



Вплив температури зимівлі на стан антиоксидантої системи *Apis mellifera* L.

В. В. Караван, Д. Ю. Качмарик, В. Ф. Череватов, Л. С. Язловицька

l.yazlovitska@chnu.edu.ua

Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича,
вул. Коцюбинського, 2, м. Чернівці, 58012, Україна

Досліджено стан антиоксидантної системи захисту медоносних бджіл *Apis mellifera carnica* за дії різних температур для оптимізації температурного режиму утримання бджолиних колоній у приміщенні під час зимівлі. Колонії бджіл (вік особин — 81–91 день) переносили з території пасіки Чернівецького національного університету у період різких перепадів температури (кінець листопада) у сталі температурні умови приміщень $5\pm 0,6^\circ\text{C}$ та $14\pm 0,8^\circ\text{C}$ й утримували їх там протягом 12 тижнів. Робочих бджіл для біохімічного аналізу відбирали кожні два тижні 7 разів. Вивчено вміст ТБК-активних продуктів (ТБКАП), активність каталази (CAT) та глутатіон-S-трансферази (GST) у тагмах комах (голова, груди та черевце). Встановлено, що переведення бджолиних колоній з нестабільних температурних умов на сталі, незалежно від їхньої величини, призводить до зменшення інтенсивності перекисного окиснення ліпідів (рівня ТБКАП) на тлі зростання активності ензимів (CAT та GST). Виявлена тагмоспецифічна відповідь антиоксидантної системи організму бджіл залежно від температури зимівлі. Утримання бджолосімей у приміщенні за сталих температур впродовж 10 тижнів супроводжувалось взаємозгодженістю в роботі антиоксидантної системи організму комах: вміст ТБКАП, як і активність ензимів, залишались на сталому рівні впродовж досліджу. Проте на початку лютого (наприкінці досліджу), незалежно від температури в приміщенні, у тканинах голови бджіл зростав вміст ТБКАП, а в тканинах черевця посилювалась активність GST. Водночас в середині зими (січень) рівень ТБКАП у бджіл, які утримувались за $t = +5^\circ\text{C}$, був меншим порівняно з бджолами, які зимували за $t = +14^\circ\text{C}$. Запропоновано оптимальний температурний режим утримання колоній бджіл в умовах зимівлі у закритих приміщеннях: для бджолиних колоній середньої сили — за температури близько $+5^\circ\text{C}$, а бджолиних колоній слабкої сили та нуклеусів — за температури близько $+14^\circ\text{C}$ до кінця січня з подальшим зниженням температури до $+10^\circ\text{C}$.

Ключові слова: *Apis mellifera*, зимівник, температура, каталаза, глутатіон-S-трансфераза, ТБК-активні продукти

Бджола медоносна (*Apis mellifera* L.) поширена на значній території Земної кулі. Вважається, що цей вид вперше виник у Південно-Східній Азії й пізніше розповсюдився в Африку та Європу [29, 38]. Опанування такого широкого ареалу *Apis mellifera* стало можливим завдяки комплексу фізіологічних і поведінкових пристосувань до локальних екологічних умов [14, 22, 41].

Температура є одним з найважливіших абіотичних параметрів у житті тварин [17]: вона впливає майже на всі фізіологічні і біохімічні процеси та визначає поведінку комах [1, 36]. Під час холодної пори року медоносні бджоли, на відміну від більшості видів поодиноких комах, не впадають в діапазу, а збираються в зимові кластери для зменшення втрат тепла

колонією [28, 31, 32]. До адаптацій, які допомагають бджолі пережити зиму, належать: мінімізація енерговитрат [33], передзимові зміни фізіологічного стану в організмі бджіл, що контролюється біохімічними процесами [10, 21, 23, 39]. В Україні зима характеризується різкими перепадами температури, тривалими відлигами й сильними вітрами. Це негативно впливає на бджіл і призводить до зниження їхнього імунітету та зростання смертності в колоніях навесні [11, 12]. У холодному кліматі пасивна зимівля може тривати до 4–6 міс., що є значною частиною життєвого циклу бджолиних сімей. Для забезпечення зимівлі бджіл дедалі частіше використовують спеціалізовані приміщення (зимівники) з контрольованими показниками

температури, вологості тощо [19, 20, 28, 35, 36, 45]. Вдосконалення технологій бджільництва спрямовується на покращення умов пасивного періоду життєвого циклу бджолосімей для зменшення втрат [10, 37]. Проте біохімічні механізми адаптації комах до впливу температур протягом зимівлі вивчені недостатньо.

У всіх організмів процеси життєдіяльності супроводжуються утворенням в клітинах активних форм кисню (АФК). За дії стресових факторів зовнішнього середовища рівень АФК зростає [24]. Підвищений рівень АФК в клітинах призводить до пошкодження мембрани клітин і до активації перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ). У результаті реакцій ПОЛ утворюються тіобарбітурат-активні продукти (ТБКАП), які є маркерами оксидативного стресу у тканинах та органах [13, 15]. Захист організму комах від руйнівної дії АФК забезпечується ензимами антиоксидантної системи (АОС). Серед ензимів, які знешкоджують АФК, — каталаза (КАТ) [8] та глутатіон-S-трансфераза (GST) [26, 42]. Активність цих ензимів є індикатором загального стану антиоксидантної системи комах [5]. Відповідно, зміни фізіологічного стану бджіл за дії різних температурних умов зимівлі можуть бути оцінені визначенням активності стрес-асоційованих КАТ та GST у період адаптації медоносних бджіл до температурних умов зимівлі.

У зв'язку із вищезазначеним, дослідження стану АОС бджіл за дії різних температурних умов дозволить розробити практичні рекомендації для пасічників щодо температурного режиму утримання бджіл під час зимівлі. Метою роботи було оцінювання процесів ПОЛ, активності каталази, глутатіон-S-трансферази у робочих бджіл *Apis mellifera* за різних температурних умов зимівлі.

Матеріали та методи

Дослідження провели на місцевій популяції медоносних бджіл *Apis mellifera carnica* з пасіки Чернівецького національного університету імені Юрія Федьковича у пасивний період зимівлі (листопад-лютий). Для досліду було відібрано 8 здорових бджолосімей без клінічних ознак інфекційних захворювань, однакових за своєю силою — близько 14 000 бджіл у кожній колонії. Колонії розділили на дві експериментальні групи по 4 бджолосімей. Відбір бджіл здійснювали сім разів по 150 бджіл з вулика з кінця листопада до середини лютого. Перший відбір (1) бджіл 81–91-денного віку проводили безпосередньо перед перенесенням бджолосімей з несталих низьких температур на вулиці в умови сталої температури у приміщенні. У кожному вулику для контролю температури всередині було встановлено по три електронні термометри LCD (L431). Після цього 4 вулики було перенесено у зимівник зі сталою температурою $5 \pm 0,6^\circ\text{C}$ (температура всередині вуликів — $9,0 \pm 0,6^\circ\text{C}$), а інші чотири вулики — у приміщення з температурою $14 \pm 0,8^\circ\text{C}$ (температура всередині вуликів — $15,1 \pm 1,3^\circ\text{C}$).

Робочих бджіл відбирали з рамок один раз на два тижні, заморожували рідким азотом і зберігали до проведення біохімічних аналізів за -70°C . Вік комах при другому відборі (2) становив 95–105 днів, при третьому (3) — 109–119 днів, при четвертому (4) — 123–133 дні, при п'ятому (5) — 137–147 днів, при шостому (6) — 151–161 день і при сьомому (7) — 165–175 днів.

Біохімічні показники оцінювали для кожної тагми окремо. Для цього заморожених бджіл препарували на холоді. Відділені частини тіла — голова, груди, черевце (по 10 тагм на пробу) розтирали із застосуванням швидкісного гомогенізатора *Heidolph* у 1000 мкл холодного буферу, склад якого залежав від досліджуваного біохімічного показника. Активність каталази визначали за методом Аєбі з певними модифікаціями [2, 43], активність глутатіон-S-трансферази — за методом Пасквела з певними модифікаціями [9, 18]. Для визначення рівня ТБКАП тагми бджіл (по 10 на пробу) зважували та гомогенізували в 1000 мкл холодного RIPA-буферу, який містив 50 мМ М Tris HCl (pH 7,4), 150 мМ NaCl, 1% Triton X-100, 0,5% дез-оксихолат натрію, 0,1% SDS, 2 мМ М EDTA, 50 мМ М NaF. Проби центрифугували при 12000 g, 10 хв при 5°C ; 800 мкл супернатанту доводили до 1000 мкл RIPA буфером та додавали 1000 мкл 0,5% тіобарбітурової кислоти, розчиненої у 20% ТХО. Проби перемішували, кип'ятили на водяній бані протягом 60 хв. Надалі дослідний матеріал охолоджували 10 хв. на льоду. Центрифугували 10 хв. при 12000 g, відбирали супернатант та проводили вимірювання оптичної густини при довжині хвилі 532 нм та 600 нм [27]. Визначення кількості протеїну в екстракті проводили за методом Бредфорда [6].

