

СЕКЦІЯ XI. БІОЛОГІЯ ТА БІОТЕХНОЛОГІЇ

АКТИВНІСТЬ ФЕРМЕНТУ GST *APIS MELLIFERA* ЗА ВПЛИВУ ВУГЛЕВОДНИХ ДІЄТ ТА ТЕМПЕРАТУРНОГО СТРЕСУ

Рильська Я.С.

магістрантка ННІ біології, хімії та біоресурсів
Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича

Караван В.В.

аспірант ННІ біології, хімії та біоресурсів
Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича

Науковий керівник: Панчук І.І.

професор кафедри молекулярної генетики та біотехнології
ННІ біології, хімії та біоресурсів
Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича

Наразі у світі спостерігаються значні втрати в колоніях *A. mellifera*, які обумовлені змінами у навколишньому середовищі. Зокрема, коливання температур, негативно впливають на виживання медоносних бджіл, адже представники виду *Apis mellifera* обмежені у своїй здатності контролювати температуру тіла під впливом температурних змін в атмосфері [1]. Зміни температури можуть викликати порушення метаболізму, що, в свою чергу, може призводити до виникнення окислювального пошкодження клітин і тканин. Тобто, через порушення температурного оптимума, в організмі медоносних бджіл можуть утворюватися активні форми кисню (reactive oxygen species - ROS), які спричиняють виникнення оксидативного стресу [2]. Причиною виникнення оксидативного стресу є дисбаланс між процесами утворення активних форм кисню і активністю антиоксидантної системи організму [3]. Компонентами ROS є супероксидний аніон ($O_2^{\cdot-}$), пероксид водню (H_2O_2) та інші сполуки, які викликають ушкодження на молекулярному рівні, що призводить до виникнення патологічних станів [4]. В організмі комах розвинулися спеціальні механізми для подолання окислювального стресу та нейтралізації токсичних ROS [5]. До таких механізмів належить і антиоксидантна система організму *A. mellifera*, компонентом якої є фермент глутатіон-S-трансфераза (GST). Глутатіон S-трансферази можуть детоксикувати шкідливі сполуки шляхом кон'югації глутатіону з гідрофобним субстратом, і його подальшою елімінацією з організму [6].

Метою даного дослідження було визначити вплив понижених температур на активність ферментів антиоксидантної системи робочих бджіл *A. mellifera* за різних вуглеводних дієт.

Матеріалом дослідження є робочі медоносні бджоли (*Apis mellifera* L.). Відбір особин бджіл здійснювали з пасіки Чернівецького національного університету в кінці

червня. Надалі, рамка з запечатаним розплодом утримували в термостаті за температури +34 °C та вологості 70 %. Бджіл віком від одного до двох днів переміщували з рамок у клітки, де вони перебували протягом 3 днів за температури +28° C і відносній вологості 70 %. В цей період комахи дотримувалися встановленої дієти, яка передбачала використання суміші з 25% глюкози + 25% фруктози у складі. Протягом наступних 5 днів піддослідних бджіл утримували на дієтах з різними вуглеводними компонентами, а саме: (1) суміш 25% глюкози + 25% фруктози; (2) 50% глюкоза; (3) 50%, фруктоза; (4) 50% сахароза; (5) мед вирівняний за оптичними параметрами вмісту вологи відносно суміші №1.

В подальшому половину від загальної кількості піддослідних бджіл впродовж 6 діб утримували за пониженої температури +14°C, іншу половину – за +28 °C. Після цього бджіл знерухомлювали на холоді, заморожували в рідкому азоті і зберігали при температурі -70 °C до проведення подальших досліджень, які передбачали визначення активності ферменту GST.

Метод визначення активності GST передбачав вимірювання зміни абсорбції утвореного комплексу між глутатионом і 1-хлор-2,4-динітробенzenом (ХДНБ), яке здійснювали спектрофотометрично за довжини хвилі 340 нм протягом 2 хв [7].

Було проведено визначення і порівняння активності ферменту GST в різних тагмах *A. mellifera* за впливу різних дієт і температур, визначено, що за температури 28°C висока активність ферменту в тканинах грудей і черевця наявна в групах на дієті з вмістом 25% глюкози + 25% фруктози. В групі, яка в якості підгодівлі отримувала мед, спостерігається низька активність GST в усіх тагмах порівняно із бджолами, які перебували на дієтах з іншим вуглеводним складом.

