




Дослідження дії пробіотика *Lactobacillus casei* B 7280 за різної тривалості застосування на резистентність організму бджіл

I. I. Ковальчук^{1,2}, М. Я. Співак³, Т. М. Химинець², М. М. Цап¹, А. З. Пилипець¹,  **OPEN ACCESS**
В. В. Каплінський¹, М. М. Романович^{1,2}, Р. Л. Андрошулік¹
mm_tsap@meta.ua

¹Інститут біології тварин НААН, вул. В. Стуса, 38, м. Львів, 79034, Україна

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

³Інститут мікробіології і вірусології імені Д. К. Заболотного НАН України, вул. Академіка Заболотного, м. Київ, 03143, Україна

ORCID:

I. Kovalchuk <https://orcid.org/0000-0001-9932-6315>
M. Spivak <https://orcid.org/0000-0002-4394-7275>
M. Tsap <https://orcid.org/0000-0002-1446-0409>
A. Pylypets <https://orcid.org/0000-0002-4730-7339>
V. Kaplinskyi <https://orcid.org/0000-0002-0138-9957>
M. Romanovych <https://orcid.org/0000-0003-3068-1452>
R. Androshulik <https://orcid.org/0000-0002-1452-6164>

Authors' Contributions:

KII: Conceptualization; Project administration.

SMY: Validation; Writing — review & editing.

KTM: Investigation.

TMM: Writing — original draft.

PAZ: Data curation; Visualization.

KVV: Methodology.

ARL: Investigation.

RMM: Investigation.

Declaration of Conflict of Interests:

None to declare.

Ethical approval:

Not applicable.

Acknowledgements:

The authors express their gratitude to the director of the Institute of Microbiology and Virology named after D. K. Zabolotny, National Academy of Sciences of Ukraine **Mykola Yakovych Spivak** for providing the probiotic test culture.

The work was carried out within the scope of the scientific research topic: "Investigation of the mechanisms of the effect of trace element citrates and immunobiotics on the bees' body" (state registration number no. 0121U108807) of the Laboratory of Ecology and Product Quality, Institute of Animal Biology, National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine.

Науковий супровід сучасного бджільництва спрямований на отримання безпечної екологічної продукції, розроблення засобів і методів стимуляції розмноження та підвищення стійкості бджіл до різних збудників хвороб, а також на захист від несприятливих умов довкілля. Існує тенденція до використання нових ефективних засобів натурального походження, механізми дії яких відрізняються від синтетичних речовин і препаратів активацією захисних реакцій організму на фізіологічному рівні. Пробіотик *Lactobacillus casei* IMV B-7280 має ефективну стимулюючу дію на фізіологічні процеси за різних екологічних та експериментальних умов життєдіяльності бджіл. Його фізіологічний вплив пов'язаний з нормалізацією кишкової бактеріальної мікрофлори та участю в модуляції захисних реакцій організму. Тому метою досліджень було визначити вплив пробіотичного препарату класу *L. casei* B-7280 на вміст білка, продуктів перекисного окиснення та активність каталази у гомогенатах тканин організму бджіл за різної тривалості застосування. Бджоли контрольної (С) групи отримували підгодовлю з 60% цукрового сиропу в кількості 1 мл/групу/добу. Дослідні групи додатково отримували розчин пробіотика *L. casei* B-7280 у концентрації 10⁶ КУО/мл: дослідна група 1 (E1) — щодобово; дослідна група 2 (E2) — через добу; дослідна група 3 (E3) — через кожні 3 доби; дослідна група 4 (E4) — раз на тиждень. Тривалість випоювання сиропу та пробіотика — 4 тижні. Встановлено збільшення вмісту загального білка у тканинах цілого організму бджіл в групах E1–E3, але ці різниці невірні, що може свідчити про відсутність суттєвого впливу пробіотика *L. casei* B-7280 на концентрацію протеїнів у тканинах бджіл. Каталазна активність тканин організму бджіл зросла на 79.80% і 38.07% у групах E1, E2 (P<0.05) щодо контролю, а для бджіл E1 групи — на 52.75% (P<0.05) порівняно з підготовчим періодом. Вміст ГПЛ знижувався на 10.00%, 9.23% та 10,38% (P<0.05) у групах E1, E2 і E3 відповідно щодо контрольної групи. Вміст ТБК-активних продуктів мав тенденцію до зменшення у дослідних групах E1, E2, E3, а в групі E4 — на 14.98% (P<0.01) щодо підготовчого періоду. Результати досліджень показали, що додавання *L. casei* B-7280 впливало на антиоксидантну дію в організмі бджіл за різних термінів його згодовування, що супроводжувалося зниженням вмісту ТБК-активних продуктів (МДА) і гідроперекисів ліпідів в гомогенатах тканин організму бджіл усіх дослідних груп, окрім E3, та впливало на життєздатність бджіл.

