



## Динаміка біохімічних показників у тканинах та гемолімфі бджіл під впливом цитрату германію та *Lactobacillus casei*

I. I. Ковальчук<sup>1,2\*</sup>, Т. М. Химинець<sup>2</sup>, Р. Л. Андрошулік<sup>1</sup>, М. М. Романович<sup>1</sup>  
irena.kovalchuk@ukr.net

<sup>1</sup>Інститут біології тварин НААН, вул. В. Стуса, 38, м. Львів, 79034, Україна

<sup>2</sup>Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. Ґжицького, вул. Пекарська, 50, м. Львів, 79010, Україна



### ORCID:

I. Kovalchuk <https://orcid.org/0000-0001-9932-6315>  
T. Khymynets <https://orcid.org/0009-0001-3173-7318>  
R. Androshulik <https://orcid.org/0000-0002-1452-6164>  
M. Romanovych <https://orcid.org/0000-0003-3068-1452>

### Authors' Contributions:

**KII:** Conceptualization; Project administration; Supervision; Investigation; Formal analysis; Writing — review & editing.

**KTM:** Investigation; Writing — original draft.

**ARL:** Data curation.

**RMM:** Methodology; Visualization.

### Declaration of Conflict of Interests:

None.

### Ethical approval:

Not applicable.

### Acknowledgements:

We express our gratitude to the staff of the Department of Interferon and Immunomodulators of the D. K. Zabolotny Institute of Microbiology and Virology NAS of Ukraine for the material provided for the study.



Attribution 4.0 International  
(CC BY 4.0)

Досліджено вплив застосування мінерального елемента Ge в поєднанні з пробіотичним препаратом класу *L. casei* для підгодівлі бджіл за умов лабораторного термостату. Визначено показники перекисного окиснення ліпідів, вміст загальних ліпідів і їх класів, вміст загального білка тканин організму та фракцій розчинних протеїнів гемолімфи. Встановлено збільшення відносного вмісту фосфоліпідів, (D1 і D2 групи), на тлі зниження етерифікованого холестеролу (D1), НЕЖК (D1 і D2 групи), порівняно з контролем, що свідчить про біологічну дію цитрату Ge у D1 групі та пробіотика *L. casei* у D2 групі на обмін ліпідів. У бджіл, яким згодували цитрат Ge і пробіотик *L. casei*, виявлено водорозчинні фракції білків гемолімфи:  $\gamma$ -глобуліни,  $\beta$ -глобуліни,  $\alpha 2$ -глобуліни,  $\alpha 1$ -глобуліни. Варто зазначити, що фракції альбумінів не виявлено. Біологічний вплив нанотехнологічного цитрату германію та пробіотика *Lactobacillus casei* у бджіл дослідних груп, порівняно з контролем, проявлявся зниженням інтенсивності процесів ліпідної пероксидації (гідроперекисів ліпідів, малонового діальдегіду). Такий ефект відзначено у групі D1 під дією цитрату Ge та у групі D2 під дією розчину пробіотика *L. casei*. Отримані результати порівняльного застосування цитрату Ge в дозі 0,1 мкг/мл та  $10^6$  КУО/мл *L. casei* В-7280 у підгодівлі бджіл за умов лабораторного термостату вказують на стимулювальний вплив як на ліпідний склад організму бджіл, так і на процеси пероксидного окиснення ліпідів, а також на те, що співвідношення білкових фракцій гемолімфи водночас суттєво не змінюється.

**Ключові слова:** бджоли, організм, гемолімфа, цитрат германію, пробіотик, ліпіди, білки, продукти пероксидного окиснення ліпідів

## Вступ

Оксидативний стрес — це патологічний стан, що виникає внаслідок дисбалансу між інтенсивним утворенням активних форм кисню та іншими вільними радикалами і здатністю антиоксидантних систем організму ефективно їх нейтралізувати. Це, своєю чергою, зумовлює порушення обмінних процесів клітини та структурно-функціональної цілісності її мембран і білкових комплексів. Вказані зміни супроводжуються дисбалан-

сом ферментативних і неферментативних компонентів системи антиоксидантного захисту. За фізіологічних умов інтенсивність процесів перекисного окиснення ліпідів залишається низькою завдяки підтриманню рівноваги між прооксидантними й антиоксидантними механізмами, що є ключовим чинником збереження гомеостазу організму. Такий дисбаланс лежить в основі розвитку оксидативного стресу, який проявляється накопиченням у тканинах і біологічних рідинах активних форм кисню та вторинних продуктів окиснювальної

модифікації біомолекул різних класів (білків, ліпідів, нуклеїнових кислот). Для нейтралізації дії вільних радикалів застосовують сполуки, які належать до різних груп біологічно активних речовин, об'єднаних загальним терміном «антиоксиданти». Експериментальна та клінічна медицина накопичила значний досвід розроблення й використання антиоксидантних біологічно активних речовин при різних патологічних станах [26].

Для профілактики захворюваності бджіл у дослідженнях застосовують фізіологічного обґрунтовані для використання пробіотики, що володіють антибактеріальними й антифунгіальними властивостями широкого спектру дії проти патогенних та умовно патогенних мікроорганізмів [21, 22].

