



Науковий вісник Львівського національного університету  
ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького.  
Серія: Сільськогосподарські науки

Scientific Messenger of Lviv National University  
of Veterinary Medicine and Biotechnologies.  
Series: Agricultural sciences

ISSN 2519–2698 print

<https://nvlvet.com.ua/index.php/agriculture>

doi: 10.32718/nvlvet-a9122

UDC 638.12:612.397:57.086.8:577.12:664.641.2

## The influence of citrates Ag and Cu on the lipid composition of the tissues of the honey bees body and bee bread under the condition of their added to the feeding in the spring period

I.I. Dvylyuk<sup>1,2</sup>, I.I. Kovalchuk<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institute of Animal Biology of NAAS, Lviv, Ukraine

<sup>2</sup>Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies Lviv, Ukraine

### Article info

Received 24.09.2019

Received in revised form

23.10.2019

Accepted 24.10.2019

Institute of Animal Biology of  
NAAS, V. Stus Str., 38, Lviv,  
79034, Ukraine.  
Tel.: +38-050-370-74-11  
E-mail: [dvylyuk\\_ivanna@ukr.net](mailto:dvylyuk_ivanna@ukr.net)

Stepan Gzhytskyi National  
University of Veterinary Medicine  
and Biotechnologies Lviv,  
Pekarskaya Str., 50, Lviv,  
79010, Ukraine.

**Dvylyuk, I.I., & Kovalchuk, I.I. (2019). The influence of citrates Ag and Cu on the lipid composition of the tissues of the honey bees body and bee bread under the condition of their added to the feeding in the spring period. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Agricultural sciences, 21(91), 123–127. doi: 10.32718/nvlvet-a9122**

Experimental data of the lipid composition of the honey bees and bee bread in the spring period under the conditions of feeding sugar syrup with Ag and Cu citrates are presented in the article. The studies were conducted on 3 groups of bee colonies, three bee colonies each. Control group (I) received sugar syrup at a concentration of 1:1 (1000 ml per week), experimental (II) group received under similar conditions with sugar syrup 0.2 mg of Argentum and 0.2 mg of Cuprum in citrate form. The third experimental group was fed with sugar syrup Ag and Cu citrates at doses of 0.5 mg each per 1000 ml of sugar syrup per week. The study was lasted 36 days. Samples of tissues of the whole organism of honey bees in the amount of 30–35 pieces were selected for the study. from each bee colony and bee bread to determine the total lipid content by the Folch method and their separate fractions: phospholipids, mono- and diacylglycerols, free cholesterol, non-esterified fatty acids, triacylglycerols, esterified cholesterol glycol cholesterol using thin layer chromatography using silica gel plates Sorbfil. According to the results of the research, we found intergroup differences of total lipid content in the tissues of whole organism of the honey bees and bee bread of experimental groups in comparison with the control group. Higher levels of phospholipids, esterified cholesterol, and lower levels of free cholesterol, mono- and diacylglycerols and triacylglycerols were found in the tissue of bees II and III of the experimental group. Introduction of Ag and Cu citrates into the components of bee feeding in the bee bread the level of phospholipids ( $P < 0.01$ ), mono and diacylglycerols (group III), triacylglycerols increased against the decrease of free cholesterol ( $P < 0.05$ ) and esterified cholesterol ( $P < 0.01$ ).

**Key words:** honey bee, bee bread, lipids, silver and copper nanoparticles citrate-based.

## Вплив цитратів Ag і Cu на ліпідний склад тканин організму бджіл та перги за умов їх введення до підгодівлі у весняний період

I.I. Двильюк<sup>1,2</sup>, I.I. Ковальчук<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Інститут біології тварин НААН, м. Львів, Україна

<sup>2</sup>Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького, м. Львів, Україна

У статті подано експериментальні дані ліпідного складу організму медоносних бджіл та перги у весняний період за умов згодовування цукрового сиропу із цитратами Ag і Cu. Дослідження проведені на 3 групах бджолиних сімей по три бджолосім'ї у кожній. Контрольна група (I) отримувала цукровий сироп у концентрації 1:1 (1000 мл на тиждень), дослідна (II) група отримувала за аналогічних умов з цукровим сиропом 0,2 мг Аргентуму і 0,2 мг Купруму у цитратній формі. Третій дослідній групі згодовува-