Ключові слова: бджоли, пробіотик, протеїн, продукти перекисного окиснення, активність каталази



Attribution 4.0 International
(CC BY 4.0)

Вступ

В Україні створено низку препаратів на основі пробіотиків для використання у ветеринарії та медицині. Вони широко використовуються як допоміжні лікарські засоби у профілактиці захворювань, що супроводжуються порушенням нормальної мікрофлори в організмі тварин і людей [2, 19]. Втрати популяції медоносних бджіл за останні десятиліття загрожують як екосистемі, так і продовольчій безпеці країни. Дослідники і пасічники за цих умов особливу увагу приділяють факторам, які погіршують резистентність організму, функціональний стан його окремих систем та продуктивність бджіл. Застосування у бджільництві препаратів природного походження [13, 18] дозволяє уникнути багатьох побічних ефектів, оскільки механізми дії цих препаратів істотно відрізняються від хімічносинтезованих і ґрунтуються на фізіологічній активації захисних реакцій організму.

Тому науковий супровід сучасного бджільництва спрямований на отримання безпечної екологічної продукції, розроблення засобів і методів стимуляції розмноження і підвищення стійкості бджіл до різних збудників хвороб, а також захист від несприятливих умов навколишнього середовища [13]. Показано, що вплив чинників абіотичного, біотичного походження та антропогенної діяльності порушують фізіологічні процеси в організмі *Apis mellifera*, пригнічуючи антиоксидантну та імунну системи, що призводить до загибелі цілих колоній [1, 14, 17].

Вважається, що мікроорганізми та їхні метаболіти, які входять до складу пробіотиків, позитивно впливають на людей і тварин, оздоровлюють їх організм. На сьогодні дослідження мікробіоти кишківника медоносної бджоли показують, що вона впливає на харчування господаря, збільшення ваги, ендокринну передачу сигналів, імунну функцію та стійкість до патогенів [18, 23].

Погіршення кормової бази або її різка зміна — один із чинників, що негативно впливає на здоров'я бджіл і розвиток колоній та може призвести до їхньої загибелі [6, 21]. Дефіцит корму або незначне порушення компонентного складу може ослаблювати АОС, детоксикаційну та імунну системи бджіл, внаслідок чого їхній організм стає вразливішим до застосування хімічних препаратів захисту рослин і захворювань різної етіології.

Дія вказаних чинників сприяє надмірній генерації АФК в організмі бджіл, що призводить до розвитку оксидативного стресу [9]. АФК можуть реагувати з поліненасиченими жирними кислотами ліпідних мембран та індукувати перекисне окиснення ліпідів (ПОЛ), що впливає на фізіологічну функцію клітинних мембран. Кінцевим продуктом цих реакцій є малоновий диальдегід (МДА), маркер ПОЛ, як наслідок окисного стресу. Тому необхідно вивчати нові ефективні засоби натурального походження для боротьби з хворобами та покращення здоров'я медоносних бджіл,

використання яких допоможе уникнути багатьох побічних ефектів. Доведено, що механізми їхньої дії відрізняються від синтетичних речовин і препаратів за рахунок активації захисних реакцій організму на фізіологічному рівні [20].

