

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/nvlvet10305
<https://nvlvet.com.ua/index.php/journal>

UDC 619:638.15-08

Effect of “EM[®] PROBIOTIC FOR BEES” on the dynamics viability of bee in an entomological cage experiment

A. R. Lakhman¹, O. Ye. Galatiuk¹, T. A. Romanishina¹, K. O. Chirta-Sinelnyk², V. L. Behas¹, O. Yu. Zilko¹

¹Polissia National University, Zhytomyr, Ukraine

²“EM-Ukraine” Limited Liability Company, Kropyvnytskyi, Ukraine

Article info

Received 25.06.2021

Received in revised form

26.07.2021

Accepted 27.07.2021

Polissia National University,
Stary Boulevard, 7, Zhytomyr,
10008, Ukraine.

Tel.: +38-097-356-27-07

E-mail: tveterinar@gmail.com

“EM-Ukraine” Limited Liability
Company, Kropyvnytskyi, Ukraine.

Lakhman, A. R., Galatiuk, O. Ye., Romanishina, T. A., Chirta-Sinelnyk, K. O., Behas, V. L., & Zilko, O. Yu. (2021). Effect of “EM[®] PROBIOTIC FOR BEES” on the dynamics viability of bee in an entomological cage experiment. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 23(103), 27–34. doi: 10.32718/nvlvet10305

At present, Ukraine is one of the first honey producing country in Europe. Around 100 thousand tonnes of honey are produced annually in Ukraine, therefore, maintaining the health of the bee colonies is an important issue. The use of different groups of drugs for the prevention of bee diseases is strictly controlled, now the known alternatives to antibiotics are probiotics. The micro-organisms in these preparats are able to synthesise vitamins and amino acids necessary for the growth and development of bees, which in turn activates the immunocompetent cells of the insects and prolongs their life. The immunomodulatory and immunostimulatory ability of such supplements of “beneficial” microorganisms is known, both in veterinary and human medicine. The use of such remedies is therefore promising in the field of modern beekeeping. “EM[®] PROBIOTIC FOR BEES” is a biopreparation that positively influences the microbiological environment of insects, as the preparation is based on Effective Microorganisms[®]. The ability of this probiotic to influence the dynamics of life span of Ukrainian steppe bees in a wooden entomological cage experiment (in vivo) was the main objective of the experiment. The effect of the probiotic on bee viability was determined by daily analysis and counting the number of dead insects. The study involved the settlement of bees in a wooden entomological cages and the creation of optimal conditions for their keeping (at a temperature of +24 – +25 °C and a humidity of 50–70 %). The product was diluted with buckwheat honey syrup solution and sugar syrup solution at concentrations of 5 %; 2.5 %; 1.25 %; control groups of bees received native solutions of the sugar syrup and buckwheat honey syrup. The analysis of the results shows a positive effect of “EM[®] PROBIOTIC FOR BEES” on the longevity of Ukrainian steppe worker bees of the winter generation in a entomological cage experiment. A beneficial effect of the probiotic product diluted in sugar syrup at concentrations of 1.25 % to 5 % has been detected on the bee organism, which increased their lifespan. When the product was diluted with buckwheat honey syrup, the best longevity of the insects was recorded at a concentration of 1.25 % compared to the control group of bees. The coefficient of average life expectancy of bees indicates the predominance of sugar syrup as a solvent for this probiotic compared to buckwheat honey syrup under laboratory conditions.

Key words: winter bee generation, entomological cage, Ukrainian steppe bees, probiotic, viability of bees.

Вплив “EM[®] ПРОБІОТИК для БДЖІЛ” на динаміку тривалості життя бджіл в садковому досліді

A. Р. Лахман¹, О. Є. Галатюк¹, Т. О. Романишина¹, К. О. Чирта-Синельник², В. Л. Бегас¹, О. Ю. Зілько¹

¹Поліський національний університет, м. Житомир, Україна

²ТОВ “ЕМ-Україна”, м. Кропивницький, Україна

На теперішній час Україна займає одне з перших місць з виробництва меду серед країн Європи. Щороку близько 100 тис. тонн меду виробляється в Україні, тому важливим питанням є підтримка здоров'я бджолосімей у належному стані. Використання різних груп препаратів для профілактики хвороб бджіл строго контролюється, наразі відомими альтернативними засобами до антибіотиків є пробіотики. Мікроорганізми, що входять до складу таких засобів, здатні синтезувати низку вітамінів та амінокислот, необхідних для росту та розвитку бджіл, що своєю чергою призводить до активації імунітетних клітин організму комах, що сприяє продовженню тривалості їхнього життя. Імуномодуюча та імуностимулююча здатність таких добавок «корисних» мікроорганізмів відома як у ветеринарній, так і в гуманній медицині. Тому використання таких засобів є перспективним у галузі сучасного бджільництва. «EM® ПРОБІОТИК для БДЖІЛ» – біопрепарат, який позитивно впливає на мікробіологічне середовище комах, оскільки виготовлений на основі Ефективних Мікроорганізмів®. Здатність до впливу даного пробіотика на динаміку тривалості життя бджіл української степової породи в садковому експерименті (in vivo) було основною метою експерименту. Вплив пробіотика на життєздатність бджіл визначали шляхом щоденного аналізу і підрахунку кількості загинувших комах. Дослідження включало поселення бджіл у ентомологічні садки та створення оптимальних умов їх утримання (при температурі +24–+25 °C і вологості повітря 50–70 %). Препарат розводили медовою гречаною ситою та розчином цукрового сиропу у концентраціях 5 %, 2,5 %, 1,25 %; контрольні групи бджіл отримувати нативні розчини цукрового сиропу та гречаної медової сити. Аналіз отриманих результатів свідчить про позитивний вплив «EM® ПРОБІОТИКА для БДЖІЛ» на тривалість життя робочих бджіл української степової породи, зимової генерації, у садковому досліді. Зареєстровано сприятливу дію пробіотичного препарату, розведеного цукровим сиропом у концентраціях 1,25–5 % на бджолиний організм, що сприяє збільшенню тривалості їхнього життя. При розведенні препарату медовою гречаною ситою найдовша тривалість життя комах зареєстрована при концентрації 1,25 % порівняно із контрольною групою бджіл. Коефіцієнт середньої тривалості життя бджіл свідчить про перевагу цукрового сиропу як розчинника для даного пробіотика порівняно з гречаною медовою ситою в лабораторних умовах.