ли з цукровим сиропом цитрати Ag і Cu в дозах 0,5 мг кожного на 1000 мл цукрового сиропу на тиждень. Дослідження тривали 36 діб. Для дослідження відбирали зразки тканин цілого організму медоносних бджіл в кількості 30–35 шт. з кожної бджолиної сім'ї та перги для визначення вмісту загальних ліпідів за методом Фолча та окремих їх фракцій: фосфоліпідів, моно- і диацилгліцеролів, вільного холестеролу, неетерифікованих жирних кислот, триацилгліцеролів, етерифікованого холестеролу за допомогою тонкошарової хроматографії з використанням силікагелевих пластин Sorbfil (ПТСХ-П-А). За результатами досліджень встановлено міжгрупові різниці вмісту загальних ліпідів у тканинах цілого організму медоносних бджіл та у перзі дослідних груп порівняно до контрольної групи. У ліпідах тканин бджіл II і III дослідної групи встановлено вищий вміст фосфоліпідів, етерифікованого холестеролу та зниження вмісту вільного холестеролу, моно- та диацилгліцеролів та триацилгліцеролів. За введення цитратів Ag і Cu до компонентів підгодівлі бджіл у перзі зростає рівень фосфоліпідів ( $P < 0,01$ ), моно і диацилгліцеролів (III група), триацилгліцеролів на тлі зменшення вільного холестеролу ( $P < 0,05$ ) і етерифікованого холестеролу ( $P < 0,01$ ).

**Ключові слова:** бджоли, перга, ліпіди, цитрат Аргентуму, цитрат Купруму, нанотехнології.

## Вступ

Для стимуляції весняного розвитку бджолиних сімей, підвищення їх продуктивності та резистентності до різних захворювань в практичному бджільництві використовуються різні стимулюючі препарати, в тому числі з додаванням мікроелементів (Alaux et al., 2010; Anđelković et al., 2011; Kalashnikova, & Sidorova, 2016). Доведено, що для нормального розвитку однієї личинки бджоли необхідно 125–185 мг перги. Перга як продукт переробки бджолами пилку і меду забезпечує організм бджіл білками, ліпідами, вітамінами і мікроелементами (Manning, 2016). Аналіз літератури свідчить про різну біологічну цінність перги, зокрема, відмінності у біохімічному складі у різні періоди медозбору, залежно від виду і складу рослин, ґрунтів, зон утримання бджолиних сімей та інших факторів (Madras-Majewska et al., 2009; Ulutaş & Özkirim, 2018).

За умов недостатнього надходження пилку, як природного корму, бджоли витрачають метаболічні запаси власного тіла. Відзначається пряма кореляція між споживанням бджолами цукрового сиропу і перги. Це зумовлює одночасне збільшення вмісту ліпідів, білка і мікроелементів в організмі, або їх зменшення за умов відсутності перги. Власне ліпіди формують групу сполук, що входять до складу всіх живих організмів і забезпечують важливу біоенергетичну і пластичну функції, а також є складовою структурних елементів клітин (переважно мембран) і забезпечують активний транспорт молекул та йонів (Manning et al., 2007; Kather et al., 2011; Sinclair & Marshall, 2018). Динаміка вмісту ліпідів та інтенсивність їх обміну в організмі бджіл є важливим показником, який характеризує його функціональний стан (Larionova, 2005; Kovalska et al., 2009). Під впливом ферменту ліпази у середній кишці бджіл вони розщеплюються до жирних кислот, які використовуються для виробництва залозами молочка, воску, відкладання про запас енергетичного матеріалу, фізіологічних і біохімічних процесів у клітинах.

Варто зазначити, що підгодівля бджіл тільки цукровим сиропом без ліпідних і мінеральних добавок у весняний період, коли розпочинається інтенсивне розмноження бджолиних сімей, завдає значної шкоди пасікам. З метою недопущення таких втрат і зниження біологічної цінності продукції використовується підгодівля бджолиних сімей заміниками перги, або її доповнювачами, у тому числі з введенням мікроелементів. Доведено, що окремі біогенні мінеральні ре-

човини в організмі бджіл навіть у незначних концентраціях, відіграють винятково важливу біологічну роль.

