

Науковий вісник Львівського національного університету
ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького.

Серія: Ветеринарні науки

Scientific Messenger of Lviv National University
of Veterinary Medicine and Biotechnologies.

Series: Veterinary sciences

ISSN 2518–7554 print

ISSN 2518–1327 online

doi: 10.32718/nvlvet10720

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

UDC 619:638.15-08

Effect of “EM[®] PROBIOTIC FOR BEES” on the biochemical parameters of bee haemolymph in an entomological cage experiment

A. R. Lakhman, O. Ye. Galatiuk, T. A. Romanishina[✉], V. L. Behas

Polissia National University, Zhytomyr, Ukraine

Article info

Received 15.07.2022

Received in revised form

15.08.2022

Accepted 16.08.2022

Polissia National University,
Staryi Blvd, 7, Zhytomyr,
10008, Ukraine.
Tel.: +38-097-356-27-07
E-mail: tveterinar@gmail.com

Lakhman, A. R., Galatiuk, O. Ye., Romanishina, T. A., & Behas, V. L. (2022). Effect of “EM[®] PROBIOTIC FOR BEES” on the biochemical parameters of bee haemolymph in an entomological cage experiment. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 24(107), 125–130. doi: 10.32718/nvlvet10720

The problem of proper support for the health of bee colonies is now a topical issue. The study of bee haemolymph parameters under the influence of certain agents and factors has been carried out by a number of scientists in different countries of the world. Therefore the determination of changes in biochemical parameters of bee hemolymph when applying different concentrations (5 %, 2.5 %, 1.25 %) of “EM[®] PROBIOTIC FOR BEES” diluted with honey buckwheat and sugar syrup was the aim of the experiment. The study included placing experimental insects in entomological cages, creating optimal conditions for their life, feeding them with “EM[®] PROBIOTIC FOR BEES” diluted with honey buckwheat and sugar syrup in different concentrations and studying biochemical parameters of their haemolymph on the “limiting” day in relation to the time of their death. Some biochemical parameters of the bees from 8 experimental groups (laboratory conditions) were compared with the hemolymph *Apis mellifera* of the control (natural conditions) group from the same apiary. Biochemical parameters of haemolymph: total protein (PRO); albumin (ALB); glucose (GLU); α -amylase (AMY); alkaline phosphatase (ALP); aspartate aminotransferase (AST) (SGOT); gamma-glutamyl transpeptidase (GGT) and creatinine (Cre) were determined by a Chem 7 semiautomatic biochemical analyser by wavelength selection and calibration for each parameter. The changes in these parameters in relation to the bee organism under laboratory conditions are interpreted. The negative effects of honey buckwheat syrup as a solvent for “EM[®] PROBIOTIC FOR BEES” have been revealed, leading to hyperprotenemia, where an excessive amount of protein can act as a trigger for the development of ketosis. In turn, the decomposition product of this protein, ammonia, that causes high enzyme activity in the form of aspartate aminotransferase (SGOT), and gamma-glutamyl transpeptidase (GGT) in the blood of experimental insects which were fed probiotic diluted with buckwheat honey syrup. At the same time, concentrations of the preparation diluted with sugar syrup solution were determined to cause an increase in the content of globulins in the haemolymph of experimental insects, which have important immunological significance. There was a decrease in creatinine in the haemolymph of experimental insects which had been fed “EM[®] PROBIOTIC FOR BEES”, diluted with sugar syrup solution (5 % – 780 μ mol/l; 2.5 % – 700.8 μ mol/l; 1.25 % – 62.4 μ mol/l). Note the fact of satisfactory operation of the malpighian vessels of the excretory system of experimental insects. Thus, “EM[®] PROBIOTIC FOR BEES” is a promising agent with a differential effect on the biochemical parameters of bee hemolymph in the studied concentrations.

Key words: *Apis mellifera*, biochemical parameters, laboratory conditions, probiotic.