Структура кишкової бактеріальної мікрофлори бджіл впливає на їхній фізіологічний ріст, розвиток і розмноження, посилення імунної відповіді та резистентності до дії різних патогенів [2, 22]. *L. casei* як пробіотик характеризується терапевтичною дією за різних експериментальних дослідних моделей [7, 21, 23]. Цей пробіотик пов'язаний з нормалізацією кишкової бактеріальної мікрофлори та чинить як пряму дію на патогенні та умовно патогенні мікроорганізми, так і непряму — активуючи специфічні й неспецифічні захисні системи організму [7, 21].

Життєздатність бджолиного організму значною мірою визначає рівень мінерального живлення, яке впливає на перебіг обмінних процесів на рівні тканин, органів і функціональних систем [5, 22]. Мінеральні елементи, активуючи ферментні системи, беруть участь у білковому, ліпідному й вуглеводному обміні. Аналіз літературних даних свідчать про можливість застосування біотичних мікроелементів, виготовлених методом нанотехнології, як високоактивних сполук у тваринництві та ветеринарній медицині [1, 5, 20].

Окремі елементи, як-от метаболічні стимулятори органічного й неорганічного походження в різних дозах, можуть впливати на корекцію фізіологічних і біохімічних процесів, що підвищують їхню продуктивність та резистентність [10, 20, 34]. Дослідження з використання цитратів окремих мікроелементів Co, Ge, Se, Cr, Ni та пробіотиків дають теоретичну основу для розроблення нових нано- і біотехнологічних засобів і препаратів, що впливають на підвищення резистентності й розмноження бджіл [21, 30]. З'ясовано вплив різних кількостей мінеральних і органічних сполук, одержаних на основі нанотехнологічних цитратів, на обмінні процеси організму бджіл [14, 17, 19, 21]. Встановлено вищу біологічну ефективність додавання нанокарбоксилатів біотичних елементів, аніж мінеральних солей, у підгодівлі бджіл [21]. Проте на сьогодні не вивчено біологічну дію новосинтезованого нанотехнологічного мінерального елемента Ge в поєднанні з пробіотичним препаратом класу *L. casei* B-7280.

Отже, метою дослідження було вивчення впливу цитрату Ge в поєднанні з пробіотичним препаратом класу *L. casei* на ліпідний, білковий склад і пероксидне окиснення ліпідів в організмі бджіл.

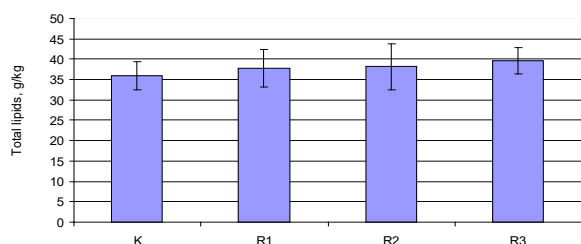
## Матеріали та методи

Дослідження виконано в умовах лабораторного термостату на трьох бджолиних сім'ях, аналогах за масою, силою сім'ї, віком матки, з яких відібрано по 50–60 бджіл і сформовано три групи. Бджоли контрольної та дослідних груп утримували в садках-контейнерах об'ємом 4 дм<sup>3</sup> в аналогічних умовах лабораторного термостата ТС-80М-3 з мікровентиляцією за температури 30 °С, вологості 74–76 % упродовж дослідження. Після завершення дослідного періоду відібрано бджіл для проведення фізіолого-біохімічних досліджень.

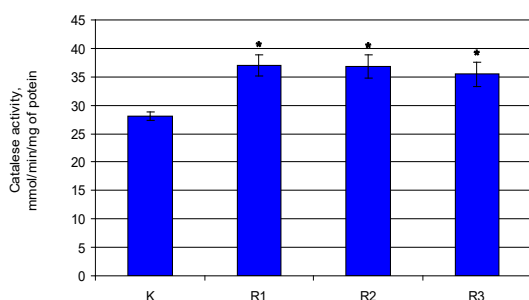
У дослідженнях використовували ліофілізований пробіотичний штам *Lactobacillus casei* IMV B-7280 (*L. casei*), виділений у відділі проблем інтерферону й імуномодуляторів з асоційованої культури біологічного матеріалу та депонований в Українській колекції мікроорганізмів Інституту мікробіології та вірусології імені Д. К. Заболотного НАН України, і Ge у вигляді нанотехнологічного цитрату (НТЦ) [17].

Бджоли контрольної (К) групи отримували підгодівлю з 60 % цукрового сиропу (ЦС) в кількості 1 мл/групу/добу. Перша дослідна група (Д1) до 1 мл ЦС додатково отримувала 0,1 мкг Ge у вигляді цитрату що три доби. Дослідна група (Д2) до 1 мл ЦС додатково отримувала розчин пробіотика *L. casei* в концентрації 10<sup>8</sup> КУО/мл що три доби. Третя дослідна група (Д3) до 1 мл ЦС додатково отримувала 0,1 мкг Ge і пробіотик *L. casei* в концентрації 10<sup>8</sup> КУО/мл що три доби.

