Трансферазна активність бджіл-фуражирів *Apis mellifera* L. при літній підгодівлі певними углеводними дієтами. *Науковий вісник Чернівецького університету. Біологія (Біологічні системи)*, 10 (1). 20-28

*Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації*

1. **Караван В.**, Царук В., Язловицька Л. Вплив різної вуглеводної дієти на рівень ТБК-активних продуктів у *apis mellifera* L осінньої генерації. *Біологічні, медичні та науково-педагогічні аспекти здоров'я людини*. Матеріали Міжнародної науково-практичної конференції. Полтава: Астроя, 2018. С45-47.

2. Царук В., **Караван В.**, Язловицька Л. Рівень ТБК-активних продуктів у *Apis mellifera* L. за дії різної вуглеводної дієти. *Шевченківська весна: досягнення біологічної науки. BioScienceAdvances: збірник тез XVI Міжнародної наукової конференції студентів та молодих вчених (м. Київ, 24-27 квітня 2018 р.)* -Київ: ПАЛИВОДА А.В., 2018. – С.182-183

3. **Караван В.**, Качмарик Д., Язловицька Л., Панчук І. Рівень TBARS у *Apis mellifera* L. під комбінованим впливом температури та харчового стресу. Стале бджільництво в Україні. I Міжнародна науково-практична конференція 6-8 листопада 2019р. Збірник матеріалів конференції, Чернівці, 2019. С.15-17

4. Boruk O., **Caravan V.**, Yazlovitska L. The activity of glutathione s-transferase in bee workers *apis mellifera* under the conditions of carbohydrate diets of various compositions. Шевченківська весна: досягнення біологічної науки. BioScience Advances»: збірник тез XVII Міжнародної наукової конференції студентів та молодих вчених (м. Київ, 23-25 квітня 2019 р.)– Київ: СПОЛОМ, 2019. С.72-74

5. **Karavan V.**, Kachmaryk D., Yazlovytska L., Panchuk I. Glutathione-S-transferase activity and TBARS level in *Apis mellifera* L. under the combined effects of temperature and nutritional stress. e-COLOSS Conference 12-13 Oct. 2020

6. **Karavan V.**, Gordey T., Yazlovytska L., Panchuk I. Combined effects of temperature and nutritional stress on TBARS level in *apis mellifera*. e-COLOSS Asia, Japan, Okinawa, 25-26 march, 2021

7. Язловицька Л.С., Качмарик Д.Ю., **Караван В.В.**, Паламар О.В., Кравчук В.І., Панчук І.І. Оцінка окисно-відновного стану медоносної бджоли в умовах підгодівлі полімінеральним препаратом «Апіплазма». *Добробут тварин в умовах глобальних змін клімату: Матеріали 2-ї міжнародної науково-практичної конференції* (м. Дніпро, 21-22 квітня 2021). С.78–79.

8. Yazlovytska L., Tymochko L., Savchuk G., **Karavan V.**, Kachmaryk D., Kravchuk V., Panchuk I. The effect of Drug «Ariplasma» on the adaptation potential of *A. mellifera* L. under the combined effects of food and temperature stress. *18th COLOSS eConference*, 2-3 November 2022.

9. Язловицька Л., Паламар О., **Караван В.**, Кравчук В., Панчук І. Оцінка зимостійкості колоній медоносних бджіл *Apis mellifera* L за дії препарату «Апіплазма». Сучасне бджільництво: проблеми – досвід – нові технології: матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю (м. Київ, 18 серпня 2022). С.81-85

10. Язловицька Л.С., Сачко А.В., Караван В.В., Кравчук В.І. Вміст окремих біометалів у організмі медоносних бджіл після зимівлі на кормах з додаванням препарату «АППЛАЗМА». *Бджільництво України: виклики військового часу та*

*міжнародний досвід*: матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю (м. Київ, 18 серпня 2023). С. 42-45.

11. Рильська Я.С., **Караван В.В.** Активність ферменту GST *Apis Mellifera* за впливу вуглеводних дієт та температурного стресу. VI Міжнародна спеціалізована наукова конференція «*Науковий простір: актуальні питання, досягнення та інновації*» (м. Київ, 15 грудня 2023). С. 305-307.

### **Патенти на корисну модель**

1. Клітка для дослідження бджіл в лабораторних умовах: пат. 128495 Україна: МПК А01К 53/00. № у 201801800; заявл. 22.02.2018; опубл. 25.09.2018, Бюл. №18.

<https://base.uipv.org/searchINV/search.php?action=viewdetails&IdClaim=251150>

2. Клітка для тривалих досліджень кластеру бджіл в лабораторних умовах: пат. 142698 Україна: МПК А01К 47/00. № у 201911643; заявл. 04.12.2019; опубл. 25.06.2020, Бюл. № 12.

<https://base.uipv.org/searchINV/search.php?action=viewdetails&IdClaim=269198>

3. Низькотемпературний препарувальний столик: пат. 152482 Україна: МПК В01L 9/02, А47В 37/00. № у 202201458; заявл. 03.05.22; опубл. 08.02.2023, Бюл. № 6.

<https://base.uipv.org/searchINV/search.php?action=viewdetails&IdClaim=284185>