Отримані результати проаналізовано за критеріями Вілкоксона, Манна-Уїтні та Краскела-Уолеса. Опис вибіркового розподілу даних проведено на основні значень медіани (Me), нижнього (25%) та верхнього (75%) квартилей. Критичний рівень вірогідності за перевірки статистичних гіпотез був рівним $P \leq 0,05$.

Результати й обговорення

На першому етапі дослідження з'ясовано вплив процесів стабілізації температурних умов довколишнього середовища на антиоксидантну систему захисту комах. Для цього бджолині колонії (вік особин — 81–91 день) переносили з території пасіки у період різких перепадів температури та вологості (кінець листопада) в сталі умови зимівників з $t = 5 \pm 0,6^\circ\text{C}$ і $t = 14 \pm 0,8^\circ\text{C}$. За два тижні бджіл відбирали для проведення біохімічних досліджень.

У Західному регіоні України в 2019 р. наприкінці листопада — на початку грудня температура повітря коливалась вночі від -7°C до $+14^\circ\text{C}$, а вдень — від 0°C до $+18^\circ\text{C}$ [40]. Проте відомо, що комфортним для зимівлі бджіл є температурний діапазон від $+3^\circ\text{C}$ до $+8^\circ\text{C}$, а за температур поза цими межами суттєво зростає

споживання бджолами кормів [44]. Водночас виявлено, що температура всередині зимового кластера бджіл, залежно від фізіологічного стану колонії, коливається в межах від 20°C до 35°C [33]. Отже, суттєві перепади температур в нашому регіоні змінюють поведінку бджіл в колоніях під час зимівлі, що відображається на фізіологічному стані бджіл після виходу із зимівлі [11, 12]. Це обумовило вивчення біохімічних особливостей пристосування бджіл до температурного стресу під час зимівлі саме за таких експериментальних сталих температур в приміщеннях: 14±0,8°C та 5±0,6°C.

Встановлено різноспрямовані зміни досліджуваних нами параметрів оксидативного стресу (рівня ТБКАП, активності ензимів) в результаті адаптації бджіл до певного температурного режиму в приміщенні.

У бджіл, взятих для дослідження з вуликів, які помістили в приміщення за сталої температури +5°C, спостерігалось зменшення рівня ТБКАП у тканинах черевця ($P < 0,0277$) та зростання у тканинах голови ($P < 0,0431$) порівняно з показниками у бджіл до перенесення в приміщення (рис. 1А, 1С). Переміщення вуликів до зимівника з $t = +14^\circ\text{C}$ провокувало зменшення рівня ТБКАП у тканинах голови ($P < 0,0277$) і грудей ($P < 0,0277$) та його зростання у тканинах черевця ($P < 0,0277$) (рис. 1). Варто зазначити, що після двох тижнів адаптації до експериментального температурного режиму в приміщенні цей показник у тканинах черевця у бджіл зимівника з $t = +14^\circ\text{C}$ був вищим, ніж за $t = +5^\circ\text{C}$ ($P < 0,0021$) (рис. 1С), тоді як у тканинах голови та грудей вміст ТБКАП не залежав від температури у приміщенні (рис. 1А, 1В).

Нами виявлено тагмоспецифічні зміни активності антиоксидантних ензимів залежно від температури утримання бджолиних колоній. Зокрема, перенесення бджолосімей з пасіки до приміщення з $t = +5^\circ\text{C}$ призводило до зменшення активності каталази тільки у тканинах голови ($P < 0,028$). У бджіл, яких перенесли в приміщення з $t = +14^\circ\text{C}$, активність САТ не змінювалась у тканинах голови, проте зменшувалась у тканинах черевця ($P < 0,0077$) та зростала в тканинах грудей ($P < 0,0464$) у комах 2-го відбору порівняно з 1-м (рис. 2). Перенесення вуликів до зимівника та їх утримання за $t = +14^\circ\text{C}$ призводило до зростання активності GST у тканинах голови ($P < 0,018$), зменшення у тканинах черевця ($P < 0,0277$) та незначних коливань у тканинах грудей комах (рис. 3). Перенесення вуликів до зимівника з $t = +5^\circ\text{C}$ не спричиняло суттєвих змін за цим параметром у тканинах голови та черевця, проте спостерігали зростання активності GST у тканинах грудей бджіл ($P < 0,018$) (рис. 3).

Одним із пояснень виявленої нами тагмоспецифічної реакції-відповіді організму бджіл на дію абіотичних стресових факторів за величиною рівня ТБКАП, активностей САТ та GST є особливості окисно-відновного стану клітин і диференціальної експресії генів, які регулюють АФК. В основі цих відмінностей є різні функції основних тканин у цих частинах тіла — головного мозку, посмугованих м'язів грудей, кишеч-

нику та жирового тіла черевця відповідно. Встановлено, що окисні параметри і диференціальна експресія генів, пов'язаних з цими процесами, демонструє тагмоспецифічні зміни [7].

Абсолютні значення досліджуваних біохімічних параметрів суттєво не відрізнялись у бджіл за різних температурних режимів зимівлі (рис. 1–3). В умовах досліду за температури в приміщенні +5°C температура у вулику становила +9,0°C. Відомо, що за такої температури бджоли утворюють «клуб» — бджолиний кластер з метою мінімізації енерговитрат [28, 31]. Температура тіла бджіл у кластері зазвичай вища від температури навколишнього середовища [32, 33]. Отже, при утриманні колоній за температури в зимівнику +5°C, температура тіла взятих для експерименту бджіл підтримувалась значно вищою за зовнішню температуру, що і вплинуло на рівень метаболізму комах. Температура досліджуваних бджіл відрізнялась в середньому на декілька градусів незалежно від температурних умов в приміщенні. Це може бути одним із факторів, який зумовив відсутність значних відмінностей за абсолютними значеннями досліджуваних параметрів протягом експерименту. Різні значення досліджуваних параметрів у окремих тагмах комах можуть бути зумовлені також і різною температурою цих частин, як встановлено в роботі [32].

Сталість температур протягом пасивного періоду зимівлі, на відміну від її різних коливань, позитивно впливає на життєдіяльність комах. Зокрема, переведення бджіл в умови експериментальних температур зменшує стресове навантаження, спричинене різкими коливаннями температур, про що свідчить зменшення вмісту ТБКАП у тканинах голови за температури +14°C та зростання за температури +5°C, що відображає індикаційний характер цього параметра. Спостерігали посилення активності GST при утриманні бджіл за температури +14°C, проте зменшення активності САТ у бджіл за $t = +5^\circ\text{C}$ в зимівнику. Щодо тканин грудей, то перенесення бджіл на сталі температури призводило до зменшення вмісту ТБКАП за рахунок зростання активності САТ при утриманні колоній за температури +14°C. Водночас за $t = +5^\circ\text{C}$ в зимівнику виявлено тільки зростання активності GST. Це доцільно пояснити тим, що за низької температури у приміщенні бджоли повинні підтримувати оптимальну температуру в центрі зимового кластера за рахунок ендотермії, зокрема посилення скорочень (тремтіння) льотних м'язів грудей [32, 33]. Висока активність м'язів призводить до значного зростання АФК, які знешкоджуються ензимами АОС. У тканинах черевця бджіл стабілізація температури провокувала зменшення активності ензимів на тлі зростання вмісту ТБКАП при зимівлі колоній за $t = +14^\circ\text{C}$, тоді як за $t = +5^\circ\text{C}$ активність САТ та GST не змінювалась, проте вміст ТБКАП зменшувався. Зростання вмісту ТБКАП за $t = +14^\circ\text{C}$ може бути пов'язаним з кількістю їжі, яку бджоли споживали за сталих температур у зимівнику.