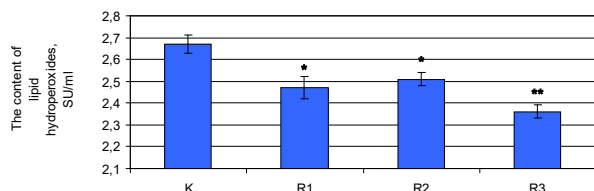
Для визначення загальних ліпідів 1 г гомогенату тканин організму бджіл екстрагували 20 см<sup>3</sup> суміші хлороформ–метанол у співвідношенні 2:1 (об/об) за методом Фолча [11]. Ліпідні екстракти випарювали насухо, а потім зважували на аналітичних вагах і вихаровували в г/кг. Розділяли ліпіди на класи методом тонкошарової хроматографії на силікагелі (*Chemapol*, Чехія), як рухому фазу використовували гексан–діетиловий ефір–льодяна оцтова кислота 70 : 30 : 1 (об/об/об) [16]. Пластини проявляли в парах кристалічного йоду. Ідентифікували ліпіди за величинами R<sub>f</sub>. Кількісний аналіз і підрахунок вмісту окремих класів ліпідів здійснювали комп'ютерною обробкою фореграм з використанням програмного забезпечення *TotalLab TL120 (Nonlinear Dynamics Limited, Великобританія)* і виражали у відсотках від загальної кількості. Вміст загального білка в організмі бджіл проводили за методом К'ельдаля [31]. Активність каталази визначали за допомогою здатності гідрогенпероксиду утворювати із солями молібдену стійкий кольоровий комплекс, інтенсивність якого визначали на спектрофотометрі (*Unico*, США) за довжини хвилі 410 нм проти води [29]. Концентрацію ТБК-активних продуктів у гомогенатах тканин проводили за допомогою кольорової реакції малонового діальдегіду (МДА) з тіобарбітуровою кислотою. Визначення вмісту гідроперекисів ліпідів у біологічному матеріалі досягали осадженням білків розчином трихлороцтової кислоти й екстракцією ліпі-



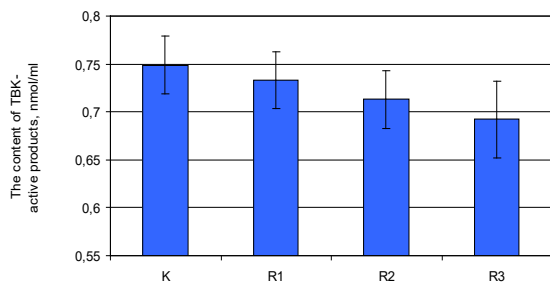
**Рис. 1.** Загальний вміст ліпідів у гомогенатах тканин тіла бджіл. К — контрольна група, Д1 — перша дослідна група, Д2 — друга дослідна група, Д3 — третя дослідна група ( $M \pm m$ ,  $n=5$ )  
**Fig. 1.** Total lipids content in bee body tissues homogenates. K — control group, R1 — first experimental group, R2 — second experimental group, R3 — third experimental group ( $M \pm SE$ ,  $n=5$ )



**Рис. 2.** Активність каталази в гомогенатах тканин тіла бджоли. К — контрольна група, Д1 — перша дослідна група, Д2 — друга дослідна група, Д3 — третя дослідна група ( $M \pm m$ ,  $n=3$ )  
**Fig. 2.** Catalase activity in bee body tissues homogenates. K — control group, R1 — first experimental group, R2 — second experimental group, R3 — third experimental group ( $M \pm SE$ ,  $n=3$ )



**Рис. 3.** Вміст гідропероксидів ліпідів у гомогенатах тканин тіла бджіл. К — контрольна група, Д1 — перша дослідна група, Д2 — друга дослідна група, Д3 — третя дослідна група ( $M \pm m$ ,  $n=3$ )  
**Fig. 3.** Content of lipid hydroperoxides in homogenates of bee body tissues. K — control group, R1 — first experimental group, R2 — second experimental group, R3 — third experimental group ( $M \pm SE$ ,  $n=3$ )



**Рис. 4.** Вміст ТВК-активних продуктів у гомогенатах тканин бджіл. К — контрольна група, Д1 — перша дослідна група, Д2 — друга дослідна група, Д3 — третя дослідна група ( $M \pm m$ ,  $n=3$ )  
**Fig. 4.** Content of TBK-active products in homogenates of bee body tissues. K — control group, R1 — first experimental group, R2 — second experimental group, R3 — third experimental group ( $M \pm SE$ ,  $n=3$ )

дів етанолом з наступною взаємодією досліджуваних екстрактів з тiocіанатом амонію [29].

Усі отримані цифрові дані опрацьовано за допомогою комп'ютерної програми *Statistica* з використанням методу варіаційної статистики [25]. Числові дані представлено як середнє арифметичне ( $M$ ) та стандартна помилка ( $\pm m$ ). Відмінності між групами вважали статистично значущими при  $P < 0.05$ .

## Результати

Аналіз результатів вмісту загальних ліпідів у гомогенатах тканин організму бджіл і співвідношення їх класів вказує на деякі зміни цих показників у дослідний період, що більше виражені у групах Д1 та Д2. Зокрема, у тканинах бджіл груп Д1 і Д2, порівняно з контролем, встановлено збільшення відносного вмісту фосфоліпідів на 27,11 % та на 22,8 % ( $P < 0,01$ ), на тлі зменшення НЕЖК на 33,13 % ( $P < 0,01$ ) і 43,71 % ( $P < 0,001$ ), а також зменшення етерифікованого холестеролу на 19,64 % ( $P < 0,01$ ) (рис. 1, табл. 1).