Вплив “EM[®] ПРОБІОТИК для БДЖІЛ” на біохімічні параметри гемолі-мфи бджіл в садковому досліді

A. P. Ляхман, О. Є. Галатюк, Т. О. Романишина[✉], В. Л. Бегас

Поліський національний університет, м. Житомир, Україна

Проблема належної підтримки здоров'я бджолоосімей є наразі актуальною. Вивчення параметрів гемолімфи бджіл за впливу деяких засобів та факторів проводилась вченими різних країн світу. Тому визначення змін біохімічних параметрів гемолімфи бджіл при застосуванні різних концентрацій (5 %, 2,5 %, 1,25 %) "ЕМ[®] ПРОБІОТИКА для БДЖІЛ", розведеного медовою гречаною ситою та цукровим сиропом було цілком проведеного експерименту. Дослідження включало заселення дослідних комах в ентомологічні садки, створення оптимальних умов для їхнього життя, підкормка бджіл "ЕМ[®] ПРОБІОТИКОМ для БДЖІЛ", розведеним медовою гречаною ситою і цукровим сиропом у різних концентраціях та дослідження біохімічних показників гемолімфи цих комах на "граничну" добу щодо терміну їх загибелі. Деякі біохімічні показники бджіл 8 дослідних груп (лабораторні умови) порівнювали з гемолімфою *Apis mellifera* контрольної (природні умови) групи з цієї ж пасіки. Біохімічні параметри гемолімфи: загальний білок (PRO); альбуміни (ALB); глюкоза (GLU); α -амілаза (AMY); лужна фосфатаза (ALP); аспартатаминотрансфераза (ACT) (SGOT); гамма-глутамілтранспептидаза (ГТТ) (GGT) та креатинін (Cre) визначені напівавтоматичним біохімічним аналізатором Chem 7 шляхом підбору довжини хвилі та калібрування для кожного параметра. Інтерпретовані зміни цих параметрів щодо організму бджіл у лабораторних умовах. Виявлений негативний вплив медової гречаної сити як розчинника для "ЕМ[®] ПРОБІОТИКА для БДЖІЛ", що зумовлює гіперпротенемію, де надмірна кількість білка може слугувати пусковим фактором розвитку кетозу. Своєю чергою продукт розпаду такого протеїну – аміак зумовлює високу активність ензимів у вигляді ACT, ЛФ та ГТТ в "крові" дослідних комах, яким згодували пробіотик, розведений гречаною медовою ситою. Водночас визначені концентрації препарату, розведеного розчином цукрового сиропу, які зумовлюють підвищення вмісту глобулінів у гемолімфі дослідних комах, що має важливе імунологічне значення. Зареєстровано зниження вмісту креатиніну в гемолімфі експериментальних комах, які отримували "ЕМ[®] ПРОБІОТИК для БДЖІЛ", розведений розчином цукрового сиропу (5 % – 780 мкмоль/л; 2,5 % – 700,8 мкмоль/л; 1,25 % – 623,4 мкмоль/л). Це свідчить про задовільну роботу мальпігевих судин видільної системи дослідних комах. Таким чином, "ЕМ[®] ПРОБІОТИК для БДЖІЛ" є перспективним засобом, який диференційовано впливає на біохімічні показники гемолімфи бджіл у досліджуваних концентраціях.

Ключові слова: *Apis mellifera*, біохімічні параметри, ефективні мікроорганізми.

Вступ

Гемолімфа бджіл – рідка сполучна тканина, яка є прототипом крові теплокровних тварин та людини. Гемолімфа складається з міжклітинної рідкої речовини – плазми та клітин – гемоцитів (Kunc et al., 2019). Біохімічний склад гемолімфи варіює та містить амінокислоти, білки, ферменти, вуглеводи та інші складові. Дослідження біохімічних параметрів гемолімфи бджіл проводили ряд науковців щодо впливу *Amphotericin B* на організм бджіл (Bajda et al., 2014), дії електричного поля на біохімічні маркери гемолімфи бджіл (Migdał et al., 2021), визначення біохімічних маркерів у гемолімфі бджіл зимової та літньої генерації (Kunc et al., 2019), вивчення біохімічних і цитологічних показників "крові" бджіл у стресових умовах (Şarcaliü et al., 2010) тощо. "ЕМ[®] ПРОБІОТИК для БДЖІЛ" містить запатентований склад ефективних мікроорганізмів, які чинять позитивний вплив на організм бджіл при деяких інфекційних патологіях та на міцність бджолиних колоній (EMRO; EM-Ukraine (Effective microorganisms)). Досліджений вплив даного засобу на терапевтичні, біохімічні та імунологічні параметри гемолімфи за нозематозу *Apis mellifera carnica* (Tlak Gajger et al., 2020). Важливе профілактичне значення має дослідження метаболічного стану бджіл, оскільки вони виявляють ряд змін, які виникають до появи клінічних ознак.