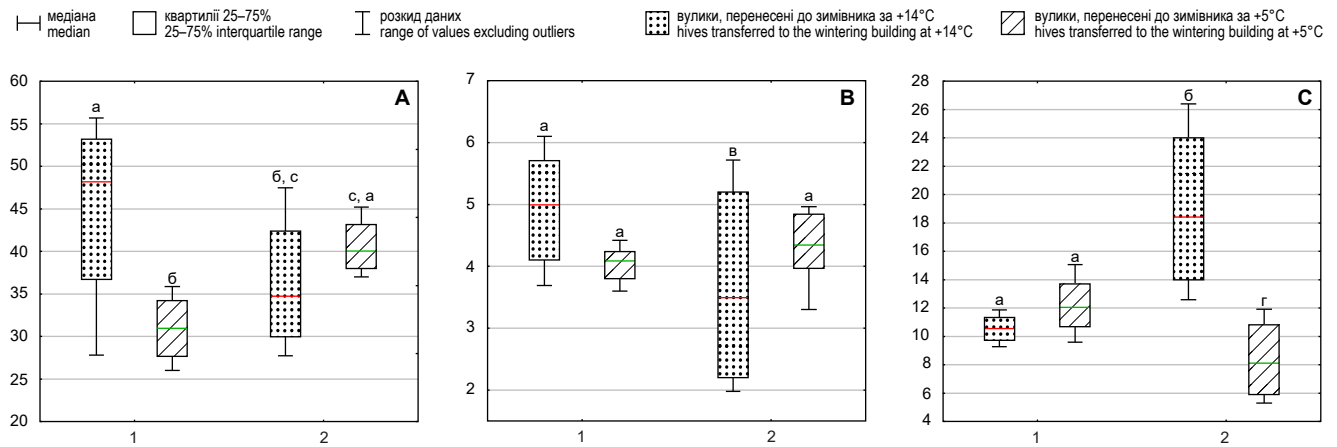


Рис. 1. Рівень ТБКАП ($\mu\text{M}/\text{г}$ т. с. м.) у тканинах голови (А), грудей (В) та черевця (С) робочих бджіл *A. mellifera* за різних температурних умов зимівлі бджолиних колоній. Порядок відбору — вік бджіл: 1 — 81–91-денні бджоли, утримувані на території пасіки; 2 — 95–105-денні бджоли, утримувані в зимівниках
Fig. 1. The level of TBARS ($\mu\text{M}/\text{g}$ of tissue) in tissues of head (A), thorax (B) and abdomen (C) of worker bees *A. mellifera* at the different temperature conditions of wintering bee colonies. Selection procedure — age of bees: 1 — 81–91-day-old bees held in the apiary; 2 — 95–105 day-old bees held in the wintering buildings
Примітка. Тут і далі статистично вірогідна різниця за $P < 0,05$ позначена різними літерами.
Note. Here and further a statistically significant difference ($P < 0.05$) is denoted by different letters.

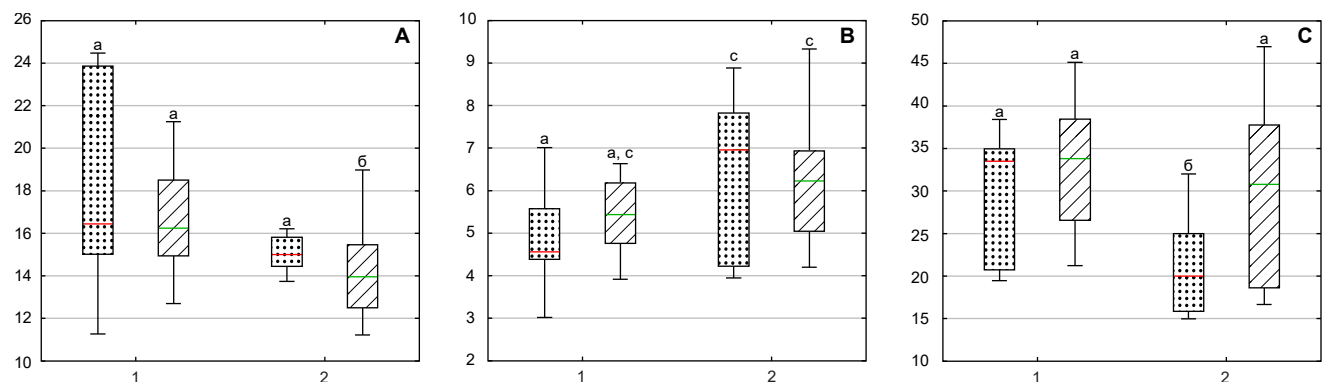


Рис. 2. Активність каталази (мкмоль/хв/мг протеїну) у тканинах голови (А), грудей (В) та черевця (С) робочих бджіл *A. mellifera* за різних температурних умов зимівлі бджолиних колоній. Порядок відбору — вік бджіл: 1 — 81–91 денні бджоли, утримувані на території пасіки; 2 — 95–105 денні бджоли, утримувані в зимівниках
Fig. 2. Catalase activity ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ protein) in tissues of head (A), thorax (B) and abdomen (C) of worker bees *A. mellifera* at the different temperature conditions of wintering bee colonies. Selection procedure — age of bees: 1 — 81–91-day-old bees held in the apiary; 2 — 95–105-day-old-bees held in the wintering buildings

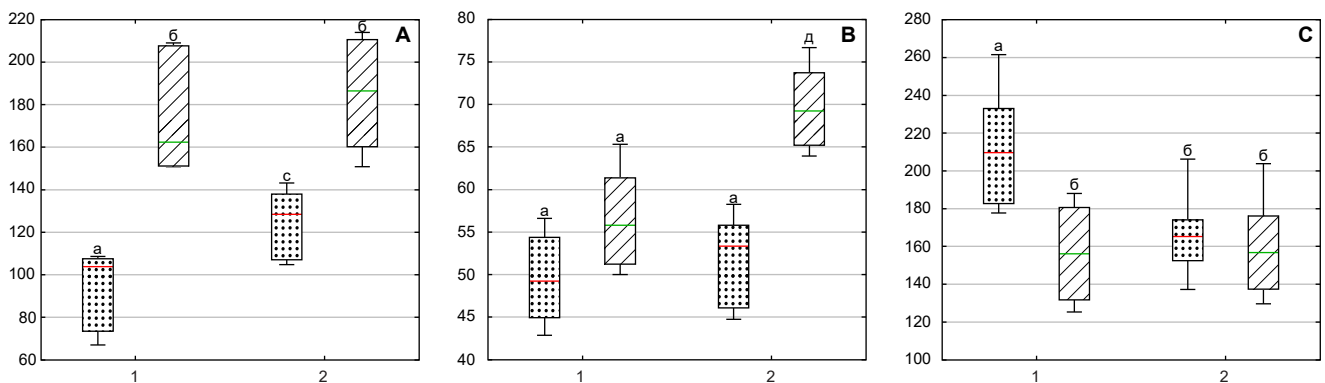


Рис. 3. Активність глутатіон-S-трансферази (мкмоль/хв/мг протеїну) у тканинах голови (А), грудей (В) та черевця (С) робочих бджіл *A. mellifera* за різних температурних умов зимівлі бджолиних колоній. Порядок відбору — вік бджіл: 1 — 81–91-денні бджоли, утримувані на території пасіки; 2 — 95–105-денні бджоли, утримувані в зимівниках
Fig. 3. Glutathione-S-transferase activity ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ protein) in tissues of head (A), thorax (B) and abdomen (C) of worker bees *A. mellifera* at the different temperature conditions of wintering bee colonies. Selection procedure — age of bees: 1 — 81–91-day-old bees held in the apiary, 2 — 95–105 day-old bees held in the wintering buildings

Отже, зміна температурних умов утримання бджолосімей з нестабільних на сталі, незалежно від їх величини ($14 \pm 0,8^\circ\text{C}$ та $5 \pm 0,6^\circ\text{C}$), призводить до позитивних змін, покращуючи адаптаційний потенціал комах. Стабілізація температури у приміщенні супроводжується зменшенням швидкості перебігу перекисного окислення ліпідів (рівня ТБКАП) на тлі зростання активності ензимів АОС (CAT та GST) у комах, особливо за температури $+14^\circ\text{C}$.

Ми провели моніторинг стану антиоксидантої системи у бджіл, яких утримували в приміщенні протягом десяти тижнів (початок грудня — початок лютого) за сталих температур $5 \pm 0,6^\circ\text{C}$ та $14 \pm 0,8^\circ\text{C}$. Відомо, що в зоні помірного клімату наприкінці зими бджолина колонія починає вирощувати розплід. Час появи розплоду колоніях під час зимівлі має вирішальне значення, а передчасна його поява може призвести до виснаження енергетичних запасів у колонії [30]. Виявлено, що поява розплоду наприкінці зими пов'язана з генетичними особливостями бджіл та визначається переважно температурою довколишнього середовища, яку модулює світловий період [25]. Щоб уникнути цього явища, на початку лютого експериментальну температуру у приміщенні було знижено з $+14^\circ\text{C}$ до $+10^\circ\text{C}$.