Ключові слова: зимова генерація бджіл, ентомологічні садки, бджоли української степової породи, пробіотик, життєздатність бджіл.

Вступ

Одним із важливих завдань для ветеринарної медицини, у тому числі практичному бджільництві, є підтримка тварин (бджолосімей) у здоровому стані. Вимоги до якості меду та його екологічності зростають у всьому світі, тому використання хімотерапевтичних засобів для профілактики хвороб бджіл строго контролюється. Як альтернативу антибіотикам розглянуто використання засобів, основою яких є «корисні» живі мікроорганізми, синтезовані на базі нормальної мікрофлори кишечника бджоли (Plak Gajger et al., 2020; Dostálková et al., 2021). Адже мікроби, які входять до складу пробіотиків, здатні до синтезу низки вітамінів, амінокислот та бактеріцидів (Stavropoulou & Bezirtoglou, 2020). Механізм впливу мікробіоти, яка входить до складу пробіотиків, на макроорганізм тварини специфічна для кожного виду, але існують спільні ознаки, наприклад, лікування та профілактика дисбалансу шлунково-кишкового тракту, запобігання адгезії збудників патогенних хвороб до слизової оболонки клітин кишечника, зниження титру сенсibiliзації організму тощо (Hesari et al., 2017). Бактерії роду *Bacillus* часто є складовими пробіотичних засобів, оскільки мають імуномодуючі якості та проявляють антагоністичну активність щодо патогенних мікроорганізмів (Alkaya et al., 2016; Ripert et al., 2016; Elshaghabe et al., 2017). Так, застосування пробіотичних засобів «СпасиПчел», «ПчелоНормоСил» і «АпиВрач» на основі біфідо- та молочнокислих бактерій спричинило збільшення тривалості життя бджіл та зниження концентрації кишкової палички у кишечнику комах (Mishukovskaya et al., 2019), а використання пробіотиків, які містять різні штами *Bacillus*, становлять новий підхід у боротьбі з інфекцією *Paenibacillus larvae* у медоносних бджіл (Daisley et al., 2020). Таким чином, не викликає сумнівів позитивний вплив пробіотичних засобів щодо організму тварин різних видів. Так, патогенетичні аспекти ідіопатично-

го запального захворювання кишечника собак залежать від функціонування кишкової мікробіоти. Терапія даної хвороби певним чином пов'язана із застосуванням пробіотиків. Використання засобів, що містять корисні мікроорганізми, призвело до збільшення кількості *Bifidobacterium* spp. та *Lactobacillus* spp. у собак, що свідчить про сприятливий вплив даного лікування на гомеостаз слизової оболонки пацієнтів (White et al., 2017). Досліджене також використання пробіотиків, створених на основі ефективних мікроорганізмів (EM), складу *Lactobacillus* spp., *Bifidobacterium* spp., *Lactococcus* spp., *Streptococcus thermophilus*, *Bacillus subtilis*, *Rhodopseudomonas* spp. і дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*, у птахівництві. Так, результати досліджень застосування засвідчили відсутність негативного впливу на м'ясну продуктивність курчат-бройлерів, зумовлюючи підвищення вмісту води у м'ясі, зміну його пружності та здатності до перетравлення (Stępczyński & Kokoszynski, 2019). Відоме застосування добавок, які містять у складі корисні мікроорганізми, для профілактики та лікування дисбіозів та як імуномодуючих засобів у гуманній медицині (Kaźmierczak-Siedlecka et al., 2020; Marttinen et al., 2020; Oniszczuk et al., 2021). Встановлено різний рівень антагоністичної активності препаратів-пробіотиків (Біфілак-екстра та Симбітер-2) щодо штамів мікроорганізмів різних таксономічних груп, а саме: до *E. coli*, *E. faecalis*, *C. albicans*, *S. aureus*, *S. epidermidis*, *K. pneumoniae*, ізольованих від жінок, хворих бактеріальним вагінітом (Solonyna, 2018). Проте пошуки пробіотичних засобів, які містять у своєму складі оптимальні, корисні мікроорганізми, що мають антагоністичну дію щодо патогенних бактерій бджіл, є першочерговим завданням для ветеринарних спеціалістів сучасного бджільництва. Сьогодні на ринку представлений пробіотичний засіб «EM® ПРОБІОТИК для БДЖІЛ», що являє собою збалансовану групу мікроорганізмів різних фізіологічних груп, які позитивно впливають на організм бджіл при за-

стосуванні вищевказаного засобу (EM-Ukraine). Даний препарат представлений корпорацією EMRO (Японія) разом з ТОВ “ЕМ-Україна” (Україна) та використовується для стимуляції імунного захисту, несприятливості до факторів навколишнього середовища та поліпшення стану здоров'я бджолиних колоній (EMRO; Prado et al., 2020). Тому основним завданням дослідження є оцінка впливу даного засобу розведеного різними розчинниками у різних концентраціях на тривалість життя здорових бджіл української степової породи зимової генерації в садках.