Встановлені між групами відмінності співвідношення класів ліпідів у тканинах бджіл вказують на більшу метаболічну активність цитрату Ge та *L. casei* у застосованих дозах. Достовірні відмінності у співвідношенні класів ліпідів, виявлені у тканинах бджіл контрольної групи, порівняно з дослідним періодом, можуть бути зумовлені впливом сезонного фактора, що характеризується інтенсивним нагромадженням ліпідів у жировому тілі цих комах.

Білки є лабільною системою, яка відображає функціональний стан організму та реагує на зміни, що відбуваються під впливом внутрішніх і зовнішніх чинників. Найбільший відсоток встановлено для  $\beta$ -глобулінів (71,65–72,33 %), потім  $\gamma$ -глобулінів (10,97–11,67 %),  $\alpha 2$ -глобулінів (8,71–9,44 %) та  $\alpha 1$ -глобулінів (7,45–7,93 %) відповідно. Аналіз біохімічних показників гемолімфи свідчить про відсутність достовірних змін у співвідношенні білкових фракцій у бджіл дослідних груп за умов підгодівлі цитратом Ge та розчином пробіотика *L. casei* у всіх дослідних групах, порівняно з контрольною (табл. 2).

Змін вмісту загального білка в гомогенатах тканин організму бджіл не було відзначено, що може вказувати на відсутність суттєвого впливу цитрату Ge та *L. casei* на концентрацію протеїнів у тканинах бджіл (табл. 3).

Водночас встановлено збільшення каталазної активності тканин організму у бджіл всіх дослідних груп, порівняно з контрольною групою: у Д1 — на 31,53 %, у Д2 — на 30,82 %, у Д3 — на 30,82 % ( $P < 0.05$ ) (рис. 2).

Вміст продуктів перекисного окиснення ліпідів був нижчим у всіх дослідних групах (рис. 3, 4). Вміст ГПЛ знижувався у Д1 на 7,49 % і у Д2 — на 5,99 % ( $P < 0.05$ ), а в Д3 — на 11,61 % ( $P < 0.01$ ), порівняно з контрольною групою.

**Таблиця 1.** Фракційний склад загальних ліпідів в організмі бджіл, % (M±m, n=5)**Table 1.** Fractional composition of total lipids in bee body, % (M±SE, n=5)

Класи ліпідів / Lipid classes	Контрольна Control	Дослідні групи / Research groups		
		Д1 / R1	Д2 / R2	Д3 / R3
Фосфоліпіди Phospholipids	28,25±1,8	35,91±0,77**	34,69±1,87**	30,33±0,66
Моно- і диацилгліцероли Mono- and triacylglycerols (MG/DG)	10,02±0,81	11,53±0,66	9,27±0,74	8,75±0,98
Вільний холестерол Free cholesterol	11,95±1,07	12,81±0,94	14,06±0,48	11,26±1,33
Неетерифіковані жирні кислоти (НЕЖК) Non-esterified fatty acids (NEFA)	13,04±0,71	8,72±0,73**	7,34±0,33***	10,38±1,38
Триацилгліцероли Triacylglycerols	10,66±0,73	10,08±0,66	10,53±0,91	11,46±0,87
Етерифікований холестерол Esterified cholesterol	26,07±0,89	20,95±0,53**	24,11±3,58	27,82±0,26

Примітка. У цій таблиці та на рисунках \* — P<0,05, \*\* — P<0,01, \*\*\* — P<0,001 — достовірні відмінності між контрольною та дослідними групами.

Note. In this table and the figures \* — P<0.05, \*\* — P<0.01, \*\*\* — P<0.001 — significant differences between control and experimental groups.

**Таблиця 2.** Відносний вміст розчинних білкових фракцій у гемолімфі бджоли, % (M±m, n=5)**Table 2.** Relative content of soluble protein fractions in bee hemolymph, % (M±SE, n=5)

Protein fractions / Білкові фракції	Контрольна Control	Дослідні групи / Research groups		
		Д1 / R1	Д2 / R2	Д3 / R3
γ-глобуліни / γ-globulins	11,58±1,10	11,39±1,07	11,67±1,35	10,97±1,25
β-глобуліни / β-globulins	71,65±2,15	72,33±1,98	72,11±3,14	71,94±2,56
α2-глобуліни / α2-globulins	8,84±0,88	8,71±0,72	8,77±0,77	9,44±0,81
α1-глобуліни / α1-globulins	7,93±1,63	7,57±0,62	7,45±0,55	7,65±0,71
Альбуміни / Albumins	Не виявлено Not detected	Не виявлено Not detected	Не виявлено Not detected	Не виявлено Not detected

**Таблиця 3.** Загальний вміст білка у тканинах тіла бджоли, г% (M±m, n=3)**Table 3.** Total protein content in bee body tissues, g% (M±SE, n=3)