У тканинах голови бджіл за середніх температур у зимівнику в грудні виявлено зростання рівня ТБКАП при порівнянні третього відбору з другим ($P < 0,028$) (рис. 4А). Надалі величина ТБКАП залишалась на сталому рівні, проте до кінця експерименту, при порівнянні 7-го відбору з 6-м, — суттєво зростала ($P < 0,028$) (рис. 4А). За умов утримання колоній в приміщенні з температурою $+5^\circ\text{C}$ спостерігалось незначне коливання цього показника протягом 2-го, 3-го та 4-го відборів. В подальшому виявлено зменшення рівня ТБКАП у тканинах голови комах при порівнянні 5-го відбору з 2-м ($P < 0,029$), проте наприкінці дослідження спостерігали його значне зростання, про що свідчить порівняння 6-го з 5-тим ($P < 0,029$) та 7-го відбору з 6-тим ($P < 0,029$) (рис. 4А). У бджіл, які зимували в приміщенні з $t = +5^\circ\text{C}$, рівень ТБКАП в тканинах голови комах з кінця грудня до кінця січня (з 3-го по 5-й відбір) був меншим ($P < 0,029$), ніж у колоніях, яких утримували за $t = +14^\circ\text{C}$, і лише в лютому, наприкінці дослідження (6-й та 7-й відбори) він досягав величин, виявлених у бджіл, які зимували за $t = +14^\circ\text{C}$ (рис. 4А).

Одним із пояснень виявлених низьких та сталих значень вмісту ТБКАП у тканинах голови комах за умов стабільних показників мікроклімату в приміщенні є окремі функціональні зміни та перебудови в роботі антиоксидантої системи, що дозволяє бджолам адаптуватись до температурних умов зимівлі. Водночас збільшення рівня ТБКАП в лютому (наприкінці дослідження) може бути зумовлене віковими особливостями щодо формування механізмів захисту бджіл в умовах дії стресових факторів, зокрема температурних.

Дослідження рівня ТБКАП в тканинах грудей засвідчує суттєве зростання цього показника у бджіл

з колоній, який утримували в приміщенні з $t = +14^\circ\text{C}$, в середині експерименту (рис. 4В). Порівняльний аналіз результатів визначення рівня ТБКАП у бджіл 5-го відбору з 4-м виявив збільшення ($P < 0,0022$) цього показника в тканинах грудей під час їх зимівлі за $t = +14^\circ\text{C}$ (рис. 4В). Наприкінці дослідження рівень ТБКАП зменшувався, що відображає порівняльний аналіз результатів 5-го відбору з 6-м ($P < 0,026$) та 5-го з 7-м ($P < 0,015$), і досяг рівня, який спостерігали на початку грудня під час 2-го відбору (рис. 4В). Утримання бджолосімей за $t = +5^\circ\text{C}$ проважувало окремі зміни досліджуваного показника протягом зимівлі: виявлено зменшення рівня ТБКАП на початку січня під час 4-го відбору порівняно кінцем дослідження, середина лютого, 7-й відбір ($P < 0,015$) (рис. 4В). У січні в середині дослідження рівень ТБКАП у бджіл, які зимували за $t = +5^\circ\text{C}$, був меншим, ніж у бджіл за $t = +14^\circ\text{C}$ ($P < 0,002$) (рис. 4В). Наприкінці дослідження в лютому рівень ТБКАП у бджіл за $t = +5^\circ\text{C}$ досягав абсолютних значень цього показника у бджіл, яких утримували у приміщенні з $t = +10^\circ\text{C}$ (рис. 4В).

Щодо тканин черевця, то у бджіл, які зимували за $t = +14^\circ\text{C}$, вміст ТБКАП зменшувався на 30% наприкінці грудня порівняно з початком місяця — 3-й відбір порівняно з 2-м ($P < 0,0022$) (рис. 4С). Надалі протягом січня він залишався на сталому рівні, в лютому — зменшувався, що відображає порівняльний аналіз показників 6-го відбору з 4-м ($P < 0,0087$) та 7-го з 4-м ($P < 0,025$) (рис. 4С). У бджіл, які зимували за температури $+5^\circ\text{C}$, рівень ТБКАП зростав протягом грудня, про що свідчить порівняння 2-го і 4-го ($P < 0,0022$), 3-го і 4-го відборів ($P < 0,065$) (рис. 4С). При цьому під час четвертого відбору на початку січня досліджуваний показник зріс на 40% порівняно з другим відбором на початку грудня і залишився на цьому рівні до кінця дослідження. Варто зазначити, що за абсолютними значеннями рівень ТБКАП в тагмах комах в січні-лютому не залежав від температурних умов зимівлі (рис. 4С).

Виявлена нами подібність змін рівня ТБКАП за різних температурних умов на двох останніх етапах експерименту може свідчити про те, що у бджіл відбулись адаптаційні зміни для подолання оксидативного стресу, індикаторами якого є рівень ТБКАП.

Зимівля бджіл за сталих температур протягом тривалого часу (10 тижнів) призводила до зростання активності САТ в тканинах голови робочих бджіл на початку зими — 2-й відбір порівняно з 3-м ($P < 0,031$) і надалі залишалась без суттєвих змін за $t = +14^\circ\text{C}$ (рис. 5А). Водночас за $t = +5^\circ\text{C}$ зростання активності ферменту відбувалось на місяць пізніше — 5-й відбір порівняно з 4-м ($P < 0,011$), ніж за $t = +14^\circ\text{C}$. При цьому абсолютні значення величин активності САТ суттєво не залежали від температур у приміщенні протягом усього дослідження, окрім останнього, 7-го відбору ($P < 0,024$) (рис. 5А). Активність ензиму в тканинах тораксу бджіл за сталої температури зимівлі колоній $+14^\circ\text{C}$ в другій половині січня зменшувалась у бджіл 6-го відбору порівняно з 5-м ($P < 0,021$), проте наприкінці дослідження в середині лютого — зростала, на що вказує проведення порів-

няльного аналізу досліджуваного показника у бджіл 165–175-денного та 151–161-денного віку ($P < 0,024$) (рис. 5B). Зимівля колоній за $t = +5^{\circ}\text{C}$ суттєво не змінила активності САТ у тканинах тораксу комах протягом зими. В аналогічний період часу, в середині календарної зими, виявлено тенденцію до зростання активності САТ і надалі — до її зменшення (рис. 5B). У бджіл, які зимували за $t = +14^{\circ}\text{C}$, активність САТ в тканинах тораксу була нижчою, ніж у комах, які зимували в приміщенні з $t = +5^{\circ}\text{C}$, у 3-, 4-, 5-, 6-, 7-му відборах ($P < 0,05$) (рис. 5B). Зростання активності САТ у тканинах грудей бджіл за низьких температур ($t = +5^{\circ}\text{C}$) доцільно пояснити фізіологічною необхідністю комах підтримувати оптимальну температуру в кластері зокрема за рахунок термогенезу м'язів грудей. Це викликає зростання рівня АФК, які мають знешкоджуватись за рахунок посилення активності ензимів АОС, зокрема каталази.

Утримання бджолиних колоній в приміщенні з $t = +14^{\circ}\text{C}$ в перший місяць зими призводило до зростання активності САТ в тканинах черевця комах — 2-й відбір порівняно з 3-м ($P < 0,0079$), 2-й відбір порівняно з 4-м ($P < 0,00004$), 3-й відбір порівняно з 4-м ($P < 0,0055$). Надалі активність САТ залишалась на такому ж рівні до кінця досліду (рис. 5C). Водночас за $t = +5^{\circ}\text{C}$ активність САТ в тканинах черевця бджіл суттєво не змінювалась протягом всього періоду експерименту (рис. 5C).

Щодо активності GST встановлено, що в тканинах голови, грудей та черевця бджіл, які зимували як за $t = +14^{\circ}\text{C}$, так і за $t = +5^{\circ}\text{C}$ в приміщенні, досліджуваний показник не зазнавав суттєвих змін протягом зими (рис. 6). В тканинах черевця наприкінці досліду в середині лютого спостерігалось зростання активності GST у робочих бджіл незалежно від конкретної температури у приміщенні — 6-й відбір порівно з 7-м ($P < 0,05$) (рис. 6C). Водночас активність досліджуваного ензиму в тканинах голови була нижчою у робочих бджіл з колоній, які зимували за $t = +14^{\circ}\text{C}$, порівняно з бджолами, утримуваними за $t = +5^{\circ}\text{C}$ — 2-й відбір ($P < 0,008$), 3-й відбір ($P < 0,0485$), 5-й відбір ($P < 0,004$), 6-й відбір ($P < 0,016$) (рис. 6A). У тканинах грудей бджіл активність ферменту не залежала від температури у зимівнику (рис. 6B).