Особливої уваги у системі профілактики захворюваності бджіл заслуговують дослідження щодо фізіологічного обґрунтування застосування пробіотиків, антибактеріальні й антифунгіальні властивості яких обумовлені високою антагоністичною активністю до широкого спектру патогенних та умовно патогенних мікроорганізмів, можливості їх синергічного поєднання з мікроелементами [13, 15].

Нормалізація кишкової бактеріальної мікрофлори медоносних бджіл — основа для їх фізіологічного росту, розвитку і розмноження, підсилення імунної відповіді та резистентності до дії патогенів [5, 13]. Після надходження в шлунково-кишковий тракт пробіотики чинять як пряму дію на патогенні та умовно-патогенні мікроорганізми, так і непряму — активуючи специфічні та неспецифічні захисні системи організму.

За різних експериментальних інфекційно-запальних моделей пробіотик *Lactobacillus casei* IMV В-7280 проявляв ефективну терапевтичну дію. Вплив цього пробіотику пов'язаний із фізіологічною нормалізацією кишкової мікрофлори та участю в модуляції запальних реакцій. У шлунково-кишковому тракті пробіотики чинять як пряму дію на патогенні та умовно патогенні мікроорганізми, так і непряму — активуючи специфічні та неспецифічні захисні системи організму [5, 13].

У зв'язку з вищевикладеним, метою досліджень було визначення впливу за різної періодичності застосування пробіотичного препарату класу *L. casei* IMV В-7280 на вміст загального білка, вміст продуктів перекисного окиснення ліпідів та активність каталази у гомогенатах тканинах організму бджіл.

Матеріали і методи

Дослідження проведені в Інституті біології тварин НААН на медоносних бджолах карпатської породи, відібраних для досліду з лабораторної пасіки. У дослідженнях використано ліофілізований пробіотичний штам *L. casei* IMV В-7280, виділений у відділі проблем інтерферону і імунomodляторів з асоційованої культури біологічного матеріалу та депонований в Українській колекції мікроорганізмів Інституту мікробіології та вірусології імені Д. К. Заболотного НАН України.

Дослідження були проведені в умовах лабораторного термостату на п'ятьох групах по 60–90 бджіл у кожній, аналогів за масою, силою сім'ї, віком матки. Бджоли контрольної (С) групи отримували підгодівлю з 60% цукрового сиропу в кількості 1 см³/групу/добу. Дослідна група 1 бджіл (Е1) додатково до 1 см³ цукрового сиропу отримувала розчин пробіотику *L. casei* В-7280 у концентрації 10⁶ КУО/см³ щодобово. Дослідна група 2 бджіл (Е2) аналогічно отримувала 1 см³ ЦС

щодобово і розчин пробіотика *L. casei* B-7280 у концентрації 10^6 КУО/см³ через добу. Дослідна група 3 (E3) отримувала 1 см³ ЦС щодобово і розчин пробіотика *L. casei* B-7280 через кожні 3 доби. Дослідна група 4 (E4) отримувала 1 см³ ЦС щодобово і розчин пробіотика *L. casei* B-7280 один раз на тиждень.

Бджіл контрольної та дослідних груп утримували в садках-контейнерах об'ємом 4 дм³ в аналогічних умовах лабораторного термостата ТС-80М-3 з мікро-вентиляцією за температури 30°C, вологості 74–76% протягом чотирьох тижнів дослідження.

У підготовчий період, а також на 28-у добу дослідного періоду з контрольної та дослідних груп відбирали бджіл для проведення фізіолого-біохімічних досліджень.