Вивченню метаболізму жирів у комах приділяється велика увага протягом багатьох років, проте вплив мінеральних елементів підгодівлі бджіл недостатньо вивчено (Pashchenko et al., 2004; Fedoruk & Romaniv, 2014; Fedoruk & Romaniv, 2014; Romaniv et al., 2018). Зокрема, у літературі відсутні дані щодо біологічної дії цитратів Ag і Cu, отриманих з використанням нанотехнології, на організм бджіл та якість їх продукції (Mamonova et al., 2013; Rai et al., 2014; Samantarai & Achakzai, 2014; Sharma et al., 2014; Trofimova, 2015; Hladun et al., 2016; Feregrino-perez et al., 2018; Chen, 2018).

Тому, метою наших досліджень було вивчення особливостей ліпідного складу та їх окремих фракцій в тканинах організму медоносних бджіл та перзі за підгодівлі цукровим сиропом із цитратами Ag і Cu.

## Матеріал і методи досліджень

Дослідження проведені на пасіці ЛНУВМ та БТ ім. С.З. Гжицького на 3 групах бджолиних сімей, по три бджолосім'ї у кожній (групи сформовані по принципу аналогів). Контрольна група (I) отримувала підгодівлю цукровим сиропом (1000 мл/тиждень/бджолосім'ю), II дослідна група – за аналогічних умов отримувала цукровий сироп з додаванням до нього 0,2 мг Ag і 0,2 мг Cu у вигляді цитрату, III дослідна група – за аналогічних умов отримувала Ag і Cu у вигляді цитрату в дозах 0,5 мг кожного на 1000 мл цукрового сиропу на бджолосім'ю. Тривалість досліду становила 36 діб з інтервалом підгодівлі 7 діб. Мікроелементи додавали до цукрового сиропу у вигляді цитратів, що отримані від ТОВ “Наноматеріали і нанотехнології” м. Київ і виготовлені методом нанобіотехнології (М.В. Косінов, В.Г. Каплуненко).

Для дослідження у весняний період відбирали зразки бджіл та перги з вуликів контрольної та дослідних груп. Зразки відбирали в кількості 90–100 бджіл з кожної групи, по 30–35 комах з бджолосім'ї, які використовували для приготування гомогенату тканин цілого організму медоносних бджіл. У зразках тканин бджіл та перги визначали вміст загальних ліпідів за методом Фолча (Hladun et al., 2016). Співвідношення окремих фракцій ліпідів: фосфоліпідів (ФЛ), моно- і диацилгліцеролів (МДАГ), вільного холестеролу (ВХ), неетерифікованих жирних кислот (НЕЕЖК), триацилгліцеролів (ТГ), етерифікованого

холестеролу (EX) досліджували за допомогою тонкошарової хроматографії з використанням силікагелевих пластин Sorbfil (ПТСХ-П-А) з подальшим вимірюванням показників оптичної густини у дослідних зразках тканин на спектрофотометрі СФ-46 при довжині хвилі 440 нм. Одержані числові дані опрацьовані за допомогою стандартного пакету статистичних програм Microsoft EXCEL 7.

## Результати та їх обговорення

Результати досліджень вмісту загальних ліпідів в тканинах цілого організму медоносних бджіл вказують на міжгрупові різниці вмісту загальних ліпідів та їх окремих фракцій за комплексної підгодівлі цитратами Ag і Cu з цукровим сиропом у весняний період (табл.1).