Встановлено, що абсолютні значення досліджуваних біохімічних параметрів суттєво не відрізнялись у бджіл, утримуваних за різних температурних умов зимівлі (рис. 4–6). На нашу думку, це пов'язано з особливостями метаболізму бджолиної сім'ї, яка функціонує як єдиний організм, всі індивідууми колонії якої підпорядковані єдиній стратегії виживання у стресових умовах [22, 32]. Кожна бджола регулює свій метаболізм та поведінку відповідно до загальних потреб колонії за різних температурних умов середовища. Перенесення бджіл на холод призводить до зміни поведінки комах: вони утворюють «клуб» — бджолиний кластер для мінімізації енерговитрат [30, 33]. За умов різних перепадів температури бджоли формують тимчасові нещільні кластери, на відміну від кластерів за постійних низьких температур: якщо температура

перевищує $+13,5^{\circ}\text{C}$, колонія не збирається у кластер, а за температури нижче $+10,3^{\circ}\text{C}$ — утворює його [35]. Отже, за низьких температур бджоли щільно агрегують у зимовий кластер. Зовнішні бджоли такого кластера різко знижують теплові втрати та мінімізують ендотермію, що є вирішальним фактором для виживання комах за низьких температур [33]. Для визначення біохімічних параметрів в досліді ми використовували зовнішніх бджіл кластера.

Виявлена нами на цьому етапі експерименту подібність змін вмісту ТБКАП, активності САТ та GST за різних температурних умов відображає адаптаційні зміни щодо подолання оксидативного стресу, індикаторами якого є ці показники.

В останні терміни відбору бджіл ми спостерігали зростання активності GST у тканинах черевця комах в умовах зимівлі у приміщенні ($P < 0,05$) (рис. 6C). Однією з причин цього є підвищення рівня утворення АФК під час травлення в результаті застійних явищ, пов'язаних з накопиченням продуктів розпаду в кишечнику зимуючих бджіл. Мікрофлора кишечника комах і симбіотичні відносини між бджолами та бактеріями також можуть призводити до зміни рівня АФК у бджіл на різних етапах онтогенезу [3, 16].

Можна припустити, що виявлені нами відмінності в активності досліджуваних ензимів та вмісту ТБКАП пов'язані з віковими особливостями комах, які в нашому досліді мали вік від 81–91 дня (1-й відбір) до 165–175 днів (7-й відбір). Раніше було показано зростання експресії генів САТ у 6- та 12-тижневих зимових бджіл [4]. Але в нашому дослідженні бджоли були старшими за віком порівняно з тими, яких досліджували [4], тому ми подібної закономірності не виявили.

Отже, довготривала дія сталого стресового фактору призводить до змін на молекулярному рівні, що супроводжується певною взаємоузгодженістю в роботі захисних систем організму, в тому числі антиоксидантної. Наявність адаптивної відповіді у комах припускає можливість існування специфічних та довготривалих біохімічних захисних реакцій.

За результатами проведених експериментальних досліджень, ми рекомендуємо пасічникам-практикам проводити диференціацію сімей за силою і запасами кормів щодо забезпечення оптимальних умов зимівлі бджолиних колоній в умовах помірного клімату з різкими коливаннями температур та іншими екстремальними метеорологічними факторами. Колоніям слабкої сили та нуклеусам, на нашу думку, бажано створювати сталі умови зимівлі за температури близько $+14^{\circ}\text{C}$ в зимівнику до кінця січня з подальшим її зниженням до $+10^{\circ}\text{C}$. Колоніям середньої сили оптимально підтримувати нижчу температуру в зимівнику — близько $+5^{\circ}\text{C}$, що мінімізує зниження сили колоній у несприятливий пасивний період зимівлі. Запропонований температурний режим утримання *Apis mellifera* L. дозволить зменшити втрати колоній при виході з зимівлі та прискорить подальші темпи їх весняного розвитку, що водночас підвищить ефективність бджільництва.

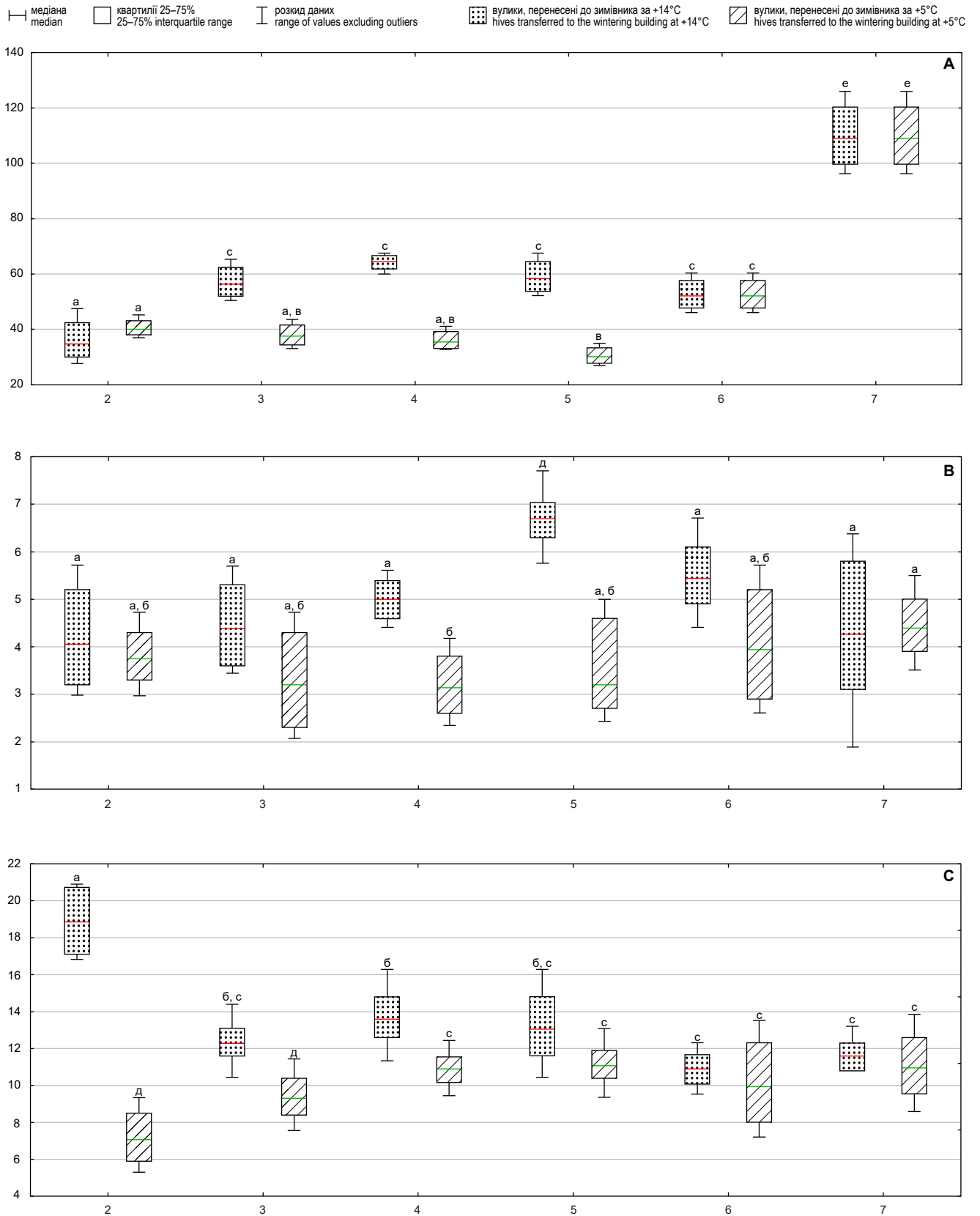


Рис. 4. Рівень ТБКАП ($\mu\text{M}/1$ г с. м.) у тканинах голови (А), грудей (В) та черевця (С) робочих бджіл *A. mellifera* за різних температурних умов зимівлі бджолиних колоній. Порядок відбору — вік бджіл: 2 — 95–105-денні, 3 — 109–119-денні, 4 — 123–133-денні, 5 — 137–147-денні, 6 — 151–161-денні, 7 — 165–175-денні.

Fig. 4. The level of TBARS ($\mu\text{mol}/\text{g}$ of tissue) in tissues of head (A), thorax (B) and abdomen (C) of worker bees *A. mellifera* at the different temperature conditions of wintering bee colonies. Selection procedure — age of bees: 2 — 95–105-day-old bees, 3 — 109–119-day-old-bees, 4 — 123–133-day-old-bees, 5 — 137–147-day-old-bees, 6 — 151–161-day-old-bees, 7 — 165–175-day-old-bees.