Група / Group	Дослідний період
К — цукровий сироп (ЦС) / С — sugar syrup (SS)	15,13±0,17
Д1 — ЦС + 0,1 мкг Ge що 3 доби / E1 — SS + 0.1 μg Ge every 3 days	15,27±0,62
Д2 — ЦС + <i>L. casei</i> , 10 <sup>6</sup> КУО/мл що 3 доби / E2 — SS + <i>L. casei</i> , 10 <sup>6</sup> CFU/mL every 3 days	14,58±0,42
Д3 — ЦС + 0,1 мкг Ge + <i>L. casei</i> , 10 <sup>6</sup> КУО/мл що 3 доби / E3 — SS + 0.1 μg Ge + <i>L. casei</i> , 10 <sup>6</sup> CFU/mL every 3 days	16,09±0,55

Дослідження вмісту ТБК-активних продуктів у тканинах організму бджіл вказують на відсутність достовірних змін за підготовки цитратом Ge і розчином пробіотика *L. casei* у всіх дослідних групах, порівняно з контрольною.

## Обговорення

Встановлено, що основна частка ліпідів в організмі медоносних бджіл надходить з травного каналу та депонується в жировому тілі. Хімічний склад цих ліпідів визначається як якісними характеристиками корму, так і фізіологічним станом організму [4].

Фосфоліпіди клітинних мембран необхідні для їх стабілізації, оскільки забезпечують агрегацію та конформацію окремих компонентів у складі ферментативних білкових комплексів, а також створюють

гідрофобне середовище, що формує безперервну мембранну структуру з характерними для неї властивостями [13]. Можливо, що фосфоліпіди дослідних груп краще синтезується в організмі бджіл за впливу цитрату Ge та *L. casei* для посилення функцій ліпідних мембран. Жирнокислотний склад фосфоліпідів клітинних мембран є визначальним чинником, що впливає на інтенсивність надходження поживних компонентів шляхом активного й пасивного транспортування в тканини бджіл, від чого залежить функціонування їхньої нервової, імунної та відтворної систем, а також перебіг процесів окиснення.

Одержані дані щодо зменшення вмісту неетерифікованих жирних кислот у ліпідах тканин бджіл дослідних груп вказують на активацію процесів ліполізу в організмі бджіл за дії цитрату Ge та *L. casei*, порівняно з контролем. Ліполіз виступає фізіологічним механізмом підтримання гомеостатичних концентрацій окре-

мих ліпідних компонентів, необхідних для аеробного клітинного дихання, а також забезпечує синтез поліненасичених жирних кислот, що компенсують енергетичні потреби тканин бджіл [30].

Зменшення вмісту етерифікованого холестеролу у тканинах бджіл першої дослідної групи може вказувати на вищу ліполітичну активність ензимів, що регулюють процес його етерифікації за дії цукрового сиропу та 0,1 мкг цитрату Ge і розчину пробіотику *L. casei* у концентрації  $10^6$  КУО/см<sup>3</sup> та відсутності такого впливу за сумісного використання цих добавок.

Білки відіграють провідну роль у метаболізмі організму, оскільки завдяки здатності утворювати біохімічні комплекси беруть активну участь у транспортуванні поживних і біологічно активних речовин (ферментів, гормонів, вітамінів, макро- і мікроелементів). Окрім цього, вони необхідні для росту й розвитку, синтезу ферментів і гормонів, а також реалізації захисних функцій організму. Одним з ключових показників білкового обміну є вміст загального білка та його фракцій. У гемолімфі дорослих бджіл рівень білка залишається відносно стабільним, тоді як його концентрація істотно змінюється, залежно від сезону: найвищі показники відзначають восени і взимку. Крім того, білковий склад гемолімфи варіює відповідно до фізіологічного стану, що пов'язаний із функціональною активністю бджіл [18].

Варто зазначити відсутність в гемолімфі бджіл як контрольної, так і дослідних груп фракції альбумінів, що відзначено в результатах інших дослідників [6, 11]. Водорозчинні фракції білків у плазмі крові хребетних складаються переважно з альбуміну й глобулінів, що їх відсоток може дати інформацію про клінічний стан організму, зокрема про гідратація, онкотичний тиск, запальні процеси. Встановлено, що в комах немає потреби в цьому білку для підтримання онкотичного тиску, оскільки ліпорозчинні гормони може транспортувати гемоціанін, а харчову функцію забезпечує розгалужена мережа кишкових дивертикулів, яка досягає всіх частин тіла [6, 11].

Аналіз результатів досліджень біологічної дії використаних добавок вказує на стимулювальний вплив як цитрату Ge, так і *L. casei* на каталазну активність тканин всього організму бджіл [15, 33]. У результаті аеробного дихання та окиснення субстратів у клітинах організму, що перебуває під впливом різних стресових чинників, посилюється утворення активних форм кисню [32]. Результати досліджень свідчать, що цитрат Ge сприяє виведенню токсичних сполук з організму та зменшенню негативного впливу чинників зовнішнього середовища. Він характеризується широким спектром біологічної активності, запобігає процесам старіння та загибелі клітин, відіграє важливу роль у формуванні резистентності організму й здатний здійснювати відновлювальний і профілактичний вплив щодо широкого кола патологічних станів [9].