**Таблиця 1**

Вміст загальних ліпідів та співвідношення окремих класів у тканинах цілого організму медоносних бджіл за умов згодовування цитратів Ag і Cu, % (M ± m, n = 3)

Класи ліпідів	Групи медоносних бджіл		
	I	II	III
Загальні ліпіди г/%	3,10 ± 0,12	3,17 ± 0,15	3,37 ± 0,12
Фосфоліпіди	21,62 ± 0,63	22,97 ± 0,69	22,69 ± 0,69
Моно- і диацилгліцероли	16,70 ± 0,10	16,57 ± 0,67	14,40 ± 0,50**
Вільний холестерол	16,34 ± 0,38	15,65 ± 0,57	14,92 ± 0,43*
НЕЖК	16,60 ± 0,43	15,28 ± 0,50	17,87 ± 0,43
Триацилгліцероли	15,32 ± 0,44	15,29 ± 0,84	14,44 ± 0,41
Етерифікований холестерол	12,91 ± 0,54	14,23 ± 1,67	15,68 ± 0,93*

*Примітка:* у цій і наступних таблицях вірогідні різниці II і III дослідних груп порівняно до контрольної I групи, \* – P < 0,05, \*\* – P < 0,001, \*\*\* – P < 0,001

Зокрема, відзначено вірогідне зниження вмісту моно- і диацилгліцеролів (P < 0,01) та вільного холестеролу (P < 0,05) у тканинах бджіл III дослідної групи порівняно до контрольної групи. Відносний вміст триацилгліцеролів виявляв зниження у тканинах бджіл III групи, проте різниця була не вірогідна. Це вказує на оптимізуючий вплив комплексної підгодівлі бджіл цукровим сиропом і цитратами Ag і Cu на біосинтез і депонування триацилгліцеролів у тканинах організму.

Вплив аліментарних чинників на відносний вміст НЕЖК не виявляв чіткої залежності. Зокрема у бджіл II групи рівень НЕЖК зменшувався, але зростав у III групі порівняно до контрольної групи, проте різниці були не вірогідні.

Компоненти підгодівлі зумовлювали підвищення відносного вмісту етерифікованого холестеролу у ліпідах тканин II і III (P < 0,05) дослідних груп. Отри-

мані дані мажуть вказувати на визначальний вплив цитратів Ag і Cu на зростання етерифікації холестеролу в тканинах бджіл.

Підгодівля медоносних бджіл цитратами Ag і Cu зумовлювала зміни ліпідного складу їх продукції, в т.ч. перги. Аналіз отриманих результатів досліджень вказує на незначні відхилення показників вмісту загальних ліпідів у перзі II і III дослідних груп порівняно до контрольної групи (табл. 2). Більше виражені зміни встановлені щодо співвідношення окремих фракцій ліпідів перги за комплексного згодовування цитратів Ag і Cu. Зокрема, спостерігали вірогідно вищий вміст фосфоліпідів (P < 0,01) у зразках перги III дослідної групи порівняно до величини цього показника у контрольній групі. За вмістом моно- та диацилгліцеролів відзначено зростання у зразках перги III дослідної групи у 1,2 рази на тлі дещо нижчого вмісту у II дослідній групі порівняно до контролю.

**Таблиця 2**

Вміст загальних ліпідів та співвідношення окремих класів у перзі за умов згодовування цитратів Ag і Cu, % (M ± m, n = 3)

Класи ліпідів	Групи медоносних бджіл		
	I	II	III
Загальні ліпіди г/%	4,23 ± 0,15	4,20 ± 0,17	4,33 ± 0,15
Фосфоліпіди	27,97 ± 0,13	27,46 ± 0,27	30,13 ± 0,36**
Моно- і диацилгліцероли	14,36 ± 0,58	13,50 ± 0,28	15,50 ± 0,33
Вільний холестерол	12,92 ± 0,51	12,90 ± 0,25	11,25 ± 0,46*
НЕЖК	11,31 ± 0,42	10,90 ± 0,71	10,35 ± 0,58
Триацилгліцероли	19,12 ± 0,87	20,37 ± 0,27	19,90 ± 0,55
Етерифікований холестерол	14,32 ± 0,04	14,57 ± 0,57	12,86 ± 0,36**

Відносний вміст вільного холестеролу і етерифікованого холестеролу у ліпідах перги бджіл дослідних груп зберігав однакову залежність – суттєво не змінювався у II групі, але вірогідно зменшувався (P < 0,01) у III групі. Відзначена залежність змін вка-

заних фракцій свідчить про однаково направлену біологічну дію цитратів Ag і Cu з компонентами підгодівлі на співвідношення вільного холестеролу і етерифікованого холестеролу у ліпідах перги бджіл.