Мета дослідження

Визначити біохімічні параметри гемолімфи бджіл української степової породи зимової генерації при застосуванні різних концентрацій (5 %, 2,5 %, 1,25 %) "ЕМ[®] ПРОБІОТИКА для БДЖІЛ", розведеного медовою гречаною ситою та цукровим сиропом.

Матеріал і методи досліджень

Дослідження проводили на бджолах української степової породи зимової генерації в умовах науководослідних лабораторій кафедр мікробіології, фармакології та епізоотології і внутрішніх хвороб тварин та фізіології Поліського національного університету. Бджіл відбирали методом аналогів із приватної пасіки Північного регіону України і утримували у 8 дерев'яних садках розміром 20 × 15 × 6 см у вентиляваному термостаті при вологості повітря 50–70 % і температурі +24 – +25 °С. Садки мали скляні екрани та отвори для здійснення годівлі, бджіл годували тричі на добу свіжими підкормками з "ЕМ[®] ПРОБІОТИКОМ для БДЖІЛ" у концентраціях 5 %, 2,5 %, 1,25 % та нативними підкормками без препарату (табл. 1). Підкормки готували у вигляді розчинів медового сиропу (сити) (1 частина гречаного меду: 1 частина джерельної води) – садки № 1–4 та цукрового сиропу (2 частини цукру: 1 частина джерельної води) – садки № 5–8.

Таблиця 1

Склад підкормок для бджіл експериментальних груп

| № ентомологічного садка | Об'єм розчинників (медова гречана сита; цукровий сироп), см ³ | Об'єм "ЕМ [®] ПРОБІОТИКА для БДЖІЛ", см ³ | Концентрації робочих розчинів "ЕМ [®] ПРОБІОТИК для БДЖІЛ" |
|-------------------------|--|---|---|
| 1 ; 5 | 190 | 10 | 5 |
| 2 ; 6 | 195 | 5 | 2,5 |
| 3 ; 7 | 197,5 | 2,5 | 1,25 |
| 4 ; 8 | 200 | 0 | 0 |

Результати досліджень бджіл експериментальних груп порівнювали з показниками гемолімфи бджіл, відібраних з тієї ж пасіки у кількості 20 особин (контрольна група). Відбір гемолімфи здійснювали від 18–23 бджіл на “граничну” добу щодо терміну загибелі бджіл і формували збірну пробу (0,5–0,7 см³ гемолімфи). Методика відбору гемолімфи полягала у декапітації голови, проколі венозного синуса черевця та використання запропонованого методу (Kysterna et al., 2014; Borsuk et al., 2017) (рис. 1).

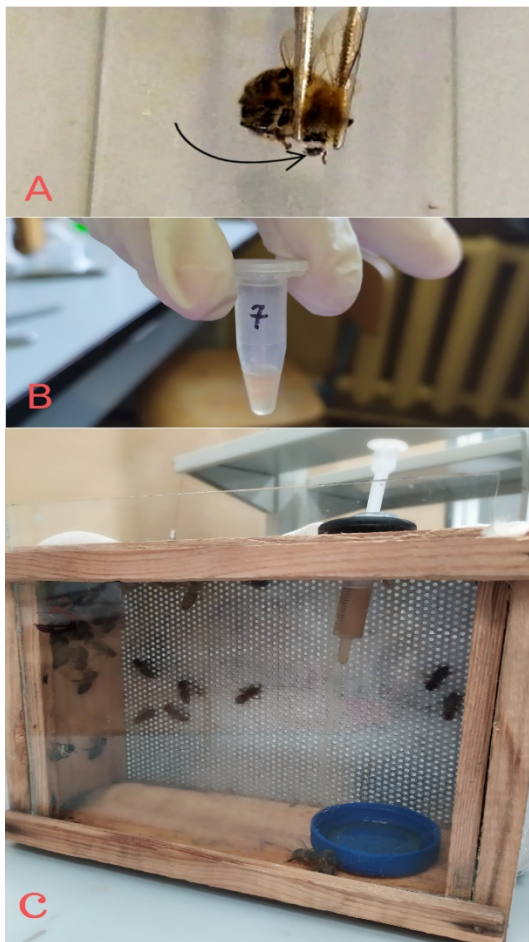


Рис. 1. Гемолімфа бджіл: А – крапля гемолімфи при відборі проб; В – зібраний зразок гемолімфи бджіл у стерильному епіндорфі; С – ентомологічний садок з дослідними бджолами

Всі біохімічні параметри (загальний білок (PRO, g/L, г/л); альбуміни (ALB, g/L, г/л); глюкоза (GLU, mmol/L, ммоль/л); α-амілаза (AMY, U/L, ОД/л); лужна фосфатаза (ЛФ) (ALP; U/L, ОД/л); аспаратамиотрансфераза (ACT) (SGOT, U/L, ОД/л); гамма-глутамілтрансептидаза (ГГТ) (GGT, U/L, ОД/л); креатинін (Cre, umol/L, мкмоль/л) визначені напівавтоматичним біохімічним аналізатором Chem 7 (Erba, Чеська Республіка) шляхом підбору довжини хвилі та калібрування для кожного параметра.