Для приготування гомогенату тканин всього організму групу бджіл масою 0,5 г гомогенізували з фізіологічним розчином у співвідношенні 1:10 за допомогою гомогенізатора (*Homogenizer Type 302*, Польща) на льоду. Проби центрифугували за 3000 г протягом 5 хв. Супернатант використовували для подальшого вимірювання ферментативної активності.

Вміст загального білка в організмі бджіл проводили за методом Кельдаля [10].

Активність каталази (1.11.1.6) визначали за допомогою здатності гідрогенпероксиду утворювати із солями молібдену стійкий кольоровий комплекс, інтенсивність якого визначали на спектрофотометрі (*Unico*, США) за довжини хвилі 410 нм проти води [12]. Активність каталази визначали в мкгМоль/хв·мг протеїну.

У гомогенаті тканин організму бджіл визначали вміст гідроперексидів [18] та ТБК-активні продукти за цією методикою [11].

Усі отримані цифрові дані статистично опрацьовані за допомогою комп'ютерної програми *Statistica* з використанням методу варіаційної статистики, а також

програми *Excel* з пакету послуг *Microsoft Office 2007* та 2010. Відмінності між групами вважали статистично вірогідними $P < 0.05$.

Результати й обговорення

Відомо, що білкові структури відображають стан організму, а також зміни, які відбуваються в ньому під впливом внутрішніх або зовнішніх чинників.

Аналіз результатів досліджень показує збільшення вмісту загального протеїну у тканинах цілого організму бджіл в групах E1–E3, але ці різниці невірогідні, що може вказувати на відсутність суттєвого впливу пробіотика *L. casei* B-7280 на концентрацію протеїнів у тканинах бджіл.

Дослідженнями вмісту загального протеїну у гомогенатах тканин організму бджіл показали збільшення його рівня в групі E4 на 17.19% і 24.60% ($P < 0.05$) відповідно щодо контролю та між підготовчим і дослідним періодами (рис. 1). Ці дані вказують на те, що, незалежно від терміну згодовування *L. casei* B-7280, вони не мають суттєвого впливу на синтез білків, окрім одноразового на тиждень внесення пробіотика.

Відомо, що активність каталази є одним з основних індикаторів загального стану антиоксидантної системи, яка бере участь у захисті організму від надмірної дії активних форм кисню, що призводять до розвитку оксидативного стресу.

Разом з тим, за результатами дослідження встановлено збільшення каталазної активності тканин організму бджіл на 79.80% і 38.07% в групах E1, E2 ($P < 0.05$) щодо контролю, а для бджіл групи E1 — на 52.75% ($P < 0.05$) порівняно з підготовчим періодом (рис. 2).

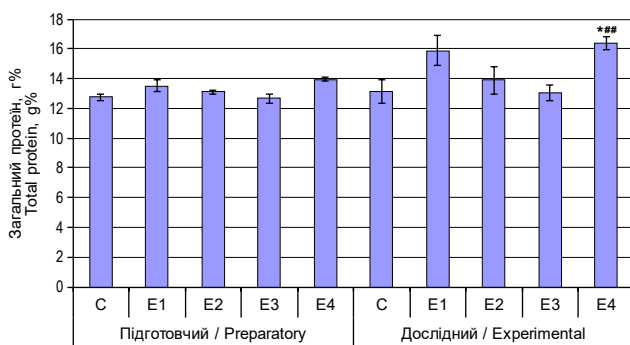


Рис. 1. Вміст загального протеїну у гомогенатах тканин організму бджіл ($M \pm m$, $n=3$)
Fig. 1. Total protein content in bee body tissues homogenates ($M \pm m$, $n=3$)