Мета дослідження – вивчити вплив “ЕМ[®] ПРОБІОТИКА для БДЖІЛ” на динаміку тривалості життя зимової генерації бджіл в садковому експерименті (*in vivo*).

Матеріал і методи досліджень

Дослідження виконувались на базі науково-дослідної лабораторії кафедри мікробіології, фармакології та епізоотології факультету ветеринарної медицини Поліського національного університету (м. Житомир) у жовтні 2020 р.

Бджіл української степової породи зимової генерації (для даного етапу експерименту) підібрано методом аналогів у кількості 176 осіб з приватної пасіки ФОП Затулка М. В. (с. Вереси, Житомирський район Житомирської області). Дослідних комах утримували у 8 дерев'яних ентомологічних садках (20 × 15 × 6 см) у вентиляваному термостаті при температурі +24–+25 °С і вологості повітря 50–70 %. Садки мали скляні екрани – з одного боку – для спостереження за комахами та решітки – з протилежного боку – з діаметром комірок 2 мм. У верхній частині садочка присутній отвір для годівлі комах.

Комерційно доступний “ЕМ[®] ПРОБІОТИК для БДЖІЛ”, представлений корпорацією EMRO (Японія) разом з ТОВ “ЕМ-Україна” (Україна), являє собою пробіотичну формулу кількох видів молочнокислих бактерій, дріжджів та фотосинтезуючих мікроорганізмів (Yevropeyska konventsiya, 1986). Вплив пробіотичного засобу на життєздатність бджіл визначали в лабораторних умовах (у садках) шляхом щоденного аналізу і підрахунку кількості загинувших бджіл.

Для оцінки впливу “ЕМ[®] ПРОБІОТИКА для БДЖІЛ” було сформульовано 2 серії дослідів – з розведеннями препарату медовою гречаною ситою (1 частина меду : 1 частина води) та цукровим сиропом (2 частини цукру : 1 частина джерельної води). Препарат додавали у готову суміш гречаної сити та цукрового сиропу, температура яких не перевищувала 30–36 °С. Комахам згодовували різні концентрації – 5 %; 2,5 %; 1,25% – “ЕМ[®] ПРОБІОТИКА для БДЖІЛ”, розведеного гречаною медовою ситою – садочки № 1, 2, 3; аналогічні концентрації готували і на цукровому сиропі – садочки № 5, 6, 7 відповідно. Бджолам контрольних садків згодовували нативну гречану медову ситою – садочок № 4 і нативний цукровий сироп – садочок № 8.

Підкормки готували щоденно і вносили в об'ємі 3–5 см³ на одну годівлю у годівнички кожного садка

тричі на добу. Фізіологічний стан (кормову і рухову поведінку) комах реєстрували щоденно протягом усього періоду досліджень, мертвих комах видаляли з садків у міру їх загибелі. Загальний експеримент тривав 18 діб (загибель останньої дослідної бджоли), певною мірою завершення експерименту для кожного садка мало конкретну добу; після чого було визначено динаміку загибелі бджіл.

Тривалість життя бджіл аналізували шляхом визначення коефіцієнту середньої тривалості життя. Розрахунки проводили за формулою:

$KCTЖ = (a_1 + a_2 + a_3 + \dots + a_{12}) / N$, де КСТЖ – коефіцієнт середньої тривалості життя бджіл; $a_1 + a_2 + a_3 + \dots + a_{12}$ – кількість живих бджіл на 1, 2, 3, 4 і т. д. доби; N – кількість бджіл на початок досліджень (Prado et al., 2020).

Дослідження проведені згідно з Європейською конвенцією про захист тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей 1986 р. (Yevropeyska konventsiya, 1986), і статті 26 Закону України “Про захист тварин від жорстокого поводження (правила поводження з тваринами, що використовуються в наукових експериментах, тестуванні, навчальному процесі та виробництві біопрепаратів)” (Zakon Ukrayiny, 2021). Висновок комісії з біоетики факультету ветеринарної медицини Поліського національного університету № 10 від 26.10.2020 року.

Статистична обробка даних та побудова діаграм проведена за допомогою комп'ютерної програми програми Excel з пакету послуг Microsoft Office-2019.

Результати та їх обговорення

Мікробіотичний склад кишечника бджіл достатньо мінливий. На нього можуть впливати екзо- та ендогенні фактори, такі як порода комах, пора року, дія пестицидів, радіоактивний вплив, лікарські препарати та засоби, що використовуються для лікування хвороб бджіл тощо. Порушення або дисбаланс мікрофлори, яка колонізує середню кишку комах, призводить до суттєвого скорочення їх життя. Відомо, що профілактика хвороб є значно економічно вигіднішою для власників пасік, ніж лікування захворювання. Наразі існує новий підхід у терапії та профілактиці інфекційних бактеріальних хвороб бджіл, який передбачає впровадження у лікувально-терапевтичні схеми пробіотиків (Glavinic et al., 2017; Stavropoulou & Bezirtzoglou, 2020; Borges et al., 2021). Використання певних груп мікроорганізмів, що входять до складу деяких пробіотичних засобів, стимулює роботу імунокомпетентних органів бджіл, поліпшує зимівлю, подовжує тривалість життя та підвищує силу бджолиних колоній (Mishukovskaya et al., 2019).