Експеримент проведений згідно зі статтею 26 Закону України “Про захист тварин від жорстокого поводження (правила поводження з тваринами, що використовуються в наукових експериментах, тестуванні, навчальному процесі та виробництві біопрепа-

ратів)” (Zakon Ukrainy vid 08.08.2020) та Європейської конвенції про захист тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (1986 р.) (European Convention). Висновок комісії з біоетики факультету ветеринарної медицини Поліського національного університету № 10 від 26.10.2020 року.

Результати та їх обговорення

Гіперпротеїнемію бджіл (1377 г/л) контрольної групи (рис. 2 – А) характеризуємо вільним доступом комах зимової генерації (в умовах відсутності стресу) до кормів природного походження (Nedashkivskyi & Hutsol, 2020).

| | |
|---------------------------|---|
| F VET M BUDNIK TATIANA | A |
| 008277 PRO 1377 g/L | B |
| F VET M BUDNIK TATIANA | B |
| 008253 PRO 772.5 g/L | B |
| 008254 PRO 749.0 g/L | C |

Рис. 2. Вміст білка у гемолімфі бджіл (PRO, г/л): А – показник білка у контрольній групі бджіл; В – показник білка в ентомологічному садку № 1 (5 % “ЕМ® ПРОБІОТИК для БДЖІЛ” + гречана медова сита/); С – показник білка в ентомологічному садку № 5 (5 % “ЕМ® ПРОБІОТИК для БДЖІЛ” + розчин цукрового сиропу)

У бджіл, які отримували нативну медову гречану сити, цей показник був найнижчий у серії досліду з розведенням препарату гречаною медовою ситою. Ймовірно, гречана медова сита гірше засвоюється, оскільки дана підкормка багата на протеїни, а продуктом розпаду білка є аміак – ефектор нейротоксичної дії на бджолиний організм (Ahmad et al., 2017) (при препаруванні бджоли даної серії досліду відчували запах аміаку). Таким чином, наявність надмірної концентрації цієї неорганічної сполуки слугує пусковим чинником гіперферментемії АСТ, ЛФ та ГГТ у комах, які отримували препарат, розведений гречаною медовою ситою. Ймовірно, клітини жирового тіла комах, яке є прототипом печінки теплокровних тварин (Arrese & Soulagés, 2010), не в змозі метаболізувати цю токсичну сполуку. Своєю чергою аміак призводить до пошкодження клітин жирового тіла, що інтерпретуємо гіперферментемією даних індикаторних ензимів. Наявність “ЕМ® ПРОБІОТИКА для БДЖІЛ” у

медовій гречаній ситі зумовлює вищі параметри білка в гемолімфі (порівняно з бджолами, які отримували нативну медову сити), але протеїн такого складу може слугувати пусковим фактором розвитку кетозу (Selvaraj et al., 2020).

У гемолімфі бджіл дослідних груп, які отримували 1,25–5 % розчини «EM® ПРОБІОТИКА для БДЖІЛ», розведені цукровим сиропом, виявляли гіпопротеїнемію, порівняно з бджолами садків 1–4. Таку тенденцію інтерпретуємо відсутністю білка у цукровому сиропі та появою його в гемолімфі у вигляді амінокислот – продуктів синтезу ефективних мікроорганізмів пробіотика (Stavropoulou & Bezirtzoglou, 2020). Спостерігаємо прямопропорційну залежність вмісту альбумінів щодо концентрації пробіотика і вмісту білка у гемолімфі всіх експериментальних груп. Однак ці

показники гемолімфи вищі у бджіл, які отримували медову гречану сити. Відповідно рівень глобулінів у гемолімфі бджіл, яким згодували препарат, розведений цукровим сиропом, обернено пропорційний щодо концентрації альбумінів, що пояснюємо синтезом імунокомпетентних гемоцитів – імунна відповідь щодо антигенних складових «EM® ПРОБІОТИКА для БДЖІЛ».