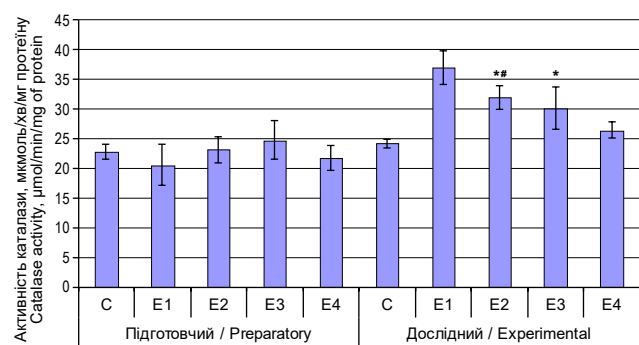


Рис. 2. Активність каталази у гомогенатах тканин організму бджіл, мкмоль/хв/мг протеїну ($M \pm m$, $n=3$)
Fig. 2. Catalase activity in bee body tissues homogenates, $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ of protein ($M \pm m$, $n=3$)

Примітка. На цьому та наступному рисунках: * — $P < 0.05$ — вірогідні різниці між контрольною та дослідними групами; # — $P < 0.05$, ## — $P < 0.01$ — вірогідні різниці в групі між періодами дослідження. C — контрольна група, E1 — перша дослідна група, E2 — друга дослідна група, E3 — третя дослідна група, E4 — четверта дослідна група.

Note. In this and the next figures: * — $P < 0.05$ — significant differences between the control and experimental periods by groups; # — $P < 0.05$, ## — $P < 0.01$ — significant differences in a group between study periods. C — control group, E1 — first experimental group, E2 — second experimental group, E3 — third experimental group, E4 — fourth experimental group.

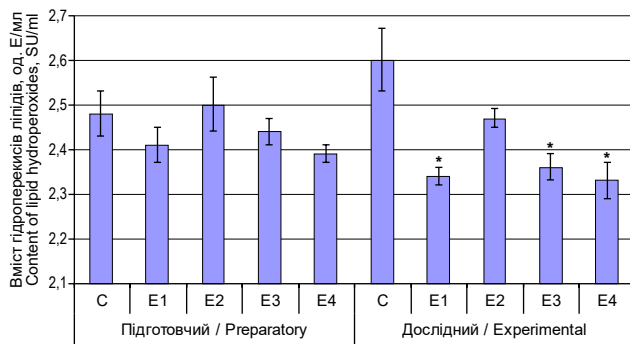


Рис. 3. Вміст гідроперексидів ліпідів в гомогенатах тканин організму бджіл ($M \pm m$, $n=3$)

Fig. 3. Lipid hydroperoxides content in bee body tissues homogenates ($M \pm m$, $n=3$)

Таким чином, пробіотики можуть надавати стимулюючу дію на опірність і життєздатність організму медоносних бджіл. Водночас у контрольній групі бджіл, які отримували розчин цукрового сиропу впродовж усього досліджу, активність каталази залишалася на сталому рівні [8, 22].

Надмірна активація процесів ПОЛ за зниженої активності антиоксидантної системи організму може призвести до значних патологічних змін. Це супроводжується насамперед пошкодженням субклітинних та клітинних мембран. Продукти ПОЛ призводять до порушення білок-ліпідних зв'язків в біомембранах, що провокує зміни еластичності волокон, ініціює фібропластичні процеси та старіння колагену [3, 7].

Вміст ГПЛ знижувався на 10,00%, 9,23% та 10,38% ($P < 0.05$) у групах E1, E2 і E3 порівняно з контрольною групою (рис. 3). Вміст ТБК-активних продуктів у дослідних групах E1, E2, E3 мав тенденцію до зменшення на тлі вірогідно нижчого рівня в групі E4 на 14,98% ($P < 0.01$) порівняно з підготовчим періодом (рис. 4).

Ці результати вказують, що додавання *L. casei* В-7280 впливало на антиоксидантну дію в організмі бджіл за різної тривалості підгодівлі; це супроводжувалося зниженням вмісту ТБК-активних продуктів і гідроперексидів ліпідів в гомогенатах тканин організму бджіл усіх дослідних груп, окрім E3, та впливало на життєздатність, що узгоджується з даними інших авторів [14].