Визначення ефективності препарату щодо збільшення тривалості життя медоносних бджіл досліджено нами у садових експериментах *in vivo*. Добова динаміка смертності бджіл при застосуванні різних концентрацій “ЕМ[®] ПРОБІОТИКА для БДЖІЛ”, розведеного гречаною медовою ситою та цукровим сиропом, наведена у таблиці 1.

Таблиця 1

Динаміка загибелі бджіл у садках при розведенні розчину “EM® ПРОБІОТИКА для БДЖІЛ” медовою гречаною ситою

| | | Кількість загиблих бджіл, % | | | | | | | |
|---------------|---------------|---|-------|--------------|-------|---------------|-------|------------------|-------|
| | | Дослідні групи (концентрації робочих розчинів “EM® ПРОБІОТИКА для БДЖІЛ”) | | | | | | Контрольні групи | |
| | | 5 % розчин | | 2,5 % розчин | | 1,25 % розчин | | Нативний розчин | |
| | | сита | сироп | сита | сироп | сита | сироп | сита | сироп |
| Доба досліджу | № досл. групи | 1 | 5 | 2 | 6 | 3 | 7 | 4 | 8 |
| 1 | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 2 | | 0 | 0 | 10 | 7,14 | 3,33 | 15,63 | 17,14 | 10,34 |
| 3 | | 3,33 | 0 | 0 | 7,14 | 3,33 | 3,13 | 2,86 | 0 |
| 4 | | 6,67 | 11,11 | 0 | 3,57 | 0 | 0 | 11,43 | 0 |
| 5 | | 0 | 18,52 | 3,33 | 14,29 | 10 | 3,13 | 8,57 | 0 |
| 6 | | 10 | 0 | 23,33 | 0 | 0 | 0 | 2,86 | 0 |
| 7 | | 30 | 14,81 | 40 | 10,71 | 50 | 25 | 22,86 | 27,59 |
| 8 | | 0 | 3,7 | 0 | 0 | 20 | 3,13 | 34,29 | 0 |
| 9 | | 0 | 0 | 6,67 | 10,71 | 3,33 | 0 | - | 13,79 |
| 10 | | 30 | 14,81 | 6,67 | 0 | 3,33 | 6,25 | - | 0 |
| 11 | | 0 | 11,11 | 0 | 0 | 3,33 | 0 | - | 48,28 |
| 12 | | 20 | 7,41 | 3,33 | 7,14 | 0 | 0 | - | - |
| 13 | | - | 0 | 6,67 | 10,71 | 0 | 6,25 | - | - |
| 14 | | - | 3,70 | - | 14,29 | 3,33 | 3,13 | - | - |
| 15 | | - | 7,41 | - | 0 | - | 6,25 | - | - |
| 16 | | - | 7,41 | - | 10,71 | - | 6,25 | - | - |
| 17 | | - | - | - | 3,57 | - | 9,38 | - | - |
| 18 | | - | - | - | - | - | 12,5 | - | - |

Примітка: “-” – загинуло 100 % бджіл у садку

Аналіз отриманих даних показав, що бджоли *контрольної групи*, яким згодовували нативну гречану медову сито, почали гинути на 2-у добу (17,14 % від кількості бджіл на початок досліджу). Ймовірно, загибель комах цієї групи є результатом адаптивних механізмів організму до неприродних (лабораторних) умов існування. У наступні терміни спостережень кількість загиблих бджіл даної групи зростала з термінальною загибеллю (100 % бджіл) на 8-у добу (34,29 % від початкової кількості бджіл). Відомо, що мед містить унікальні антибактеріальні компоненти, які інгібують синтез факторів вірулентності патогенних мікроорганізмів (Hussain, 2018). Пре-, пробіотики та цинк, які входять до складу медової сити, посилюють розвиток бактерій організму бджоли (Saranraj et al., 2016; Hussain, 2018). Своєю чергою умовно-патогенна мікрофлора середньої кишки комах, за сприятливих для них умов, набуває вірулентності, що спричиняє антигенне навантаження на макроорганізм господарів. Крім того, гречаний мед багатий на білок (Ahmad et al., 2017), при годівлі бджіл такою підкормкою спостерігалось явище алкалозу, оскільки аміак є кінцевим продуктом розпаду білка. У ході спостереження бджоли контрольної групи мали різкий запах

аміаку, така особливість характерна при зміні співвідношення катіонів основ та аніонів кислот в бік зсуву катіонів.

Водночас динаміка загибелі бджіл у *дослідних групах* була неоднакова. Так, при концентрації препарату 2,5 % і 1,25 % реєстрували різкий відхід бджіл на 7-у добу – 40 % і 50 % відповідно, причому за фізіологічними показниками – комахи у цих садках були активні та агресивні. Таку поведінку пояснюємо нейротоксичною дією аміаку, який утворився внаслідок дезамінування амідів і амінів сити гречаного меду адезинодезаміназою (Li et al., 2020; Shi et al., 2020) та пусковими механізмами імунокомпетентних гемоцитів і синтезом їх метаболітів через тиждень після початку досліджу (Daníhlík et al., 2015). Відповідно – низькорезистентні бджоли загинули, а в організмі інших особин відбулися позитивні компенсаторні зміни, що підтверджується фізіологічними проявами (активністю, гарним апетитом). Тому тривалість життя комах варіювала у межах 13–14 доби. У першій дослідній групі (концентрація препарату 5 %) виявлялась інша тенденція: спостерігали ступеневу загибель бджіл – 7-а доба – 30 %; 10-а доба – 30 %;

12-а доба – 20 %. Причому високі концентрації (5 %) в лабораторних умовах викликають інфекційний процес зі ступеневою загибеллю бджіл, залежно від резистентності бджіл даної групи.