Медова гречана сита містить прості цукри (глюкоза, фруктоза), які легко засвоюються бактеріями пробіотика (ефективні мікроорганізми) для синтезу власних структурних елементів. Тому при годівлі бджіл підкормкою, розведеною медовою гречаною ситою, «вільної» глюкози у гемолімфі менше, ніж у бджіл садків 5–8 (рис. 3).

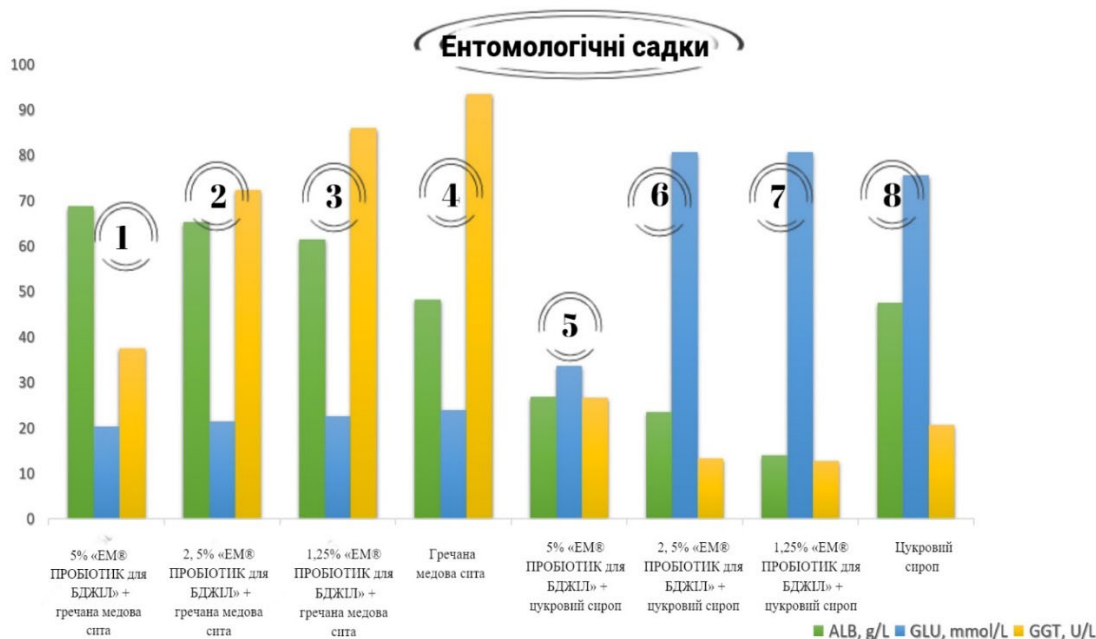


Рис. 3. Вміст альбумінів (ALB, г/л), глюкози (GLU, ммоль/л) та активність гамма-глутамілтранспептидази (GGT, U/L, OD/L) у гемолімфі піддослідних бджіл при різних концентраціях «EM® ПРОБІОТИКА для БДЖІЛ» Примітка: 1 – 5 % «EM® ПРОБІОТИК для БДЖІЛ» + гречана медова сита; 2 – 2, 5 % «EM® ПРОБІОТИК для БДЖІЛ» + гречана медова сита; 3 – 1,25 % «EM® ПРОБІОТИК для БДЖІЛ» + гречана медова сита; 4 – розчин гречаного медового сиропу (гречана медова сита); 5 – 5 % «EM® ПРОБІОТИК для БДЖІЛ» + цукровий сироп; 6 – 2,5 % «EM® ПРОБІОТИК для БДЖІЛ» + цукровий сироп; 7 – 1,25 % «EM® ПРОБІОТИК для БДЖІЛ» + цукровий сироп; 8 – розчин цукрового сиропу

У гемолімфі бджіл, які отримували нативну гречану медову сити, концентрація глюкози у гемолімфі наближена до показника цього параметру у бджіл контрольної групи (21,67 ммоль/л) та вища (23,9 ммоль/л), ніж у бджіл садків 1–3. Такий вміст інтерпретуємо відсутністю конкуренції між мікроорганізмами пробіотика та нормальною мікрофлорою середньої кишки комах. Гіперглікемію аліментарного походження реєструємо у бджіл, які отримували «EM® ПРОБІОТИК для БДЖІЛ», розведений розчином цукрового сиропу (рис. 3). Сахароза – як основна складова підкормки – зумовлює дане явище. Після ферментування даного дисахариду до фруктози та глюкози дані моносахариди всмоктуються у гемолі-

мфу для подальшого використання або накопичуються у сферулоцитах «крові» комах (Larsen et al., 2019).