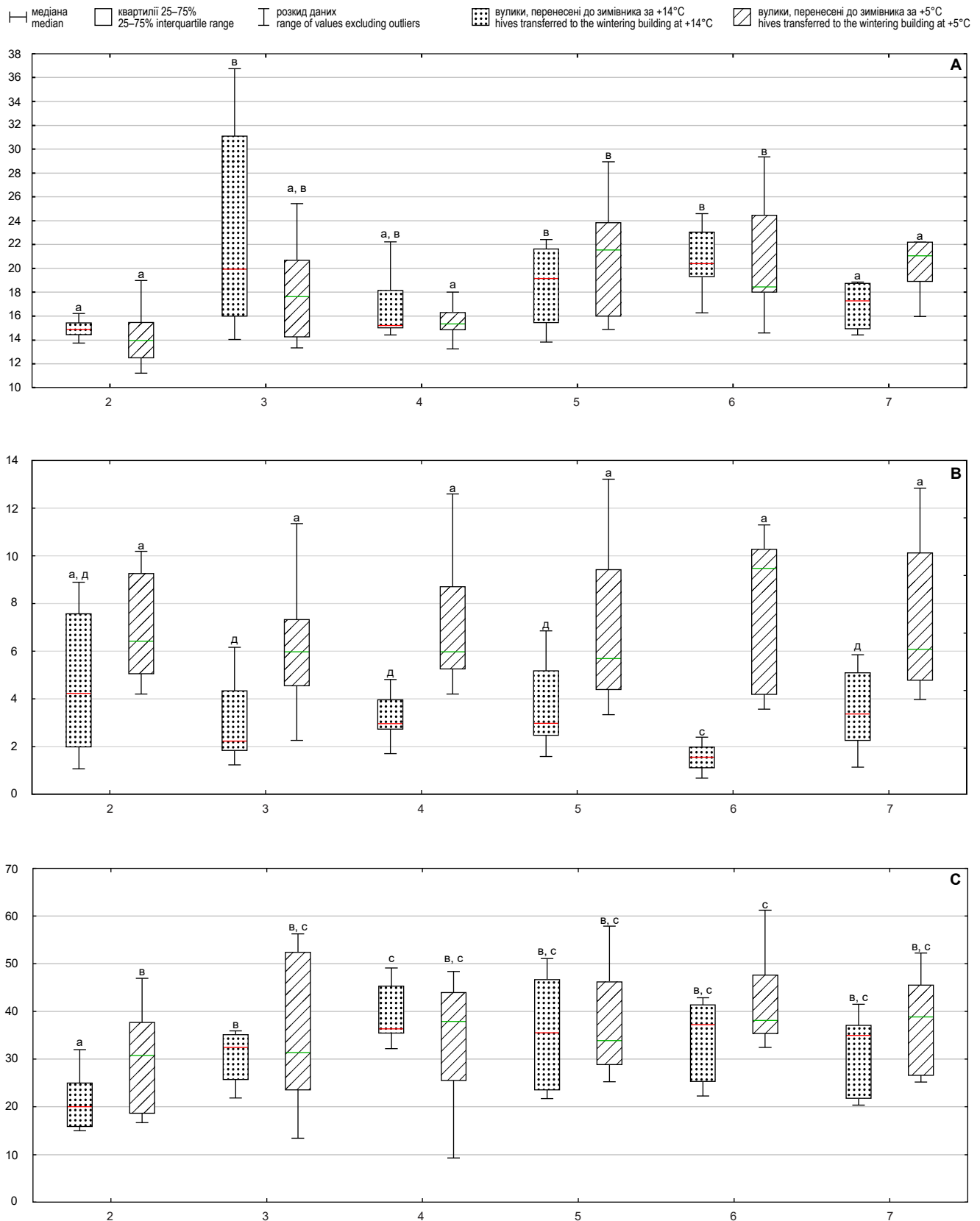


Рис. 5. Активність каталази (мкмоль/хв/мг протеїну) у тканинах голови (А), грудей (В) та черевця (С) робочих бджіл *A. mellifera* в за різних температурних умов зимівлі бджолиних колоній.

Порядок відбору — вік бджіл: 2 — 95–105-денні, 3 — 109–119-денні, 4 — 123–133-денні, 5 — 137–147-денні, 6 — 151–161-денні, 7 — 165–175-денні.

Fig. 5. Catalase activity (µmol/min/mg prot) in tissues of head (A), thorax (B) and abdomen (C) of worker bees *A. mellifera* at the different temperature conditions of wintering bee colonies.

Selection procedure — age of bees: 2 — 95–105-day-old bees, 3 — 109–119-day-old bees, 4 — 123–133-day-old bees, 5 — 137–147-day-old bees, 6 — 151–161-day-old bees, 7 — 165–175-day-old bees.

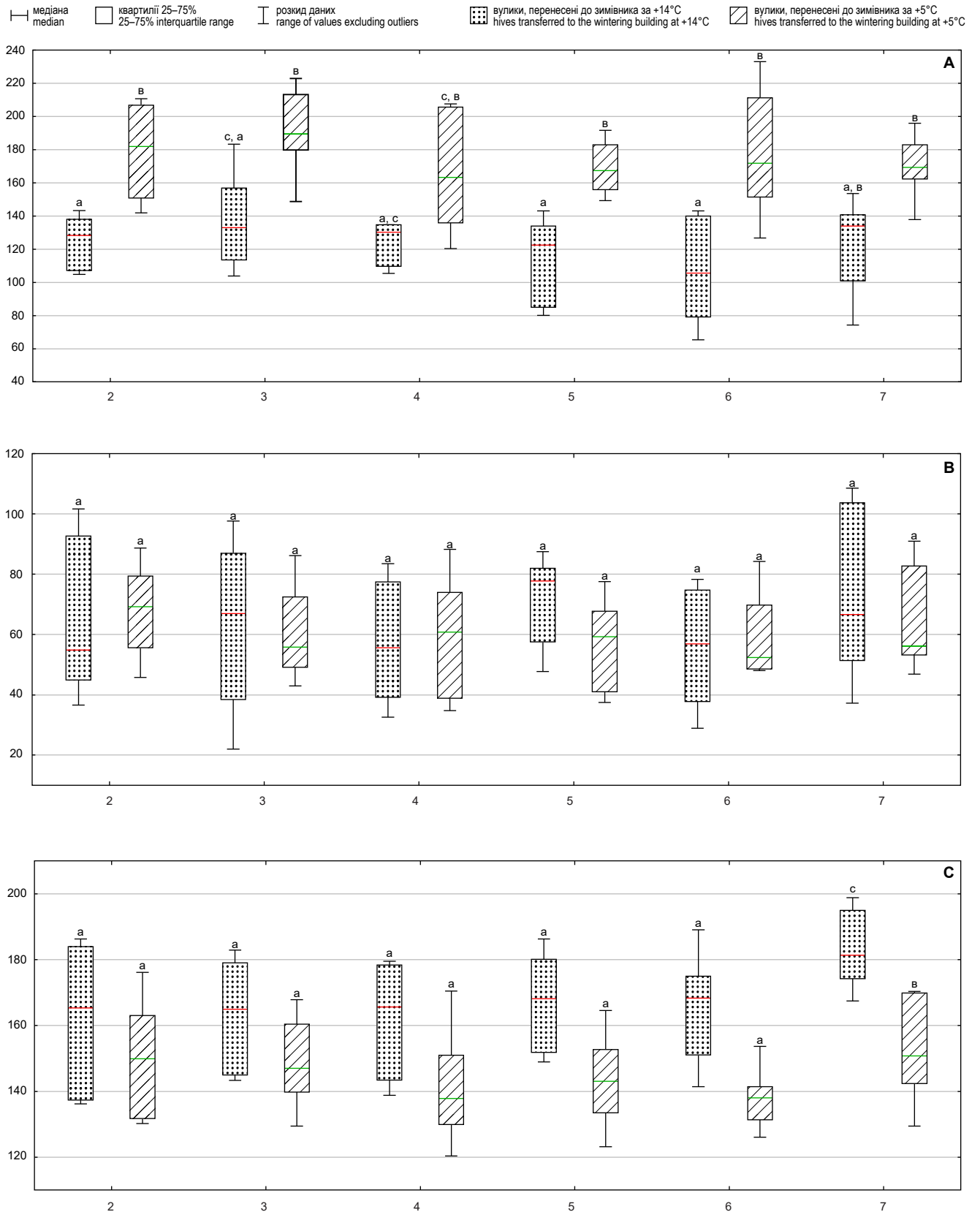


Рис. 6. Активність глутатіон-S-трансферази (µмоль/хв/мг протеїну) у тканинах голови (А), грудей (В) та черевця (С) робочих бджіл *A. mellifera* за різних температурних умов зимівлі бджолиних колоній.

Порядок відбору — вік бджіл: 2 — 95–105-денні, 3 — 109–119-денні, 4 — 123–133-денні, 5 — 137–147-денні, 6 — 151–161-денні, 7 — 165–175-денні.

Fig. 6. Glutathione-S-transferase activity (µmol/min/mg prot) in tissues of head (A), thorax (B) and abdomen (C) of worker bees *A. mellifera* at the different temperature conditions of wintering bee colonies.