Найкращі результати тривалості життя бджіл при згодовуванні препарату, розведеного медовою гречаною ситою, отримані при 1,25 % концентрації, що пояснюємо взаємодією активних складових “ЕМ[®] ПРОБІОТИКА для БДЖІЛ” з компонентами медової сити, що впливає на фізіологічні показники макроорганізму бджоли.

Відомо, що в деякі періоди року природні ресурси є обмеженими і не відповідають потребам бджолиних колоній, тому практичні бджолярі зазвичай підтримують бджолосім’ї за допомогою додаткових джерел вуглеводів (Krainer et al., 2016), використовуючи саморобні розчини цукрових сиропів у вигляді підкормки (Frizzera et al., 2020).

В ході експерименту другого блоку досліджу з розведеннями “ЕМ[®] ПРОБІОТИКА для БДЖІЛ” цукровим сиропом різку загибель бджіл (10,71–27,59 %) усіх груп, в тому числі й контрольної, спостерігали на 7-у добу зі збереженням активних фізіологічних показників комах (табл. 1). Таку тенденцію інтерпретуємо дією стресового фактору (утримання в лабораторних умовах) на комах та декомпенсаторними процесами систем організму.

Тривалість життя бджіл контрольної (восьмої) групи, яким згодовували нативний цукровий сироп, становила 11 діб. Причому загибель комах виявляли на 2-у добу – 10,34 %; 7-у добу – 27,59 % та 11-у добу – 48,28%. У бджіл п’ятої та шостої дослідних груп реєструвалась хвилеподібна тенденція загибелі: при концентрації 5 % – на 5-у добу – 18,52 %; на 7-у добу

– 14,81 %; на 10–11 доби – 14,81–11,11 %; при концентрації 2,5 % – на 5-у добу – 14,29 %; на 7, 9, 13, 16 доби – 10,71 %; на 14-у добу – 14,29 %.

Такі показники загибелі свідчать про підвищене антигенне навантаження “ЕМ[®] ПРОБІОТИКА для БДЖІЛ” на імунокомпетентні клітини організму бджіл. Імунітет комах являє собою декілька рівнів опору щодо зовнішніх патогенів. Він формується на основі фізичних бар’єрів, активації клітинного та гуморального імунітетів. Ключовими компонентами гуморального імунітету бджіл є антимікробні пептиди (апідаєцини, абаєцини, гіменоптаєцини та дефенсин), що забезпечують генерацію проникнення до прокариотичних мембран та інгібування згортання бактеріальних білків (Daniluk et al., 2015; Cappa et al., 2020). Своєю чергою клітинний імунітет ґрунтується на сукупності реакцій у вигляді фагоцитозу, що забезпечується специфічними гемоцитами, інкапсуляції патогенів та їх елімінації (Palmer-Young et al., 2017). Специфічні клітини крові бджіл є первинними медіаторами клітинного імунітету, оскільки вони змушені швидко розпізнавати та знешкоджувати патогенні мікроорганізми, які потрапляють у гемолімфу комах. Зазвичай клітинна та гуморальна імунна відповідь формується одночасно. Наприклад, гемоцити та система фенолоксидазі провокують негайну імунну відповідь комах за дії різних негативних факторів (Negri et al., 2016).

Найкращі результати тривалості життя бджіл в садкових дослідах отримані при згодовуванні 1,25 % (7 садок) розчину “ЕМ[®] ПРОБІОТИК для БДЖІЛ”, розведеного цукровим сиропом (18 діб), при цьому загибель бджіл виявляли поступово, починаючи з 8-ї доби, і завершили на 18-у добу (рис. 1).



Рис. 1. Порівняння тривалості життя бджіл при впливі різних концентрацій “ЕМ[®] ПРОБІОТИКА для БДЖІЛ”, розведеного цукровим сиропом та гречаною медовою ситою

Додавання “ЕМ[®] ПРОБІОТИКА для БДЖІЛ”, що містять у своєму складі 86 штамів Ефективних Мікроорганізмів[®] (EMRO), до цукрового сиропу, ймовірно, супроводжує зміну рН розчинів-підкормок, внаслідок чого вони стають тотожні водневному показнику меду (природньому корму), що своєю

чергою поліпшує засвоєння пробіотичного препарату бджолиним організмом. Таким чином, заселення Ефективних Мікроорганізмів[®] та їх позитивна засвоєваність продовжує тривалість життя бджіл у лабораторних умовах.

Середня тривалість життя бджіл в лабораторних

умовах при згодовуванні різних концентрацій “ЕМ[®] ПРОБІОТИКА для БДЖІЛ”, розведеного цукровим сиропом – 17,33 діб, а розведеного медовою гречаною ситою – 13 діб після заселення бджіл у садки. Найбільш суттєва різниця виявлена при порівнянні тривалості життя комах: а) груп № 3 (1,25 % розчин “ЕМ[®] ПРОБІОТИКА для БДЖІЛ”, розведеного медовою гречаною ситою) і групи № 4 (нативна

медова гречана сита) – 42,86 %; б) груп № 7 (1,25 % розчин “ЕМ[®] ПРОБІОТИКА для БДЖІЛ”, розведений цукровим сиропом) і групи № 8 (нативний цукровий сироп) – 38,89 %.