Ферментація крохмалю та складних вуглеводів можлива за активності ферменту α -амілази. Активність даного ферменту у бджіл, які споживали препарат, розведений гречаною медовою ситою, вища, ніж у комах садків 5–8. Також при споживанні бджолами нативної гречаної медової сити активність даного фермента була вищою (1714 ОД/л), ніж у комах контрольної групи (329,2 ОД/л) (рис. 4).

Ймовірно, дане явище спостерігається внаслідок вмісту в меді ферменту діастази або амілази (Amanati & Winarno, 2020). Високу активність α -амілази реєструємо у бджіл, які споживали пробіотик, розведений медовим гречаним сиропом (5 % – 5577 ОД/л; 1,25 %

– 4608 ОД/л). Така активність зумовлена здатністю молочнокислих бактерій зі складу препарату продукувати комплекс травних ферментів, зокрема амілазу (Elzeini et al., 2021).

| | |
|---------------------------|----------|
| F VET M BUDNIK TATIANA | A |
| 008269 AMY 329.2 U/L | |
| F VET M BUDNIK TATIANA | B |
| 008228 AMY 4608 U/L | |
| 008230 AMY 244.1 U/L | C |

Рис. 4. Активність амілази в гемолімфі бджіл (AMY, ОД/л): А – активність амілази контрольної групи бджіл; В – активність амілази гемолімфи бджіл в ентомологічному садку № 3 (1,25% “EM[®] ПРОБІОТИК для БДЖІЛ” + гречана медова сита); С – активність амілази гемолімфи бджіл в ентомологічному садку № 7 (1,25% “EM[®] ПРОБІОТИК для БДЖІЛ” + розчин цукрового сиропу)

Використовуючи прості цукри меду, дані бактерії ферментують їх до молочної кислоти, яка зумовлює зниження активності іонів водню (рН) у середній кишці комах. У надмірній кількості такий прояв негативно впливає на організм бджоли, що зумовлює порушення цілісності перитрофічної мембрани та гомеостазу (Lakman et al., 2021). Подібне явище (вища концентрація пробіотика зумовлює вищу активність α -амілази) реєстрували при згодовуванні бджолам препарату, розведеного цукровим сиропом (5 % – 820 ОД/л; 2,5 % – 427,9 ОД/л; 1,25 % – 244,1 ОД/л). Таку активність даного ферменту у гемолімфі комах пояснюємо наявністю у складі “EM[®] ПРОБІОТИКА для БДЖІЛ” патоки цукрової тростини, яка містить крохмал у своєму складі (EMRO; Saska & Zossi, 2021). Активність ензимів АСТ та ЛФ у гемолімфі бджіл, яким згодовували пробіотик, розведений розчином цукрового сиропу, становила ≥ 838 (5 %–1,25 %) ОД/л та 18,9 (1,25 %) – 32,7 (5 %) ОД/л, що відрізнялось від параметрів даних ферментів у контрольній групі бджіл (АСТ – 222,2 ОД/л та 3 ОД/л). Такі показники інтерпретуємо дією стресового чинника на бджіл у лабораторних умовах (Şarcaliu et al., 2021). Активність ГГТ бджіл, яким згодовували “EM[®] ПРОБІОТИК для БДЖІЛ”, розведений цукровим сиропом (5 % – 26,59 ОД/л; 2,5 % – 13,29 ОД/л; 1,25 % – 12,72 ОД/л) була наближена до параметрів цього ензиму у комах контрольної групи (20,58 ОД/л). Таку активність пояснюємо відсутністю токсичного впливу “EM[®] ПРОБІОТИК для БДЖІЛ” щодо дослідних бджіл.