Selection procedure — age of bees: 2 — 95–105-day-old bees, 3 — 109–119-day-old bees, 4 — 123–133-day-old bees, 5 — 137–147-day-old bees, 6 — 151–161-day-old bees, 7 — 165–175-day-old bees.

Висновки

1. Встановлено, що переведення бджолиних колоній з нестабільних температурних умов на сталі, незалежно від рівня температури ($14 \pm 0,8^\circ\text{C}$ та $5 \pm 0,6^\circ\text{C}$), призводить до зменшення інтенсивності перекисного окислення ліпідів (рівня ТБКАП) на тлі зростання активності ензимів антиоксидантної системи (каталази та глутатіон-S-трансферази).

2. Виявлено тагмоспецифічну відповідь антиоксидантної системи захисту організму медоносних бджіл залежно від температури зимівлі.

3. Встановлено, що зимівля бджолиних колоній у приміщенні за сталих температур впродовж грудня-лютого супроводжується взаємоузгодженістю в роботі антиоксидантної системи робочих бджіл, що відображають константи значення вмісту ТБКАП та активності ензимів. Водночас наприкінці досліду, незалежно від температури в приміщенні, у тканинах голови бджіл вміст ТБКАП зростає, а в тканинах черевця підвищувалась активність GST, що виявляє посилення стресового навантаження.

4. Показано, що в середині зими (січень), рівень ТБКАП у тканинах усіх тагм бджіл, які утримувались за $t = 5^\circ\text{C}$, був меншим у порівнянні з утриманням бджіл за $t = 14^\circ\text{C}$. Проте, активність каталази в тканинах грудей бджіл, що зимували за $t = 5^\circ\text{C}$ була вищою, ніж у бджіл за $t = 14^\circ\text{C}$, що дозволяє бджолам підтримувати необхідний рівень фізіологічних процесів у пасивний період зимівлі.

Перспективи подальших досліджень

Дослідити в лабораторних умовах стан антиоксидантної системи невеликого кластеру бджіл (до 300 особин) за умов низькотемпературного стресу.

Автори висловлюють щире подяку професору Ірині Ігорівні Панчук за слушні зауваження та побажання, надані при обговоренні отриманих результатів.

1. Abou-Shaara HF, Owayss AA, Ibrahim YY, Basuny NK. A review of impacts of temperature and relative humidity on various activities of honey bees. *Insectes Sociaux*. 2017; 64 (4): 455–463. DOI: 10.1007/s00040-017-0573-8.
2. Aebi H. Catalase *in vitro*. *Methods Enzymol*. 1984; 105: 121–126. DOI: 10.1016/S0076-6879(84)05016-3.
3. Anderson KE, Ricigliano VA. Honey bee gut dysbiosis: a novel context of disease ecology. *Curr. Opin Insect Sci*. 2017; 22: 125–132. DOI: 10.1016/j.cois.2017.05.020.
4. Aurori CM, Buttstedt A, Dezmierean DS, Mărghitaș LA, Moritz RFA, Erler S. What is the main driver of ageing in long-lived winter honeybees: antioxidant enzymes, innate immunity, or vitellogenin? *J. Gerontol. A*. 2014; 69 (6): 633–639. DOI: 10.1093/geronol/glt134.
5. Badiou-Bénéteau A, Carvalho SM, Brunet JL, Carvalho GA, Buleté A, Giroud B, Belzunces LP. Development of biomarkers of exposure to xenobiotics in the honey bee *Apis mellifera*: application to the systemic insecticide thiamethoxam. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 2012; 82: 22–31. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2012.05.005.
6. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of

- protein-dye binding. *Analyt. Biochem*. 1976; 72 (1–2): 248–254. DOI: 10.1016/0003-2697(76)90527-3.
7. Cervoni MS, Cardoso-Júnior CAM, Craveiro G, Souza AO, Alberici LC, Hartfelder K. Mitochondrial capacity, oxidative damage and hypoxia gene expression are associated with age-related division of labor in honey bee (*Apis mellifera* L.) workers. *J. Exp. Biol*. 2017; 220 (21): 4035–4046. DOI: 10.1242/jeb.161844.
8. Corona M, Robinson GE. Genes of the antioxidant system of the honey bee: annotation and phylogeny. *Insect Mol. Biol.* 2006; 15 (5): 687–701. DOI: 10.1111/j.1365-2583.2006.00695.x.
9. Di Pasquale G, Salignon M, Le Conte Y, Belzunces LP, Decourtye A, Kretzschmar A, Suchail S, Brunet JL, Alaux C. Influence of pollen nutrition on honey bee health: Do pollen quality and diversity matter? *PLoS One*. 2013; 8 (8): e72016. DOI: 10.1371/journal.pone.0072016.
10. Döke MA, Frazier M, Grozinger CM. Overwintering honey bees: biology and management. *Curr. Opin. Insect Sci*. 2015; 10: 185–193. DOI: 10.1016/j.cois.2015.05.014.
11. Fedoriak MM, Tymochko LI, Kulmanov OM, Volkov RA, Rudenko SS. Winter losses of honey bee (*Apis mellifera* L.) colonies in Ukraine (monitoring results of 2015–2016). *Ukr. J. Ecol*. 2017; 7 (4): 604–613. DOI: 10.15421/2017_167.
12. Fedoriak MM, Tymochko LI, Kulmanov OM, Shkrobanets OO, Zhuk AV, Dron YS, Deli OF, Podobivskiy SS, Melnychenko GM, Leheta UV, Kholivchuk AM. Results of annual honey bee colony losses survey in Ukraine: winter 2017–2018. *Biol. Sys*. 2019; 11 (1): 60–70. DOI: 10.31861/biosystems2019.01.060. (in Ukrainian)
13. Grotto D, Santa Maria L, Valentini J, Paniz C, Schmitt G, Garcia SC, Pombum VJ, Rocha JBT, Farina M. Importance of the lipid peroxidation biomarkers and methodological aspects for malondialdehyde quantification. *Quim. Nova*. 2009; 32 (1): 169–174. DOI: 10.1590/S0100-40422009000100032.
14. Hatjina F, Costa C, Büchler R, Uzunov A, Drazic M, Filipi J, Charistos L, Ruottinen L, Andonov S, Meixner MD, Bienkowska M, Darisuz G, Panasiuk B, Le Conte Y, Wilde J, Berg S, Bouga M, Dyrba W, Kiprijanovska H, Korpela S, Kryger P, Lodesani M, Pechhacker H, Petrov P, Kezic N. Population dynamics of European honey bee genotypes under different environmental conditions. *J. Apicult. Res*. 2014; 53 (2): 233–247. DOI: 10.3896/IBRA.1.53.2.05.
15. Helmer SH, Kerbaol A, Aras P, Jumarie C, Boily M. Effects of realistic doses of atrazine, metolachlor, and glyphosate on lipid peroxidation and diet-derived antioxidants in caged honey bees (*Apis mellifera*). *Environ. Sci. Pollut. Res*. 2015; 22 (11): 8010–8021. DOI: 10.1007/s11356-014-2879-7.
16. Hroncova Z, Havlik J, Killer J, Doskocil I, Tyl J, Kamler M, Titera D, Haki J, Mrazek J, Bunesova V, Rada V. Variation in honey bee gut microbial diversity affected by ontogenetic stage, age and geographic location. *PLoS ONE*. 2015; 10 (3): e0118707. DOI: 10.1371/journal.pone.0118707.
17. Huey RB, Berrigan D. Temperature, demography, and ectotherm fitness. *Am. Nat.* 2001; 158 (2): 204–210. DOI: 10.1086/321314.
18. Karavan VV, Tsaruk VI, Cherevatov VF, Yazlovytska LS. The glutathione-S-transferase activity of *Apis mellifera* L. upon summer feeding with varying carbohydrates diets *Biol. Sys*. 2018; 10 (1): 20–28. (in Ukrainian)
19. Komissar AD. *High-temperature wintering of honey bees*. Kyiv, NPP Laboratory of Biotechnology, Schmalhausen Institute of Zoology, Academy of Sciences of Ukraine, 1994: 166 p. (in Ukrainian)
20. Komissar A. Thermoregulation of honey bees in winter by means of vertical movement in the hives with vertical gradient of temperature. *Proceedings of the 3rd European Congress on Social Insects*, Saint Petersburg, 2005: 78.
21. Kunc M, Dobeš P, Hurychová J, Vojtek L, Poiani SB, Danihák J, Havlík J, Titěra D, Hyršl P. The year of the honey bee (*Apis mellifera* L.) with respect to its physiology and immunity: A search for biochemical markers of longevity. *Insects*. 2019; 10 (8): 244. DOI: 10.3390/insects10080244.
22. Li G, Zhao H, Liu Z, Wang H, Xu B, Guo X. The wisdom of honeybee defenses against environmental stresses. *Front. Microbiol*. 2018; 9: 722. DOI: 10.3389/fmicb.2018.00722.
23. Münch D, Arndam GV. The curious case of aging plasticity in honey bees. *FEBS Letters*. 2010; 584 (12): 2496–2503. DOI: 10.1016/j.febslet.2010.04.007.