Малоновий діальдегід є одним з кінцевих продуктів перекисного окиснення поліненасичених жир-

них кислот у клітинах і використовується як маркер окислювального стресу та антиоксидантного статусу організму. Надмірне утворення вільних радикалів спричиняє підвищене накопичення малонового діальдегіду [28]. Зниження активності антиоксидантної системи організму призводить до виражених патологічних змін, що супроводжуються ушкодженням субклітинних і клітинних мембран та активацією процесів перекисного окиснення ліпідів. Продукти перекисного окиснення ліпідів спричиняють порушення не лише ліпідних зв'язків у біомембранах, але й їх білкового компоненту — через взаємодію з амінінними групами, що спричиняє дестабілізацію білково-ліпідної взаємодії, змінює еластичність волокон та ініціює розвиток фібропластичних процесів [12, 27].

Отримані результати свідчать про виражену антиоксидантну активність цитрату германію та розчину пробіотику *L. casei* в організмі бджіл, що супроводжувалося зниженням вмісту гідроперекисів ліпідів і ТБК-активних продуктів у гомогенатах тканин медоносних бджіл дослідних груп, що корелюється з результатами, які наводять інші автори [3, 8, 24].

Отже, підгодівля бджіл цукровим сиром з додатковим введенням цитрату Ge в дозі 0,1 мкг/мл ЦС та  $10^6$  КУО/мл ЦС *L. casei* характеризувалася різницею розподілу окремих класів ліпідів у гомогенатах тканин організму зі зростанням відносного вмісту фосфоліпідів, (D1 і D2 групи), але зниженням етерифікованого холестеролу (D1), НЕЖК (D1 і D2 групи) стосовно контрольної групи, що свідчить про біологічний вплив НТЦ Ge у D1 групі та розчину пробіотику *L. casei* у D2 групі на обмін ліпідів. Біологічний вплив цитрату Ge і *L. casei* зумовлював у тканинах організму бджіл дослідних груп, порівняно з контрольною групою, зниження рівня процесів пероксидації ліпідів (ГПЛ, ТБК-активних продуктів) за дії цитрату Ge у D1 групі та розчину пробіотику *L. casei* у D2 групі.

## Джерела

1. Cho JM, Chae J, Jeong SR, Moon MJ, Shin DY, Lee JH. Immune activation of Bio-Germanium in a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial with 130 human subjects: Therapeutic opportunities from new insights. *PLoS ONE*. 2020; 15 (10). e0240358. DOI: 10.1371/journal.pone.0240358.
2. Daisley BA, Chmiel JA, Pitek AP, Thompson GJ, Reid G. Missing microbes in bees: How systematic depletion of key symbionts erodes immunity. *Trends Microbiol*. 2020; 28 (12): 1010–1021. DOI: 10.1016/j.tim.2020.06.006.
3. Dolaychuk OP, Fedoruk RS, Kovalchuk II, Kropyvka SY. Physiological and biochemical processes in the organisms of rats that were fed with different amounts of germanium citrate. *Biol Tvarin*. 2015; 17 (2): 50–56. DOI: 10.15407/animbiol17.02.050.
4. Dvylyuk I. Mineral and lipid composition the body of the honeybees organism and the biological value of honey in the summer-autumn period under the conditions of feeding honey bees by citrate-capped silver and copper nanoparticles. *Sci Mess LNUVMBT Ser Agr Sci*. 2018; 20 (89): 89–94. DOI: 10.32718/nvlvet8917. (in Ukrainian)
5. Dvylyuk II, Kovalchuk II. Reproductive ability of bee queens at the conditions of feeding citrates of Argentum and Cuprum. *Biol Tvarin*.