### Висновки

1. Комплексне згодовування з цукровим сиропом цитратів Ag і Cu у дозах 0,2 і 0,5 мг зумовлювало міжгрупові різниці вмісту загальних ліпідів та співвідношення окремих їх класів у тканинах цілого організму медоносних бджіл та перзі дослідних груп.
2. У ліпідах тканин бджіл II і III дослідної групи встановлено вищий вміст фосфоліпідів, естерифікованого холестеролу та зниження вмісту вільного холестеролу, моно- та диацилгліцеролів та триацилгліцеролів.
3. За введення цитратів Ag і Cu до компонентів підгодівлі бджіл у перзі зростав рівень фосфоліпідів ( $P < 0,01$ ), моно і диацилгліцеролів (III група), триацилгліцеролів на тлі зменшення вільного холестеролу ( $P < 0,05$ ) і естерифікованого холестеролу ( $P < 0,01$ ).

### References

- Alaux, C., Ducloz, F., Crauser, D., & Le Conte, Y. (2010). Diet effects on honeybee immunocompetence. *Biol. Lett.*, 6(4), 562–565. doi: 10.1098/rsbl.2009.0986.
- Anđelković, B., Jevtić, G., Mladenović, M., Petrović, M., & Vasić, T. (2011). Influence of spring feed on the strength of honey bee colonies during spring development. *Biotechnology in Animal Husbandry*, 27(4), 1757–1760. doi: 10.2298/BAH1104757A.
- Chen, H. (2018). Metal based nanoparticles in agricultural system: behavior, transport, and interaction with plants. *Chemical Speciation & Bioavailability*, 30(1), 123–134. doi: 10.1080/09542299.2018.1520050.
- Fedoruk, R.S., & Romaniv, L.I. (2014). Umist zahalnykh lipidiv u tkanynakh medonosnykh bdzhil za zghodovuvannia boroshna z bobiv natyvnoi ta henetychno modyfikovanoi soi. *Visnyk ahrarnoi nauky*, 1(731), 30–32 (in Ukrainian).
- Fedoruk, R.S., & Romaniv, L.I. (2014). Vmist zahalnykh lipidiv i spivvidnoshennia yikh fraktsii u tkanynakh medonosnykh bdzhil za zghodovuvannia boroshna natyvnoi soi z dodavanniam khlorydu ta tsytratu khromu. *Biologhiia tvaryn*, 16(1), 160–168 (in Ukrainian).
- Feregrino-perez, A.A., Magaña-lópez, E., Guzmán, C., & Esquivel, K. (2018). A general overview of the benefits and possible negative effects of the nanotechnology in horticulture. *Sci. Hortic.*, 238, 126–137. doi: 10.1016/j.scienta.2018.03.060.
- Hladun, K., Di, N., Liu, T.X., & Trumble, J. (2016). Metal contaminant accumulation in the hive: consequences for whole colony health and brood production in the honey bee (*Apis mellifera* L.). *Environ. Toxicol. Chem.*, 35(2), 322–329. doi: 10.1002/etc.3273.
- Kalashnikova, M.V., & Sidorova, K.A. (2016). Vozmozhnosti povysheniia biosuresnogo potentsiala pchel. *Molodoy uchenyy*, 12, 1083–1085 (in Russian).
- Kather, R., Drijfhout, F.P., & Martin, S.J. (2011). Task group differences in cuticular lipids in the honey bee *Apis mellifera*. *Journal of Chemical Ecology*, 37(2), 205–212. doi: 10.1007/s10886-011-9909-4.
- Kovalska, L.M., Kyryliv, Ya.I., & Kovalskiy, Yu.V. (2009). Lipidnyi sklad okremykh tkanyn medonosnykh bdzhil u vikovomu aspekti. *Naukovotekhnichniy biuletyn Instytutu biologii tvaryn Derzhavnogo naukovo-doslidnoho kontrolnoho instytutu vetpreparativ ta kormovykh dobavok*. Lviv, 10(1–2), 51 (in Ukrainian).
- Larionova, O.S. (2005). Dinamika sodержaniia zhira v organizme rabochih pchel v usloviyah estestvennoj sredy pri razlichnyh vidah podkormok i masse otvodstva v APK: tr. Vseros. NII kontrolja standartizacii i sertifikacii veterinarnykh preparatov, 88–89 (in Russian).