24. Nikolenko AG, Saltykova ES, Gaifullina LR. Molecular mechanisms of antioxidant protective processes in honeybee *Apis mellifera*. In: Farooqui T. *Oxidative stress in vertebrates and invertebrates: molecular aspects on cell signaling*. Ed. by T. Farooqui, A. A. Farooqui. New Jersey; John Wiley & Sons. 2012 (20); 279–294. DOI: 10.1002/9781118148143.ch20.
25. Nürnberg F, Härtel S, Steffan-Dewenter I. The influence of temperature and photoperiod on the timing of brood onset in hibernating honey bee colonies. *Peer J*. 2018; 6: e4801. DOI: 10.7717/peerj.4801.
26. Papandopoulos AI, Polemitou I, Laifi P, Yiango A, Tananaki C. Glutathione S-transferase in the insect *Apis mellifera macedonica*: Kinetic characteristic and effect of stress on the expression of GST isoenzymes in the adult worker bee. *Comp. Biochem. Physiol. C. Toxicol. Pharmacol.* 2004; 139 (1–3): 93–97. DOI: 10.1016/S1532-0456(04)00180-2.
27. Placer ZA, Cushman LL, Johnson BC. Estimation of product of lipid peroxidation (malonyl dialdehyde) in biochemical systems. *Analyt. Biochem.* 1966; 16 (2): 359–364. DOI: 10.1016/0003-2697(66)90167-9.
28. Polischuk VP, Gaidar VA. *Apiary*. Kyiv, Perfect Style Ltd., 2008: 258 p. (in Ukrainian)
29. Ruttner F. *Biogeography and taxonomy of honeybees*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg and New York 1988: 291 p. DOI: 10.1007/978-3-642-72649-1.
30. Seeley TD, Visscher PK. Survival of honeybees in cold climates: the critical timing of colony growth and reproduction. *Ecol. Entomol.* 1985; 10 (1): 81–88. DOI: 10.1111/j.1365-2311.1985.tb00537.x.
31. Southwick EE. Allometric relations, metabolism and heart conductance in clusters of honey bees at cool temperatures. *J. Comp. Physiol. B*. 1985; 156: 143–149. DOI: 10.1007/BF00692937.
32. Stabentheiner A, Kovac H, Brodschneider R. Honeybee colony thermoregulation — regulatory mechanisms and contribution of individuals in dependence on age, location and thermal stress. *PLoS ONE*. 2010; 5 (1): e8967. DOI: 10.1371/journal.pone.0008967.
33. Stabentheiner A, Pressl H, Papst T, Hrassnigg N, Crailsheim K. Endothermic heat production in honeybee winter clusters. *J. Exp. Biol.* 2003; 206 (2): 353–358. DOI: 10.1242/jeb.00082.
34. Stalidzans E, Markovics Z, Krauze A, Bilinskis V, Berzonis A. Modeling of bee wintering building profitability. *J. Apicult. Sci.* 2007; 51 (2): 39–45. Available at: http://www.jas.org.pl:81/pdf/128?filename=jas_51_2_2007_5.pdf
35. Stalidzans E, Zacepins A, Kviess A, Brusbardis V, Meitalovs J, Paura L, Bulipopa N, Liepniece M. Dynamics of weight change and temperature of *Apis mellifera* (*Hymenoptera: Apidae*) colonies in a wintering building with controlled temperature. *J. Econom. Entomol.* 2017; 110 (1): 13–23. DOI: 10.1093/jee/tow282.
36. Switanek M, Crailsheim K, Truhetz H, Brodschneider R. Modelling seasonal effects of temperature and precipitation on honey bee winter mortality in a temperate climate. *Sci. Total Environ.* 2017; 579: 1581–1587. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2016.11.178.
37. Trapp J, McAfee A, Foster LJ. Genomics, transcriptomics and proteomics: enabling insights into social evolution and disease challenges for managed and wild bees. *Mol. Ecol.* 2017; 26 (3): 718–739. DOI: 10.1111/mec.13986.
38. Wallberg A, Han F, Wellhagen G, Dahle B, Kawata M, Haddad N, Simões ZLP, Allsopp MH, Kandemir I, de la Rúa P, Pirk CW, Webster MT. A worldwide survey of genome sequence variation provides insight into the evolutionary history of the honeybee *Apis mellifera*. *Nature Genet.* 2014; 46: 1081–1088. DOI: 10.1038/ng.3077.
39. Wang K, Liu ZG, Pang Q, Zhang WW, Chen XM, Fan RL, Yin L, Ji T. Investigating the regulation of hypopharyngeal gland activity in honeybees (*Apis mellifera carnica*) under overwintering conditions via morphologic analysis combined with iTRAQ-based comparative proteomics. *Ann. Entomol. Soc. Amer.* 2018; 111 (3): 127–135. DOI: 10.1093/aesa/say012.
40. Weather archive in Chernivtsi. Ukrainian Hydrometeorological Center. Information server. Available at: <https://meteo.gov.ua/en//33658>
41. Winston ML. *The biology of the honey bee*. Harvard University Press, 1991: 294 p.
42. Yan H, Meng F, Jia H, Guo X, Xu B. The identification and oxidative stress response of a zeta class glutathione S-transferase (GSTZ1) gene from *Apis cerana cerana*. *J. Insect Physiol.* 2012; 58 (6): 782–791. DOI: 10.1016/j.jinsphys.2012.02.003.
43. Yazlovitska LS, Kosovan MD, Cherevatov VF, Volkov RA. The catalase activity of *Apis mellifera* L. upon summer feeding with varying carbohydrate diet. *Biol. Sys.* 2016; 8 (2): 182–188. DOI: 10.31861/biosystems2016.02.182.(in Ukrainian)
44. Yeskov YK. *The microclimate of the bee dwelling*. Moscow, Rosselhozizdat, 1983: 192 p. (in Russian)
45. Zacepins A. Application of bee hive temperature measurements for recognition of bee colony state. *Proc. AICT2012*, Jelgava, 2012: 216–221.

Influence of wintering temperature on the state of the antioxidative system in *Apis mellifera* L.

V. V. Karavan, D. Yu. Kachmaryk, V. F. Cherevatov, L. S. Yazlovitska
l.yazlovitska@chnu.edu.ua

Yuriy Fedkovych Chernivtsi National University,
2 Kotsyubynsky str., Chernivtsi, 58012, Ukraine

The state of the antioxidant system of protection of honey bees *Apis mellifera carnica* under the action of different temperatures in order to optimize the temperature regime to keep of bee colonies indoors during the winter was studied. Bee colonies of 81–91-day-old worker bees were transferred from the territory of the Yuriy Fedkovych Chernivtsi National University apiary during the period of sharp changes in temperature (the end of November) in constant conditions of the buildings ($5\pm 0.6^\circ\text{C}$ and $14\pm 0.8^\circ\text{C}$) and were kept there for 12 weeks. The selection of worker bees for biochemical analysis was performed 7 times every two weeks. The level of TBA-active products (TBARS), catalase (CAT) and glutathione-S-transferase (GST) activity in insect tagmas (head, thorax and abdomen) were studied. It has been found that the transfer of bee colonies from unstable temperature conditions to stable ones, regardless of their value, leads to a decrease in the flow rate of lipid peroxidation (TBRAS level) against the background of increasing activity of enzymes (CAT та GST). The tagmospecific response of the antioxidant system of honey bees depending on the wintering temperature was revealed. Keeping bee colonies indoors at constant temperatures (for ten weeks) was accompanied by certain coherence in the work of the antioxidant system of insects. In particular, the TBRAS level, as well as the activity of enzymes, did not change significantly during the study. However, in early February (at the end of the experiment), regardless of the building temperature, the TBARS level was increased in the tissues of the bee's head, and in the tissues of the abdomen the GST activity was intensified. At the same time, in the middle of winter (on January), the level of TBARS in bees, that were kept at $+5^\circ\text{C}$, was lower in comparison with bees that wintered at $+14^\circ\text{C}$. The optimal temperatures for keeping bee colonies in winter indoors was proposed: for bee colonies of medium strength at temperatures around $+5^\circ\text{C}$, and for bee colonies of weak strength around $+14^\circ\text{C}$ by the end of January with further temperature decrease to $+10^\circ\text{C}$.

Key words: *Apis mellifera*, wintering building, temperature, catalase, glutathione-S-transferase, TBARS