

**РЕЗУЛЬТАТЫ СРАВНИТЕЛЬНОГО ИЗУЧЕНИЯ
АКТИВНОСТЕЙ ЛАКТАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ У МЕДОНОСНЫХ
РАБОЧИХ ПЧЕЛ В УЛЬЕ И ПЧЕЛ-ФУРАЖИРОВ МОГУТ
УКАЗЫВАТЬ НА НАЛИЧИЕ ОТСРОЧЕННОГО ПРИСТУПА
БОЛЕЗНЕННОСТИ МЫШЦ (DOMS):
ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ**

© 2019 A. Strachecka^{1*}, M. Grzybek^{2,3}, A.A. Ptaszynska⁴,
A. Los¹, J. Chobotow⁵, R. Rowinski⁶

¹ Institute of Biological Basis of Animal Production, Faculty of Biology,
Animal Sciences and Bioeconomy, University of Life Sciences in Lublin,
20-950 Lublin, Poland; E-mail: aneta.strachecka@up.lublin.pl;
los-aleksandra@o2.pl

² Department of Tropical Parasitology, Medical University of Gdansk,
81-519 Gdansk, Poland; E-mail: grzybek.genetics@gmail.com

³ Department of Zoology, Animal Ecology & Wildlife Management,
Faculty of Biology and Animal Breeding, University of Life Sciences
in Lublin, 20-950 Lublin, Poland; E-mail: grzybek.genetics@gmail.com

⁴ Department of Botany and Mycology, Institute of Biology and Biochemistry,
Faculty of Biology and Biotechnology, Maria Curie-Skłodowska University,
20-033 Lublin, Poland; E-mail: anetaptas@wp.pl

⁵ Zoological Museum/Laboratory, Institute of Biology and Biochemistry,
Faculty of Biology and Biotechnology, Maria Curie-Skłodowska University,
20-033 Lublin, Poland; E-mail: jacek.chobotow@umcs.lublin.pl

⁶ Department of Tourism and Recreation, Faculty of Agrobioengineering,
University of Life Sciences in Lublin, 20-950 Lublin, Poland;
E-mail: badaniaawf@wp.pl

Поступила в редакцию 30.05.2018

После доработки 27.11.2018

Принята к публикации 27.11.2018

Лактат продуцируется активно работающими скелетными мышцами. H^+ образуется в процессе нейтрализации лактата в цикле Кори, что приводит к ацидозу мышечной ткани и мышечным болям, то есть к так называемому отсроченному приступу болезненности мышц (Delayed Onset Muscle Soreness – DOMS) у позвоночных животных. Целью представленной работы явилось определение активностей/концентраций соединений, которые могут принимать участие в цикле Кори рабочих пчел. Были собраны образцы тканей мышц, жировых телец и гемолимфы от 1- и 14-дневных рабочих пчел, остающихся в улье, и путешествующих пчел-фуражиров. В них были определены концентрации белка, лактата, глюкозы, NAD^+ и $NADH$, а также активности лактатдегидрогеназы (LDH). Было установлено, что концентрация лактата и активности LDH в гемолимфе, мышцах и жировых телах повышались с возрастом, в то время как концентрации NAD^+ и $NADH$ в этих тканях снижались при взрослении или старении. Установлено также, что концентрации белка в этих тканях повышались вплоть до 14-дневного возраста у рабочих пчел улья, а затем снижались у пчел-фуражиров. Концентрации глюкозы с возрастом снижались в гемолимфе и мышцах, но, соответственно, повышались в жировых телах. Повышение с возрастом концентраций лактата могло свидетельствовать о переходе метаболизма с аэробного на анаэробный путь и сопровождаться развитием метаболического ацидоза. В конечном счете это может приводить к болям в мышцах и сокращению срока жизни. При анализе динамики полета, массы переносимого груза и поведения насекомых, следует учитывать степень изменения концентраций указанных выше соединений при протекании цикла Кори.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: цикл Кори, жировые тельца, рабочие медоносные пчелы, лактат, мышцы, болезненность.

DOI: 10.1134/S0320972519040110

Принятые сокращения: LDH – лактатдегидрогеназа, DOMS – отсроченный приступ болезненности мышц.

* Адресат для корреспонденции.