Кінцевим продуктом обміну білків та індикатором діяльності видільної системи в макроорганізмі тварин є креатинін. Високий вміст даного показника у бджіл

контрольної групи (2529 мкмоль/л) (рис. 5) характеризується активним фізичним навантаженням робочих бджіл української степової породи (Şarcaliu et al., 2010; Escalera-Valente et al., 2021).

| | |
|------------------------------------|----------|
| F VET M BUDNIK TATIANA | |
| 008274 CRE 2529 $\mu\text{mol/L}$ | A |
| 008252 CRE 780 $\mu\text{mol/L}$ | B |
| 008251 CRE 700.8 $\mu\text{mol/L}$ | C |
| 008250 CRE 623.4 $\mu\text{mol/L}$ | D |

Рис. 5. Вміст креатиніну в гемолімфі бджіл (Cre, мкмоль/л; $\mu\text{mol/L}$): А – показник креатиніну у контрольній групі бджіл; В – показник креатиніну в ентомологічному садку № 5 (5 % “EM[®] ПРОБІОТИК для БДЖІЛ” + цукровий сироп); С – показник креатиніну в ентомологічному садку № 6 (2,5 % “EM[®] ПРОБІОТИК для БДЖІЛ” + цукровий сироп); D – показник креатиніну в ентомологічному садку № 7 (1,25 % “EM[®] ПРОБІОТИК для БДЖІЛ” + цукровий сироп)

У гемолімфі експериментальних комах, які отримували пробіотик, розведений розчином цукрового сиропу, реєстрували зниження вмісту даного параметру (5 % – 780 мкмоль/л; 2,5 % – 700,8 мкмоль/л; 1,25 % – 623,4 мкмоль/л). Такі результати характеризують задовільну роботу видільної системи дослідних комах (“EM[®] ПРОБІОТИК для БДЖІЛ” не чинить негативного впливу щодо мальпігієвих судин видільної системи комах).

Висновки

1. Параметри білкового обміну гемолімфи характеризуються прямо пропорційною залежністю вмісту альбумінів щодо концентрації “EM[®] ПРОБІОТИК для БДЖІЛ” і вмісту білка у гемолімфі бджіл всіх експериментальних груп.
2. Усі визначені біохімічні параметри гемолімфи бджіл (окрім глюкози (GLU)) садків 1–4 (з медовою гречаною ситою) були вищими, ніж у бджіл садків 5–8 (з цукровим сиропом).
3. Розведення “EM[®] ПРОБІОТИКА для БДЖІЛ” розчином цукрового сиропу в концентраціях 5–1,25 % зумовлює синтез глобулінів, дія яких спрямована на взаємодію з антигенами.
4. “EM[®] ПРОБІОТИКА для БДЖІЛ” у досліджуваних концентраціях є перспективним засобом, який справляє диференційний вплив на біохімічні параметри гемолімфи і не має токсичного впливу щодо бджіл української степової породи.

Відомості про конфлікт інтересів

Автори стверджують про відсутність конфлікту інтересів.

Подяки

Катерині Олександрівні Чирті-Сінельник – директору ТОВ “ЕМ-Україна” (м. Кропивницький, Україна) за представлення препарату “ЕМ® ПРОБІОТИК для БДЖІЛ” та Буднік Тетяні Сергіївні – завідувачці ННКД лабораторії ветеринарної медицини Поліського Університету за участь у проведенні досліджень.