- Madras-Majewska, B., Zygmunt, Ja., & Gąbka, J. (2009). Effect of early supplemental feeding honeybee colonies with a substitute of bee bread made of pollen and honey on colony strength. *Naukovi visnyk LNUVMBT imeni S.Z. Gzhytskoho*, 11, 3(42), 337–341.
- Mamonova, I.A., Matasov, M.D., Babushkina, I.V., Losev, O.Je., Chebotareva, E.G., Gladkova, E.V., & Borodulina, E.V. (2013). Izuchenie fizicheskikh svoystv i biologicheskoy aktivnosti nanochastic medi. *Rossijskie nanotekhnologii*, 8(5–6), 25–29 (in Russian).
- Manning, R. (2016). Artificial feeding of honeybees based on an understanding of nutritional principles. *Animal Production Science*, 58(4), 689–703. doi: 10.1071/AN15814.
- Manning, R., Rutkay, A., Eaton, L., & Dell, B. (2007). Lipid-enhanced pollen and lipid-reduced flour diets and their effect on the longevity of honeybees (*Apis mellifera* L.). *Australian Journal of Entomology*, 46, 251–257. doi: 10.1111/j.1440-6055.2007.00598.x.
- Pashchenko, A.H., Kovalchuk, I.I., & Romaniv, L.I. (2017). Vmist zahalnykh lipidiv i spivvidnoshennia okremykh yikh klasiv u tkanynakh orhanizmu ta produktsii medonosnykh bdzhil za umov pidhodivli tsytratamy kobaltu ta nikeliu. *Visnyk Zhytomyrskoho natsionalnoho ahroekolohichnoho universytetu*. Zhytomyr, 3, 2(63), 143–148 (in Ukrainian).
- Rai, M., Kon, K., Ingle, A., Duran, N., Galdiero, S., & Galdiero, M. (2014). Broad-spectrum bioactivities of silver nanoparticles: the emerging trends and future prospects. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 98(5), 1951–1961. doi: 10.1007/s00253-013-5473-x.
- Romaniv, L.I., Kovalchuk, I.I., Fedoruk, R.S., & Pashchenko, A.H. (2018). Umist lipidiv u tkanynakh orhanizmu medonosnykh bdzhil za zghodovuvannia boroshna soi, tsukrovoho syropu i tsytrativ Co ta Ni. *Biologhiia tvaryn*, 20(3), 84–92 (in Ukrainian).
- Samantarai, S.K., & Achakzai, A.K.K. (2014). Application of nanotechnology in agriculture and food production: opportunity and challenges. *Middle-East J. Sci.*, 22, 499–501.
- Sharma, V.K., Siskova, K.M., Zboril, R. et al. (2014). Organic-coated silver nanoparticles in biological and environmental conditions: fate, stability and toxicity. *Adv Colloid Interface Sci.*, 204, 15–34. doi: 10.1016/j.cis.2013.12.002.
- Sinclair, B.J., & Marshall, K.E. (2018). The many roles of fats in overwintering insects. *Journal of Experimental Biology*, 221: jeb161836. doi: 10.1242/jeb.161836.

- Trofimova, S.A. (2015). Metodologicheskie podhody k ocenke biologicheskogo dejstvija nanomaterialov. *Journal of Biomedical Technologies*, 1, 38–44. doi: 10.15393/j6.art.2015.3283 (in Russian).
- Ulutaş, K., & Özkirim, A. (2018). Importance of Nutrition for Honey Bee Health. *Mellifera*, 18(1), 30–35. <https://dergipark.org.tr/en/download/article-file/586520>.
- Zarić, N.M., Ilijević, K., Stanisavljević, L., & Gržetić, I. (2016). Metal concentrations around thermal power plants, rural and urban areas using honeybees (*Apis mellifera* L.) as bioindicators. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 13(2), 413–422. doi: 10.1007/s13762-015-0895-x.