Продолжительность жизни организма зависит, среди прочего, от производства АТФ [1]. Субстратом для этого синтеза является глюкоза. Количество и активность отдельных ферментов глюконеогенеза и гликолиза контролируются таким образом, что оба эти метаболических пути не обладают повышенной активностью одновременно. Скорость гликолиза определяется концентрацией глюкозы, а глюконеогенеза — лактозы и другими предшественниками глюкозы [2]. Лактоза продуцируется, в частности, активно функционирующими клетками скелетных мышц позвоночных. В процессе напряженных упражнений различной интенсивности скорость, с которой в процессе гликолиза в сокращающихся скелетных мышцах продуцируется пируват, превышает скорость окисления последнего в цикле лимонной кислоты. Более того, в указанных условиях скорость формирования NADH в процессе гликолиза превышает скорость его окисления в аэробных процессах. Продолжительность гликолиза зависит от наличия NAD⁺ для окисления глицеральдегид 3-фосфата. Накопление NADH и пирувата обращается при посредстве фермента лактатдегидрогеназы (LDH; EC 1.1.1.27), окисляющего NADH до NAD⁺ и восстанавливающего пирувата до лактата. Н⁺ производится во время процесса, приводящего к мускульному ацидозу и являющегося причиной так называемого отсроченного приступа болезненности мышц (DOMS) [3]. У млекопитающих устранение этого синдрома осуществляется с участием печени, крови и мышц (Цикл Кори), но не известно, как это происходит у пчел. Мы предположили, что у них этот процесс протекает в мышцах, гемолимфе и жировых тельцах (аналог печени у насекомых). Эти жировые тела играют важную роль в запасании и использовании энергии и могут аккумулировать избыток питательных веществ [4]. Когда заболевание, ранение или токсины повреждают ткани, клетки выделяют LDH в кровоток. Поскольку LDH — это довольно стабильный фермент, он широко используется для оценки наличия повреждений или токсикоза в тканях или клетках. Пчелы-фуражиры чаще сталкиваются с вредными факторами, а поэтому должны иметь повышенные уровни LDH в мышцах, гемолимфе и жировых тельцах по сравнению с юными неспециализированными рабочими особями (гипотеза 1). Кроме того, концентрации глюкозы в этих тканях старых пчел могут быть понижены (гипотеза 2).

Выживаемость и эволюционный отбор насекомых чрезвычайно критично связан с полетом. Крайне примечательно, что связанные с полетом сенсорика, физиология, поведение и биохимические особенности насекомых относятся к наиболее интригующим иллюстрациям природных адаптаций [5].

Для пчел-фуражиров *Bombus terrestris* средняя масса переносимого груза (пыльца и/или нектар) эквивалентна 23% массы тела без груза, но может достигать и 91% [6, 7]. Грузы, переносимые фуражирами *Apis mellifera*, составляют 20–80% массы их тела [8]. Относительные массы переносимых пчелами грузов превышают относительные массы, переносимые млекопитающими [9]. Во время выполнения этой работы млекопитающими, в их мышцах развивается DOMS. Поэтому мы предположили, что аналогичная ситуация может иметь место у пчел, особенно в мышцах пчел-фуражиров (гипотеза 3). Метаболизм насекомых в полете является аэробным [10] в отличие от анаэробного у позвоночных при интенсивной мышечной нагрузке [11]. Во время полета пчелы потребление ею кислорода является причиной очень быстрого 50–100-кратного повышения метаболической активности у насекомого [10]. В это время лактат продуцировался при посредстве LDH (гипотеза 4). Целью представленного исследования являлась проверка этих вышесказанных гипотез.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Пять колоний медоносных пчел и рабочие пчелы разного возраста были подобраны с использованием методов, разработанных Strachecka et al. [12] а также Woyciechowski и Kuszewska [13]. Только что вылупившиеся летние рабочие пчелы были изъяты, промаркированы и возвращены в свои колонии. Некоторые из них не были возвращены в рои, а были предназначены для биохимических анализов как 1-дневные особи (по 30 особей из каждой колонии). Затем образцы, содержащие по 30 маркированных рабочих пчел, были отобраны дважды из каждой колонии: на 14-день (помечены как 14-дневные рабочие), и на 30 день — по 30 маркированных рабочих пчел-фуражиров, возвращающиеся после интенсивного полета, которые были отловлены у входа в каждый улей (помечены как фуражиры). Таким образом, объем банка данных составил: 5 колоний × 3 образца из каждой колонии × 30 особей в каждой группе = 450 по-разному специализированных рабочих особей.

Стеклянный капилляр (20 мкл; типа «end to end») без антикоагулянта («Medlab Products», Польша) вводили между 3 и 4 члениками каждой пчелы для прижизненного сбора гемолимфы в течение 1 ч после отлова насекомого. Гемолимфу переносили с помощью микроасоса в

стерильные пробирки Эппендорф, содержащие по 100 мкл ледяного 0,6%-ного NaCl. Полученные 450 пробирок замораживали при -40°C для дальнейшего биохимического анализа. Методологические подробности изложены в работе Strachecka et al. [14, 15]. После забора гемолимфы каждую особь разрезали и извлекали части жировых тел и мышц с использованием стереомикроскопа Stereo Zoom Microscope («Olympus SZX16», Япония), используя цифровую камеру («Olympus DP72», Япония). Каждый извлеченный образец от каждой особи помещали в стерильные пробирки Эппендорф, содержащие по 100 мкл ледяного 0,6% NaCl (всего 900 образцов). Затем ткани гомогенизировали при 4°C и центрифугировали при 3000 g в течение 1 мин, супернатанты замораживали при -45°C для дальнейшего биохимического анализа.