Загалом наші дослідження показали, що згодовування бджолам до цукрового сиропу *L. casei* В-7280 за різної тривалості підгодівлі мало позитивний вплив на антиоксидантну систему організму бджіл.

Отже, за підгодівлі бджіл цукровим сиропом та розчином пробіотику *L. casei* В-7280 спостерігали зміни активності каталази, яка є маркером загального стану антиоксидантної системи бджіл. Підгодівля бджіл *L. casei* 10^6 КУО/мл характеризувалась відмінностями вмісту загального протеїну у тканинах цілого організму бджіл дослідних груп (E4 — $P < 0.05$) та зниженням вмісту ТБК-активних продуктів і гідроперексидів ліпідів, окрім дослідної групи E3. Отже, пробіотичні культури можуть мати стимулюючу дію на життєздатність бджіл та впливати на стан антиоксидантної системи організму бджіл.

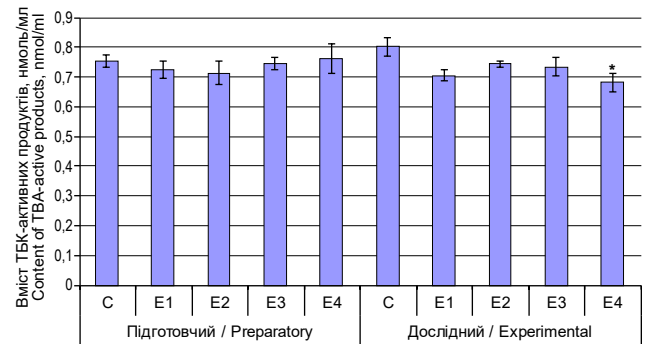


Рис. 4. Вміст ТБК-активних продуктів в гомогенатах тканин організму бджіл ($M \pm m$, $n=3$)

Fig. 4. Content of TBA-active products in bee body tissues homogenates ($M \pm m$, $n=3$)

Джерела

- Almasri H, Tavares DA, Diogon M, Pioz M, Alamil M, Sené D, Tchamitchian S, Cousin M, Brunet JL, Belzunces LP. Physiological effects of the interaction between *Nosema ceranae* and sequential and overlapping exposure to glyphosate and difenconazole in the honey bee *Apis mellifera*. *Ecotoxicol Environ Saf*. 2021; 217: 112258. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2021.112258.
- Bleau N, Bouslama S, Giovenazzo P, Derome N. Dynamics of the honeybee (*Apis mellifera*) gut microbiota throughout the overwintering period in Canada. *Microorganisms*. 2020; 8 (8): 1146. DOI: 10.3390/microorganisms8081146.
- Briganti S, Picardo M. Antioxidant activity, lipid peroxidation and skin diseases. *What's new. J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2003; 17 (6): 663–669. DOI: 10.1046/j.1468-3083.2003.00751.x.
- Daisley BA, Chmiel JA, Pitek AP, Thompson GJ, Reid G. Missing microbes in bees: How systematic depletion of key symbionts erodes immunity. *Trends Microbiol*. 2020; 28 (12): 1010–1021. DOI: 10.1016/j.tim.2020.06.006.
- Falalyeyeva TM, Leschenko IV, Beregova TV, Lazarenko LM, Savchuk OM, Sichel LM, Tsyryuk OI, Vovk TB, Spivak MY. Probiotic strains of lactobacilli and bifidobacteria alter pro- and anti-inflammatory cytokines production in rats with monosodium glutamate-induced obesity. *Fiziol Zh*. 2017; 63 (1): 17–25. DOI: 10.15407/fz63.01.017.
- Frias BED, Barbosa CD, Lourenço AP. Pollen nutrition in honey bees (*Apis mellifera*): impact on adult health. *Apidologie*. 2016; 47 (1): 15–25. DOI: 10.1007/s13592-015-0373-y.
- Galiniak S, Moloń M, Biesiadecki M, Bożek A, Rachel M. The role of oxidative stress in atopic dermatitis and chronic urticaria. *Antioxidants*. 2022; 11 (8): 1590. DOI: 10.3390/antiox11081590.
- Karavan V, Kachmaryk D, Cherevatov V, Panchuk I, Yazlovytska L. Influence of the summer feeding by carbohydrates on catalase activity in honey bees. *Sci Herald Chernivtsi Univer Biol Sys*. 2020; 12 (2): 156–165. DOI: 10.31861/biosystems2020.02.156.
- Karavan VV, Kachmaryk DY, Cherevatov VF, Yazlovytska LS. Influence of wintering temperature on the state of the antioxidant system in *Apis mellifera* L. *Biol Tvarin*. 2021; 23 (4): 32–42. DOI: 10.15407/animbior23.04.032. (in Ukrainian)
- Kjeldahl J. New method for the determination of nitrogen in organic substances. *Zeitschrift Anal. Chemie*. 1883; 22: 366–382. DOI: 10.1007/BF01338151. (in German)
- Korobeinykov EN. Modification of POL products determination in reaction with thiobarbituric acid. *Lab delo*. 1989; 7: 8–10.
- Korolyuk MA, Ivanova LI, Mayorova IG, Tokarev BE. Method for determining catalase activity. *Lab delo*. 1988; 1: 16–18.
- Kovalchuk II, Fedoruk RS, Mykola SY, Tsap MM, Pylypets AZ, Andrushulik RL. The effect of probiotic *Lactobacillus casei* В-7280 added