- 2017; 19 (2): 30–36. DOI: 10.15407/animbiol19.02.030. (in Ukrainian)
6. Eichelmann MA, Lewbart GA. Hemolymph chemistry reference ranges of the chilean rose tarantula *Grammostola rosea* (Walkenaer, 1837) using the vetscan biochemistry analyzer based on IFCC-CLSI C28-A3. *J Zoo Wildlife Med.* 2018; 49 (3): 528–534. DOI: 10.1638/2015-0145.1.
  7. Falalyeyeva TM, Leschenko IV, Beregova TV, Lazarenko LM, Savchuk OM, Sichel LM, Tsyryuk OI, Vovk TB, Spivak MY. Probiotic strains of *Lactobacilli* and *Bifidobacteria* alter pro- and anti-inflammatory cytokines production in rats with monosodium glutamate-induced obesity. *Fiziol Zh.* 2017; 63 (1): 17–25. DOI: 10.15407/fz63.01.017.
  8. Fedoruk RS, Kovalchuk II, Mezentsseva LM, Tesarivska UI, Pylypets AZ, Kaplunenko VH. Germanium compounds and their role in animal body. *Biol Tvarin.* 2022; 24 (1): 50–60. DOI: 10.15407/animbiol24.01.050. (in Ukrainian)
  9. Fedoruk RS, Kovalchuk II, Romaniv LI, Xrabko MI. Influence of germanium citrate and selenium on lipid and heavy metals content in melliferous bees' organism. *Biol Tvarin.* 2014; 16 (2): 141–149. Available at: <https://aminbiol.com.ua/index.php/archive/100-archive/bt-16-2-2014/1487-influence-of-germanium-citrate-and-selenium-on-lipid-and-heavy-metals-content-in-melliferous-bees-organism> (in Ukrainian)
  10. Fedoruk RS, Tesarivska UI, Kovalchuk II, Tsap MM, Kaplunenko VH, Koleschuk OI, Khrabko MI. Biological effects of iodine, selenium, sulfur citrates in broiler chickens. *Regul Mech Biosys.* 2021; 12 (3): 523–530. DOI: 10.15421/022172.
  11. Folch J, Lees M, Stanley GH. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem.* 1957; 226 (1): 497–509. DOI: 10.1016/S0021-9258(18)64849-5.
  12. Galiniak S, Moloń M, Biesiadecki M, Bożek A, Rachel M. The role of oxidative stress in atopic dermatitis and chronic urticaria. *Antioxidants.* 2022; 11 (8): 1590. DOI: 10.3390/antiox11081590.
  13. Hartfelder K, Bitondi MMG, Brent CS, Guidugli-Lazzarini KR, Simões ZLP, Stabeniner A, Tanaka ÉD, Wang Y. Standard methods for physiology and biochemistry research in *Apis mellifera*. *J Apic Res.* 2013; 52 (1): 1–48. DOI: 10.3896/IBRA.1.52.1.06.
  14. Karavan V, Kachmaryk D, Cherevatov V, Panchuk I, Yazlovyska L. Influence of the summer feeding by carbohydrates on catalase activity in honey bees. *Sci Herald Chernivtsi Univer Biol Sys.* 2020; 12 (2): 156–165. DOI: 10.31861/biosystems2020.02.156. (in Ukrainian)
  15. Karavan VV, Kachmaryk DY, Cherevatov VF, Yazlovyska LS. Influence of wintering temperature on the state of the antioxidative system in *Apis mellifera* L. *Biol Tvarin.* 2021; 23 (4): 32–42. DOI: 10.15407/animbiol23.04.032. (in Ukrainian)
  16. Kathuria D, Aggarwal S, Negi A, Barthwal R, Joshi A, Singh N. Emerging analytical techniques for lipid profiling in food products: Insights into processing effects and quality control. *Food Chem.* 2025; 32: 103360. DOI: 10.1016/j.foodchem.2025.103360.
  17. Kosinov MV, Kaplunenko VH. Process for the preparation of metal carboxylates "Nanotechnology of metal carboxylates preparation". Ukrainian patent for utility model no. 38391 from 12.01.2009, Bull. no. 1: 4 p. Available at <https://sis.nipo.gov.ua/en/search/detail/276279> (in Ukrainian)
  18. Kovalchuk II, Androshulik RL, Pylypets AZ, Tsap MM. The content of total protein and its fractions in the hemolymph and body tissues of bees fed with Mg citrate. *Sci Mess LNUVMBT Ser Vet Sci.* 2023; 25 (111): 90–96. DOI: 10.32718/nlvvet11114. (in Ukrainian)
  19. Kovalchuk II, Fedoruk RS. Content of heavy metals in the bees tissues and products depending on agroecological conditions of carpathians region. *Biol Tvarin.* 2013; 15 (4): 54–65. (in Ukrainian)
  20. Kovalchuk II, Fedoruk RS, Ravis YF, Romaniv LI. Lipid and fatty acid composition of body tissues of honey bees and perga under conditions of supplementation with germanium and selenium nanoaquacitrates. *Sci Tech Bull SRC/VMFA IAB.* 2014; 15 (2–3): 31–36. Available at: [http://nbuv.gov.ua/j-pdf/Ntbibt\\_2014\\_15\\_2-3\\_7.pdf](http://nbuv.gov.ua/j-pdf/Ntbibt_2014_15_2-3_7.pdf) (in Ukrainian)
  21. Kovalchuk II, Fedoruk RS, Spivak MY, Romanovych MM, Iskra RY. *Lactobacillus casei* IMV B-7280 immunobiotic strain influence on the viability of honey bees and the content of microelements in the organism. *Mikrobiol Zh.* 2021; 83 (2): 42–50. DOI: 10.15407/microbiolj83.02.042.
  22. Kovalchuk II, Kykish IB, Kaplunenko VH. Influence of citrate microelements on the reproductive capacity of queen bees. In: *Actual Problems of Natural Sciences: Modern Scientific Discussions.* A collective monograph. Baltija Publishing, 2020: 87–110. DOI: 10.30525/978-9934-26-025-4-6. (in Ukrainian)
  23. Lazarenko LM, Babenko LP, Gichka SG, Sakhno LO, Demchenko OM, Bubnov RV, Sichel LM, Spivak MY. Assessment of the safety of *Lactobacillus casei* IMV B-7280 probiotic strain on a mouse model. *Probiot Antimicrob Prot.* 2021; 13 (6): 1644–1657. DOI: 10.1007/s12602-021-09789-1.
  24. Mylostiva D. Influence of germanium citrate on the defensive antioxidative system of rats organism. *Sci Tech Bull SRC/VMFA IAB.* 2017; 18 (2): 34–37. Available at: [http://nbuv.gov.ua/UJRN/Ntbibt\\_2017\\_18\\_2\\_7](http://nbuv.gov.ua/UJRN/Ntbibt_2017_18_2_7) (in Ukrainian)
  25. Petrovska IR, Salyha YT, Vudmaska IV. *Statistical Methods in Biological Research.* A monograph. Kyiv, Ahrama Nauka, 2022: 172 p. (in Ukrainian)
  26. Pisoschi AM, Pop A. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *Eur J Med Chem.* 2015; 97: 55–74. DOI: 10.1016/j.ejmech.2015.04.040.
  27. Pomi F, Gammert L, Borgia F, Gioachino M, Gandemi S. Oxidative stress and skin diseases: The role of lipid peroxidation. *Antioxidants* 2025; 14 (5): 555. DOI: 10.3390/antiox14050555.
  28. Prezenská M, Sobeková A, Sabová L. Antioxidant enzymes of honeybee larvae exposed to oxamyl. *Folia veterinaria.* 2019; 63 (4): 9–14. DOI: 10.2478/fv-2019-0032.
  29. Pylypets AZ, Spivak MY, Fedoruk RS, Tsap MM, Kovalchuk II, Romanovych MM. Lipid composition and peroxidation products in the body tissues of bees under the action of different doses of nanotechnological Ge citrate and probiotic *Lactobacillus casei* B-7280. *Biol Tvarin.* 2023; 25 (1): 20–26. DOI: 10.15407/animbiol25.01.020.
  30. Romaniv LI, Kovalchuk II, Pashchenko AG, Fedoruk RS. Content of lipids in tissues of the melliferous bees additional fed with soybean meal, sugar syrup and citrates of Co and Ni. *Biol Tvarin.* 2018; 20 (3): 84–92. DOI: 10.15407/animbiol20.03.084. (in Ukrainian)
  31. Soulaïmani A, Gharous ME, Mejahed KE. Validation of continuous flow analysis for determining total nitrogen in plants compared to the Kjeldahl method. *Discov Plants.* 2025; 2: 339. DOI: 10.1007/s44372-025-00434-7.
  32. Tezuka T, Higashino A, Akiba M, Nakamura T. Organogermanium (Ge-132) suppresses activities of stress enzymes responsible for active oxygen species in monkey liver preparation. *Adv Enzyme Res.* 2017; 5 (2): 13–23. DOI: 10.4236/aer.2017.52002.
  33. Yazlovitska LS, Kosovan MD, Cherevatov VF, Volkov RA. The catalase activity of *Apis mellifera* L. upon summer feeding with varying carbohydrate diet. *Biological systems.* 2016; 8 (2): 182–188. DOI: 10.31861/biosystems2016.02.182.
  34. Yefimenko T, Odnosum H, Vorobiy O. Flow of sacbrood disease in creation of infertile period at bee colonies in comparison with bee colonies treatment with eucalyptus and hypericum extracts and analogue means. *Beekeep Ukraine.* 2021; 1 (6): 18–23. DOI: 10.46913/beekeepingjournal.2021.6.03. (in Ukrainian)