Аналіз коефіцієнтів середньої тривалості життя бджіл (КСТЖБ), протягом усього експерименту довів позитивний вплив “ЕМ[®] ПРОБІОТИКА для БДЖІЛ” на тривалість життя комах (рис. 2).

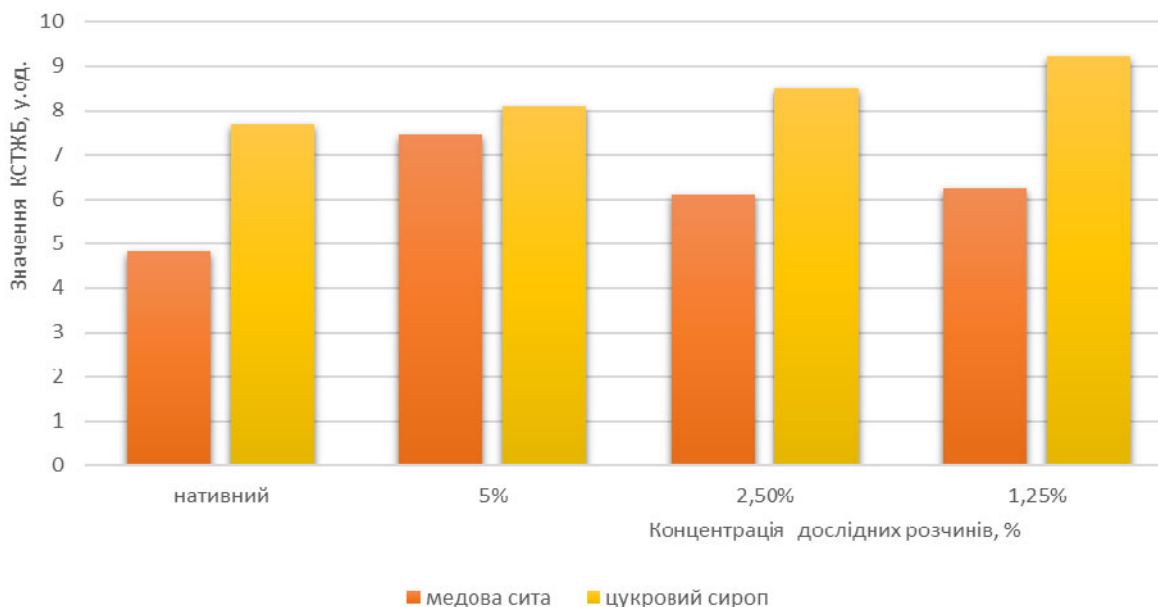


Рис. 2. Значення коефіцієнтів середньої тривалості життя бджіл при впливі різних концентрацій “ЕМ[®] ПРОБІОТИКА для БДЖІЛ”, розведеного цукровим сиропом та гречаною медовою ситою

Різниця коефіцієнтів, визначених у групах при застосуванні нативних розчинів без додавання препарату, свідчить про переваги цукрового сиропу як розчинника для “ЕМ[®] ПРОБІОТИКА для БДЖІЛ”, порівняно з гречаною медовою ситою в лабораторних умовах. Найвище значення КСТЖБ визначене для 7 групи і становить 9,22 умовних одиниць (у. од.) при застосуванні розчину 1,25 % концентрації, розведеного цукровим сиропом. Визначена обернена залежність між показником КСТЖБ та концентрацією препарату у всіх дослідних групах бджіл, яким згодовували “ЕМ[®] ПРОБІОТИК для БДЖІЛ”, розведений цукровим сиропом.

“ЕМ[®] ПРОБІОТИК для БДЖІЛ” має позитивний вплив на динаміку тривалості життя робочих бджіл української степової породи зимової генерації у садкових дослідках. Концентрація 1,25 % у лабораторних умовах виявилась найдієвішою, однак варто зауважити, що бджоли утримувалися у неприродних стресових для них умовах (в лабораторії), отримували лише дослідні підкормки, а не звичні для годівлі різноманітні поживні речовини (пилкок та нектар), тому, можливо, в природних умовах концентрація препарату може бути вищою без токсичного ефекту. Найдовша тривалість життя бджіл встановлена на рівні 18 діб, такий термін пояснюємо важливістю соціального імунітету бджолиних колоній. Відомим фактом є синтез *Apis mellifera* специфічного антисептичного ферменту –

глюкозооксидази по всій колонії, тим самим забезпечувався імунний захист усім особинам у вулику (Jones et al., 2018).

Висновки

1. “ЕМ[®] ПРОБІОТИК для БДЖІЛ” справляє вплив на динаміку загибелі та тривалість життя робочих бджіл української степової породи зимової генерації у садковому експерименті (*in vivo*). Показник підвищення тривалості життя бджіл у всіх дослідних групах суттєво перевищує значення контрольних груп.

2. У лабораторних умовах найкращий ефект тривалості життя бджіл встановлений при згодовуванні 1,25 % (18 діб) – 5 % (16 діб) “ЕМ[®] ПРОБІОТИКА для БДЖІЛ”, розведеного цукровим сиропом (2 частини цукру : 1 частина джерельної води).

3. При розведенні препарату “ЕМ[®] ПРОБІОТИК для БДЖІЛ” гречаною медовою ситою найдовша тривалість життя бджіл становила 14 діб при 1,25 % концентрації. Гречану медову ситу недоцільно використовувати як розчинник для “ЕМ[®] ПРОБІОТИКА для БДЖІЛ”, що аргументуємо швидшою загибеллю комах порівняно із групами бджіл, яким згодовано препарат, розведений цукровим сиропом.