- in different doses with sugar syrup on the vitality of bees. *Bull Sumy Nat Agr Univer Ser Vet Med.* 2023; 1 (60): 39–45. DOI: 10.32782/bsnau.vet.2023.1.7.
14. Kovalchuk II, Fedoruk RS, Spivak MY, Romanovych MM, Iskra RY. *Lactobacillus casei* IMV B-7280 immunobiotic strain influence on the viability of honey bees and the content of microelements in the organism. *Mikrobiol Zh.* 2021; 83 (2): 42–50. DOI: 10.15407/mikrobiolj83.02.042.
 15. Lazarenko LM, Babenko LP, Mokrozub VV, Demchenko OM, Bila VV, Spivak MY. Effects of oral and vaginal administration of probiotic bacteria on the vaginal microbiota and cytokines production in the case of experimental staphylococcosis in mice. *Mikrobiol Zh.* 2017; 79 (6): 105–119. DOI: 10.15407/mikrobiolj79.06.105.
 16. Myronchuk VV. *The method of determination of hydroperoxides of lipids in biological tissues.* Patent a. s. no. 1084681 SSSR, MKY G no. 33/48, no. 3468369/28-13. Official Bull. 1984; 13: 2 p.
 17. Neov B, Georgieva A, Shumkova R, Radoslavov G, Hristov P. Biotic and abiotic factors associated with colonies mortalities of managed honey bee (*Apis mellifera*). *Diversity.* 2019; 11 (12): 237. DOI: 10.3390/d11120237.
 18. Postoienko VO, Nikitina LM, Zholobak NM, Zasiakin DA, Yefimenko TM, Odnosum HV, Postoienko HV. The influence of feeding the probiotic “Apinomin” and nanocerium on the indicators of life duration of bees in laboratory conditions. *Beekeep Ukraine.* 2023; 1 (9): 92–98. DOI: 10.46913/beekeepingjournal.2022.9.13.
 19. Romero S, Nastasa A, Chapman A, Kwong WK, Foster LJ. The honey bee gut microbiota: strategies for study and characterization. *Insect Mol Biol.* 2019; 28 (4): 455–472. DOI: 10.1111/imb.12567.
 20. Tauber JP, Collins WR, Schwarz RS, Chen Y, Grubbs K, Huang Q, Lopez D, Peterson R, Evans JD. Natural product medicines for honey bees: Perspective and protocols. *Insects.* 2019; 10 (10): 356. DOI: 10.3390/insects10100356.
 21. Tawfik AI, Ahmed ZH, Abdel-Rahman MF, Moustafa AM. Effect of some bee bread quality on protein content and antioxidant system of honeybee workers. *Int J Trop Insect Sci.* 2022; 43: 93–105. DOI: 10.1007/s42690-022-00888-2.
 22. 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.
 23. Zheng H, Steele MI, Leonard SP, Motta EVS, Moran NA. Honey bees as models for gut microbiota research. *Lab Anim.* 2018; 47: 317–325. DOI: 10.1038/s41684-018-0173-x.