## Dynamics of biochemical indicators in the tissues and hemolymph of bees under conditions of germanium citrate and *Lactobacillus casei* application

Iryna Kovalchuk<sup>1,2</sup>, Tatiana Khymynets<sup>2</sup>, Ruslan Androshulik<sup>1</sup>, Mykola Romanovych<sup>1</sup>  
irena.kovalchuk@ukr.net

<sup>1</sup>Institute of Animal Biology NAAS, 38 V. Stusa str., Lviv, 79034, Ukraine

<sup>2</sup>Stepan Gzhysky National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies Lviv, 50 Pekarska str., Lviv, 79010, Ukraine

The effect of administering the mineral element Ge in combination with a probiotic preparation of the *L. casei* class for feeding bees under laboratory thermostat conditions was investigated. The parameters of lipid peroxidation, the content of total lipids and their classes, the content of total body tissue protein, and the fractions of soluble hemolymph proteins were determined. An increase in the relative content of phospholipids (groups R 1 and R2) was observed, against a background of a decrease in esterified cholesterol (Group R1) and non-esterified fatty acids (Groups R1 and R2) compared to the control group, indicating a biological effect of Ge citrate in Group R1 and the *L. casei* probiotic solution in Group R2 on lipid metabolism. In bees fed Ge citrate and the probiotic *L. casei*, water-soluble fractions of hemolymph proteins were detected:  $\gamma$ -globulins,  $\beta$ -globulins,  $\alpha_2$ -globulins, and  $\alpha_1$ -globulins. It should be noted that no albumin fraction was detected. The biological effect of nanotechnology-based germanium citrate and the probiotic *Lactobacillus casei* in the experimental groups of bees, compared to the control group, was manifested by a reduction in the intensity of lipid peroxidation processes (lipid hydroperoxides, malondialdehyde). This effect was observed in group D1 under the influence of Ge citrate and in group D2 under the influence of the *L. casei* probiotic solution. The results of a comparative study using Ge citrate at a dose of 0.1  $\mu\text{g/ml}$  and  $10^6$  CFU/ml of *L. casei* B-7280 in bee feed under laboratory thermostat conditions indicate a stimulatory effect both on the lipid composition of the bees' bodies and on the processes of lipid peroxidation; however, it did not significantly alter the ratio of protein fractions in the hemolymph.

**Keywords:** bees, organism, hemolymph, germanium citrate, probiotic, lipids, proteins, lipid peroxidation products