4. Різниця коефіцієнтів середньої тривалості життя бджіл (КСТЖБ), визначених у групах при застосуванні нативних розчинів без додавання препарату, свідчить про доцільність застосування цукрового сиропу як розчинника для “ЕМ[®] ПРОБІОТИК для БДЖІЛ”.

Відомості про конфлікт інтересів

Автори стверджують про відсутність конфлікту інтересів.

References

- Ahmad, R. S., Hussain, M. B., Saeed, F., Waheed, M., & Tufail, T. (2017). Phytochemistry, metabolism and ethnomedical scenerio of honey: A concurrent review. *International Journal of Food Properties*, 20(1), 1–16. doi: 10.1080/10942912.2017.1295257.
- Alkaya, B., Laleman, I., Keceli, S., Ozcelik, O., CenkHaytac, M., & Teughels, W. (2016). Clinical effects of probiotics containing *Bacillus* species on gingivitis: a pilot randomized controlled trial. *J. Periodontal. Res.*, 52(3), 497–504. doi: 10.1111/jre.12415.
- Borges, D., Guzman-Novoa, E., & Goodwin, P. H. (2021). Effects of prebiotics and probiotics on honey bees (*Apis mellifera*) infected with the microsporidian parasite *Nosema ceranae*. *Microorganisms*, 9(3), 481. doi: 10.3390/microorganisms9030481.
- Cappa, F., Petrocelli, I., Cini, A., Pepiciello, I., Giovannini, M., Lazzeri, A., Perito, B., Turillazzi, S. & Cervo, R. (2020). Immunity of honeybee guards reflects their transition from house bees to foragers. *Ethology Ecology & Evolution*, 32(3), 289–295. doi: 10.1080/03949370.2019.1695228.
- Daisley, B., Pitek, A., Chmiel, J., Al, K., Chernyshova, A., Faragalla, K., Burton, J., Thompson, G., & Reid, G. (2020). Novel probiotic approach to counter *Paenibacillus* larvae infection in honey bees. *The ISME journal*, 14(2), 476–491. doi: 10.3388/s41396-019-0541-6.
- Danihlík, J., Aronstein, K., & Petřivalský, M. (2015). Antimicrobial peptides: a key component of honey bee innate immunity: Physiology, biochemistry, and chemical ecology. *Journal of Apicultural Research*, 54(2), 123–136. doi: 10.1080/00218839.2015.1109919.
- Dostálková, S., Dobeš, P., Kunc, M., Hurychová, J., Škrabišová, M., Petřivalský, M., Titěra, D., Havlík, J., Hyršl, P., & Danihlík, J. (2021). Winter honeybee (*Apis mellifera*) populationsshow greater potential to induce immune response than summer ones after immune stimuli. *Journal of Experimental Biology*, 224(Pt 3), jeb232595. doi: 10.1242/jeb.232595.
- Elshaghabee, F. M. F., Rokana, N., Gulhane, R. D., Sharma, C., & Panwar, H. (2017). *Bacillus* as potential probiotics: status, concerns, and future perspectives. *Front Microbiol*, 8, 1490. doi: 10.3389/fmicb.2017.01490.
- 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).
- Frizzera, D., Del Fabbro, S., Ortis, G., Zanni, V., Bortolomeazzi, R., Nazzi, F., & Annoscia, D. (2020). Possible side effects of sugar supplementary nutrition on honey bee health. *Apidologie*, 51(4), 594–608. doi: 10.1007/s13592-020-00745-6.
- Glavinic, U., Stankovic, B., Draskovic, V., Stevanovic, J., Petrovic, T., Lakic, N., & Stanimirovic, Z. (2017). Dietary amino acid and vitamin complex protects honey bee from immunosuppression caused by *Nosema ceranae*. *PloS one*, 12. doi: 10.1371/journal.pone.018772.
- Hesari, M. R., Darsanaki, R. K., & Salehzadeh, A. (2017). Antagonistic activity of probiotic bacteria isolated from traditional dairy products against *E. coli* O157: H7. *Journal of Medical Bacteriology*, 6(3-4), 23–30. URL: <https://jmb.tums.ac.ir/index.php/jmb/article/view/332>.
- Hussain, M. B. (2018). Role of honey in topical and systemic bacterial infections. *The Journal of Alternative and Complementary Medicine*, 24(1), 15–24. doi: 10.1089/acm.2017.0017.
- Jones, B., Shipley, E., & Arnold, K. E. (2018). Social immunity in honey bees – Density dependence, diet, and body mass trade-offs. *Ecology and evolution*, 8(10), 4852–4859. doi: 10.1002/ece3.4011.
- Kalidasan, G., Saranraj, P., Ragul, V., & Sivasakthi, S. (2017). Antibacterial activity of natural and commercial honey-a comparative study. *Adv Biol Res*, 11(6), 365–372. doi: 10.5829/idosi.abr.2017.365.372.
- Kaźmierczak-Siedlecka, K., Daca, A., Fic, M., van de Wetering, T., Folwarski, M., & Makarewicz, W. (2020). Therapeutic methods of gut microbiota modification in colorectal cancer management—fecal microbiota transplantation, prebiotics, probiotics, and synbiotics. *Gut Microbes*, 11(6), 1518–1530. doi: 10.1080/19490976.2020.1764309.
- Krainer, S., Brodschneider, R., Vollmann, J., Crailsheim, K., & Riessberger-Gallé, U. (2016). Effect of hydroxymethylfurfural (HMF) on mortality of artificially reared honey bee larvae (*Apis mellifera carnica*). *Ecotoxicology*, 25(2), 320–328. doi: 10.1007/s10646-015-1590-x.
- Li, Z., Hou, M., Qiu, Y., Zhao, B., Nie, H., & Su, S. (2020). Changes in antioxidant enzymes activity and metabolomic profiles in the guts of honey bee (*Apis mellifera*) larvae infected with *ascosphaera apis*. *Insects*, 11(7), 419. doi: 10.3390/insects11070419.
- Marttinen, M., Ala-Jaakkola, R., Laitila, A., & Lehtinen, M. J. (2020). Gut microbiota, probiotics and physical performance in athletes and physically active individuals. *Nutrients*, 12(10), 2936–2942. doi: 10.3390/nu12102936.
- Mishukovskaya, G. S., Giniyatullin, M. G., Kuznetsova, T. N., Smol'nikova, Ye. A., Naurazbayeva, A. I., & Giniyatullin, S. S. (2019). Rezul'taty sadkovykh opytov po ispol'zovaniyu probiotikov v podkormke pchel [Results of cage experiments on the use of probiotics in feeding bees]. *Vestnik Bashkirskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta*, (1), 62–70. doi: 10.31563/1684-7628-2019-49-1-62-70 (in Russian).
- Negri, P., Maggi, M., Ramirez, L., Szawarski, N., De Feudis, L., Lamattina, L., & Eguaras, M. (2016). Cellular immunity in *Apis mellifera*: studying hemocytes brings light about bees skills to confront threats. *Apidologie*, 47(3), 379–388. doi: 10.1007/s13592-015-0418-2.