References

- Ahmad, R. S., Hussain, M. B., Saeed, F., Waheed, M., & Tufail, T. (2017). Phytochemistry, metabolism, and ethnomedical scenario of honey: A concurrent review. *International journal of food properties*, 20(1), 254–269. DOI: 10.1080/10942912.2017.1295257.
- Amanati, L., & Winarno, J. (2020, December). Measurement of diastase enzymes on honey which is circular in East Java. In *Seminar Nasional 1 Baristand Industri Padang*, 5, 39–43. URL: <https://series.gci.or.id/assets/papers/snbip-2020-432.pdf>.
- Arrese, E. L., & Soulages, J. L. (2010). Insect fat body: energy, metabolism, and regulation. *Annual review of entomology*, 55, 207–225. DOI: 10.1146/annurev-ento-112408-085356.
- Bajda, M., Łoś, A., & Merska, M. (2014). Effect of amphotericin B on the biochemical markers in the haemolymph of honey bees. *Med. Weter.*, 70(12), 766. URL: <http://www.medycynawet.edu.pl/images/stories/pdf/pdf2014/122014/201412766769.pdf>.
- Borsuk, G., Ptaszyńska, A. A., Olszewski, K., Domaciuk, M., Krutmuang, P., & Paleolog, J. (2017). A new method for quick and easy hemolymph collection from apidae adults. *PloS one*, 12(1), e0170487. DOI: 10.1371/journal.pone.0170487.
- Elzeini, H. M., Ali, A. R., Nasr, N. F., Hassan, M., Hassan, A. A. M., & Elenany, Y. E. (2021). Probiotic capability of novel lactic acid bacteria isolated from worker honey bees gut microbiota. *FEMS Microbiology Letters*, 368(6), fnab030. DOI: 10.1093/femsle/fnab030.
- EMRO, Japan. Effective Microorganisms Research Organization, 1478-Kishaba, Kitanakagusuku-Sun, Nakagami-Gun, Okinawa 901–2311. Japan. URL: <https://emrojapan.com>.
- EM-Ukraine (Effective microorganisms). Retrieved from <http://embio.in.ua/bees.html> (in Ukrainian).
- Escalera-Valente, F., Alonso, M. E., Lomillos-Pérez, J. M., Gaudioso-Lacasa, V. R., Alonso, A. J., & González-Montaña, J. R. (2021). Blood biochemical variables found in lidia cattle after intense exercise. *Animals*, 11(10), 2866. DOI: 10.3390/ani11102866.
- European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Research and Other Scientific Purposes, (18.03.1986). URL: https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/994_137#Text.
- Kunc, M., Dobeš, P., Hurychová, J., Vojtek, L., Poiani, S. B., Danihlík, J., Havlík, J., Titěra, D., & Hyršl, P. (2019). The year of the honey bee (*Apis mellifera* L.) with respect to its physiology and immunity: A search for biochemical markers of longevity. *Insects*, 10(8), 244. DOI: 10.3390/insects10080244.
- Kysterna, O. S., Harkava, V. V., & Musiienko, O. V. (2014). Features of preparation of smears of hemolymph of an imago bee. *The Animal Biology*, 16(4), 118.
- Lakhman, A., Galatiuk, O., Romanishina, T., Behas, V., & Zastulka, O. (2021). Bees klebsiellosis: key aspects of pathogenesis. *Adv. Anim. Vet. Sci*, 9(8), 1190–1193. DOI: 10.17582/journal.aavs/2021/9.8.1190.1193.
- Larsen, A., Reynaldi, F. J., & Guzmán-Novoa, E. (2019). Fundamentals of the honey bee (*Apis mellifera*) immune system. *Review. Revista mexicana de ciencias pecuarias*, 10(3), 705–728. DOI: 10.22319/rmcp.v10i3.4785.
- Migdał, P., Murawska, A., Bieńkowski, P., Strachecka, A., & Roman, A. (2021). Effect of the electric field at 50 Hz and variable intensities on biochemical markers in the honey bee's hemolymph. *Plos one*, 16(6), e0252858. DOI: 10.1371/journal.pone.0252858.
- Nedashkivskiyi, V. M., & Hutsol, H. V. (2020). The effectiveness of using protein mixed feed in feeding honey bees. *Ukrainian Journal of Veterinary and Agricultural Sciences*, 3(1), 34–37. DOI: 10.32718/tjvas3-1.06.
- Șapcaliu, A., Pavel, C., Savu, V., Căuia, E., Matei, M., & Rădoi, I. (2010). Biochemical and Cytological Investigations on Haemolymph of *Apis Mellifera* Carpathica Bee in Stressful Conditions. *Bulletin of the University of Agricultural Sciences & Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Animal Science & Biotechnologies*, 67, 313–320.
- Saska, M., & Zossi, S. (2021). Conversion of cane starch to fermentable sugars in cane molasses fermentation. *World Sugar Yearbook*, 2021, 42–48.
- Selvaraj, S., Kelly, D. P., & Margulies, K. B. (2020). Implications of altered ketone metabolism and therapeutic ketosis in heart failure. *Circulation*, 141(22), 1800–1812. DOI: 10.1161/Circulationaha.119.045033.
- Stavropoulou, E., & Bezirtzoglou, E. (2020). Probiotics in medicine: a long debate. *Frontiers in immunology*, 11, 2192. DOI: 10.3389/fimmu.2020.02192.
- Tlak Gajger, I., Vlainić, J., Šošarić, P., Prešern, J., Bubnič, J., & Smodiš Škerl, M. I. (2020). Effects on some therapeutical, biochemical, and immunological parameters of honey bee (*Apis mellifera*) exposed to probiotic treatments, in field and laboratory conditions. *Insects*, 11(9), 638. DOI: 10.3390/insects11090638.
- Zakon Ukrayiny [Law of Ukraine]: On protection of animals from cruel treatment (08.08.2020). URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/3447-15#Text>.