Study of the probiotic *Lactobacillus casei* B 7280 action for different durations of use on the resistance of the bee organism

I. I. Kovalchuk^{1,2}, M. Ya. Spivak³, T. M. Khymynets², M. M. Tsap¹, A. Z. Pylypets¹, V. V. Kaplinskyi¹, M. M. Romanovych^{1,2}, R. L. Androshulik¹
mm_tsap@meta.ua

¹Institute of Animal Biology NAAS, 38 V. Stusa str., Lviv 79034, Ukraine

²Stepan Gzhytsky National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies Lviv, 50 Pekarska str., Lviv, 79010, Ukraine

³Institute of Microbiology and Virology named after D. K. Zabolotny NAS of Ukraine, 154 Acad. Zabolotny str., Kyiv, 03143, Ukraine

The scientific support of modern beekeeping is aimed at obtaining safe ecofriendly products, developing tools and methods for stimulating reproduction and increasing the bees' resistance to various pathogens, as well as protection from adverse environmental conditions. There is a trend to use new effective means of natural origin, whose mechanisms of action differ from synthetic substances and preparations due to the activation of the body's protective reactions at the physiological level. Probiotic *Lactobacillus casei* IMV B-7280 has an effective stimulating effect on physiological processes under various environmental and experimental conditions of bees' life. The physiological effect of this probiotic is associated with the intestinal bacterial microflora normalization and taking part in the body's protective reactions modulation. Therefore, the purpose of the research was to determine the effect of the probiotic preparation *L. casei* B-7280 on the content of protein, peroxidation products, and catalase activity in homogenates of bee body tissues for different durations of use. Bees of the control (C) group were fed with 60% sugar syrup in the amount of 1 ml/group/day. Experimental groups additionally received a probiotic *L. casei* B-7280 solution at a concentration of 10⁶ CFU/ml: experimental group 1 (E1) — daily; experimental group 2 (E2) — once every two days; experimental group 3 (E3) — once every four days; experimental group 4 (E4) — once a week. The total duration of drinking syrup and probiotics was 4 weeks. An increase in the content of total protein in the tissues of the entire bees' body was established in E1–E3 groups, but these differences are not significant, which may indicate the absence of an appreciable effect of the probiotic *L. casei* B-7280 on the protein concentration in bee tissues. An increase in the catalase activity of bee body tissues was observed by 79.80% and 38.07% in E1, E2 groups (P<0.05) compared to the control, and for bees of E1 group by 52.75% (P<0.05) compared to the preparatory period. The content of LHP decreased by 10.00%; 9.23% and 10.38% (P<0.05) in E1, E2 and E3 groups, respectively, compared to the control. The content of TBC-active products tended to decrease in experimental groups E1, E2, E3, and in E4 by 14.98% (P<0.01) compared to the preparatory period. The research results showed that the addition of *L. casei* B-7280 affected the antioxidant activity in the bees' body at different times of its feeding, which was accompanied by a decrease in the content of TBA-active products (MDA) and lipid hydroperoxides in the homogenates of the bees' body tissues in all experimental groups, except E3 group, and affected the viability of bees.

Key words: bees, probiotic, protein, peroxidation products, catalase activity