За температури 14°C, в групі, яку підгодовували сумішшю 25% глюкози + 25% фруктози в усіх тагмах показники активності є на високому рівні. В тканинах голови і грудей високі показники активності виявлені в групах, які в якості підгодівлі отримували глюкозу. Загалом, найменші показники активності GST спостерігалися в групах, яких утримували на дієтах з вмістом фруктози 50% і сахарози 50%.

Крім того, виявлено, що фермент антиоксидантної системи бджіл - GST виявляє тканиноспецифічну активність, а саме визначено, що найбільшу каталітичну активність GST демонструє в тканинах черевця, а найнижчі показники активності зазначеного ферменту спостерігаються в тканинах грудей.

Також, було проведено порівняння активності GST в тканинах *A.mellifera* за температури 28°C і 14°C. В тканинах голови GST є активнішим за температури 28°C, в тканинах грудей не встановлено залежності між активністю ферменту і температурою, а в черевці GST продемонстрував кращу активність за температури 14°C. Узагальнення результатів порівняння активності ферменту GST за впливу різних температур, дозволяє зробити висновок, що GST є більш активним за дії холоду. Це можна пояснити тим, що за дії низьких температур в організмі утворюються ROS, які здійснюють окислення глутатіону, а в свою чергу, зниження концентрації глутатіону є сигналом до активізації ферменту антиоксидантної системи GST, який здійснює захист організму від негативного впливу ROS.

Отже, за дії температур нижчих за оптимум активізується фермент антиоксидантної системи GST. Зазначений фермент забезпечує захист організму від негативного впливу ROS і сприяє відновленню окисно-відновного балансу, порушеного під час оксидативного стресу. Також визначено, що забезпечення бджіл збалансованою дієтою, позитивно впливає на здатність *A.mellifera* протистояти окислювальному стресу. Виявлено, що найнижчі показники активності GST за температури 28°C були в групі, яка споживала мед, а за температури 14°C найменша

активність ферменту спостерігалася в групі, яка в якості підгодівлі отримувала фруктозу 50%.

Список використаних джерел:

1. Al-Ghzawi, A. A. A., Al-Zghoul, M. B., Zaitoun, S., Al-Omary, I. M., & Alahmad, N. A. (2022). Dynamics of heat shock proteins and heat shock factor expression during heat stress in daughter workers in pre-heat-treated (rapid heat hardening) *Apis mellifera* mother queens. *Journal of thermal biology*, 104, 103194. <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2022.103194>
2. Kodrík, D., Bednářová, A., Zemanová, M., & Krishnan, N. (2015). Hormonal regulation of response to oxidative stress in insects—an update. *International journal of molecular sciences*, 16(10), 25788-25816.
3. Abdelkader, F. B., Kairo, G., Bonnet, M., Barbouche, N., Belzunces, L. P., & Brunet, J. L. (2019). Effects of clothianidin on antioxidant enzyme activities and malondialdehyde level in honey bee drone semen. *Journal of Apicultural Research*, 1–6. doi:10.1080/00218839.2019.1655182
4. Forrester SJ, Kikuch DS, Hernandez MS, Xu Q, Griendling KK (2018) Reactive oxygen species in metabolic and inflammatory signaling. *Circ Res* 122:877–902. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.117.311401>
5. Balieira, K. V. B., Mazzo, M., Bizerra, P. F. V., Guimarães, A. R. de J. S., Nicodemo, D., & Mingatto, F. E. (2018). Imidacloprid-induced oxidative stress in honey bees and the antioxidant action of caffeine. *Apidologie*. doi:10.1007/s13592-018-0583-1
6. Song W, Zhou F, Shan C, Zhang Q, Ning M, Liu X, Zhao X, Cai W, Yang X, Hao G and Tang F (2021) Identification of Glutathione S-Transferase Genes in Hami Melon (*Cucumis melo* var. *saccharinus*) and Their Expression Analysis Under Cold Stress. *Front. Plant Sci.* 12:672017. doi: 10.3389/fpls.2021.672017
7. Karavan, V. V., Tsaruk, V. I., Cherevatov, V. F., & Yazvovitska, L. S. (2018). *Biological Systems*, 10(1), 20–28. <https://doi.org/10.31861/biosystems2018.01.020>