- Oniszczyk, A., Oniszczyk, T., Gancarz, M., & Szymańska, J. (2021). Role of gut microbiota, probiotics and prebiotics in the cardiovascular diseases. *Molecules*, 26(4), 1172. doi: 10.3390/molecules26041172.
- Palmer-Young, E. C., Tozkar, C. Ö., Schwarz, R. S., Chen, Y., Irwin, R. E., Adler, L. S., & Evans, J. D. (2017). Nectar and pollen phytochemicals stimulate honey bee (Hymenoptera: Apidae) immunity to viral infection. *Journal of economic entomology*, 110(5), 1959–1972. doi: 10.1093/jee/tox193.
- Prado, A., Requier, F., Crauser, D., Le Conte, Y., Bretagnolle, V., & Alaux, C. (2020). Honeybee lifespan: the critical role of pre-foraging stage. *Royal Society open science*, 7(11). doi: 10.1098/rsos.200998.
- Ripert, G., Racedo, S. M., Elie, A. M., Jacquot, C., Bressollier, P., & Urdaci, M. C. (2016). Secreted compounds of the probiotic *Bacillus clausii* strain O/C inhibit the cytotoxic effects induced by *Clostridium difficile* and *Bacillus cereus* toxins. *Antimicrob. Agents Chemother*, 60(6), 3445–3454. doi: 10.1128/AAC.02815-15.
- Saranraj, P., Sivasakthi, S., & Feliciano, G. D. (2016). Pharmacology of Honey: A Review. *Advances in Biological Research*, 10(4), 271–289. doi: 10.5829/idosi.abr.2016.10.4.104104.
- Shi, J., Yang, H., Yu, L., Liao, C., Liu, Y., Jin, M., & Wu, X. B. (2020). Sublethal acetamiprid doses negatively affect the lifespans and foraging behaviors of honey bee (*Apis mellifera* L.) workers. *Science of the Total Environment*, 738, 139924. doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.139924.
- Solonyna, N. L. (2018). Antagonistychni vlastyivosti laktobakteriy z probiotychnykh preparativ u vidnoshenni rezystentnykh shtamiv mikroorhanizmiv [Antagonistic properties of lactobacilli from probiotic drugs against resistant strains of microorganisms]. *Medychnyy forum*, 72–74 (in Ukrainian).
- Stavropoulou, E., & Bezirtzoglou, E. (2020). Probiotics in medicine: a long debate. *Frontiers in Immunology*, 11(2192), 1–20. doi: 10.3389/fimmu.2020.02192.
- Stępczyński, K., & Kokoszynski, D. (2019). Effects of probiotics and sex on physicochemical, sensory and microstructural characteristics of broiler chicken meat, *Italian Journal of Animal Science*, 18(1), 1385–1393. doi: 10.1080/1828051X.2019.1667269.
- Tlak Gajger, I., Vlajnić, J., Šošarić, P., Prešern, J., Bubnič, J., & Smodiš Škerl, M. I. (2020). Effects on Some Therapeutic, 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.
- White, R., Atherly, T., Guard, B., Rossi, G., Wang, C., Mosher, C., Webbg, C., Hill, S., Ackermann, M., Scibarra, P., Allenspach, K., Suchodolsk, J., & Jergens, A. (2017). Randomized, controlled trial evaluating the effect of multi-strain probiotic on the mucosal microbiota in canine idiopathic inflammatory bowel disease. *Gut microbes*, 8(5), 451–466. doi: 10.1080/19490976.2017.1334754.
- Yevropeyska konventsija pro zakhyst khrebetnykh tvaryn, shcho vykorystovuyutsya dlya doslidnykh ta inshykh naukovykh tsiley [European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Research and Other Scientific Purposes], (redaktsiya vid 18.03.1986). Retrieved from https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/994_137#Text (in Ukrainian).
- Zakon Ukrainy: Pro zakhyst tvaryn vid zhorstokoho povodzhennya [Law of Ukraine: On protection of animals from cruel treatment] (redaktsiya vid 08.08.2021). Retrieved from <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/3447-15#Text> (in Ukrainian).