Дальнейшие анализы были выполнены на образцах гемолимфы и супернатантов из тканевых гомогенатов:

1. Концентрацию белка определяли по методу Лоури в модификации Schacterle и Pollack [16];

2. Концентрацию L-лактата определяли колориметрически с использованием набора («Abscam-Poland», Польша) в соответствии с инструкцией производителя;

3. Активность LDH определяли колориметрически с использованием набора («Abscam-Poland», Польша) в соответствии с инструкцией производителя;

4. Концентрацию глюкозы определяли с использованием монотеста («Cormay Group», Польша);

5. Концентрации NAD^+ и NADH определяли флуориметрически с использованием набора NAD/NADH Assay Kit («Abscam-Poland», Польша) в соответствии с инструкцией производителя.

Была создана мультивариантная генерализованная линейная модель (GLM) по факторам сравнения: колония, возраст и ткань. Поскольку разница между колониями пчел была незначительной, для сравнения были выбраны только факторы: возраст и тип ткани. Сравнение проводили с использованием двунаправленного ANOVA и теста Туки (SAS Institute Version 9.13., лицензия 2002-2003 86636).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Концентрация лактата и активность LDH в гемолимфе, мышцах и жировых тельцах возрастали в процессе старения рабочих пчел (рис. 1). Концентрации NAD^+ и NADH во всех исследуемых тканях снижались по мере старения, а концентрация белка сначала повышалась вплоть до

14-дневного возраста рабочих пчел улья, и затем снижалась на стадии фуражиров. Понижение концентрации глюкозы с возрастом наблюдалось в гемолимфе и мышцах, однако в жировых тельцах она повышалась по мере старения (рис. 1). Полученные нами результаты свидетельствовали в пользу гипотез 1, 2 и 4. При активации лактатдегидрогеназы происходило восстановление пирувата и его трансформация в лактат. Таким образом, LDH принимала участие в метаболизме углеводов и в производстве энергии [17]. Наиболее высокие активности LDH наблюдались в тканях старых и утомленных рабочих пчел (рис. 1), отправляющихся в полет, что свидетельствовало о справедливости гипотезы 3. Подобные закономерности были характерны и для *Periplaneta americana* [18]. Для более убедительного подтверждения гипотезы о наличии DOMS, было необходимо подтвердить появление микроповреждений мышц насекомых. Топливом для летательных мышц медоносных пчел являются шестичленные сахара [19–21]. Общая удельная масса митохондрий и общая площадь поверхности их крист, определяющие их способность поддерживать высокую скорость аэробного синтеза АТФ, ставят верхний предел локомоторным способностям мышц насекомых [22], а скорости электронного транспорта в дыхательной цепи насекомых являются наиболее высокими из когда-либо измеренных у животных [23, 24].

Более того, столь высокие значения активностей LDH могут свидетельствовать о повреждении тканей или клеток [25], особенно мышц (болезненность/ранения) и жировых тельцах. Это может также указывать на истощение жировых тел как резервуара субстратов для синтеза АТФ [26]. Поэтому у юных пчел в жировых тельцах наблюдается смещение метаболизма в сторону липидов и белков [12, 23], что соответствовало нашим наблюдениям (рис. 1), в то же время, жировые тельца пчел-фуражиров ориентированы, главным образом, на метаболизм углеводов. Кроме того, LDH можно было использовать в качестве индикатора химического стресса [27] и диагностического признака токсикоза тканей [17]. Поскольку источники пищи пчел разбросаны по значительной площади, рабочие пчелы-фуражиры часто сталкиваются с токсическими веществами природного и синтетического происхождения и могут занести их в колонию [28]. Поэтому концентрации LDH в различных тканях пчел могут быть использованы в качестве показателя токсикоза у беспозвоночных [29].

Лактат является метаболическим продуктом гликолиза. В наиболее высокой концентрации он присутствовал в мышцах пчел-фуражиров (рис. 1).

Kerkut и Gilbert [18] предположили, что значительная активность LDH в жировых тельцах *P. americana* влияет на превращение лактата в этой ткани. Мы не исключаем, что этот процесс аналогичен циклу Кори у млекопитающих и протекает у пчел (рис. 2). Кроме того, цикл Кори может быть связан с другими метаболическими процессами, например, синтезом трегалозы и гликогена, циклом трикарбоновой кислоты, метаболизмом гормонов. Поэтому к факторам, влияющим на продолжительность жизни, в частности, у пчел можно отнести концентрацию лактата и H^+ и связанный с ними ацидоз тканей и болезненность мышц. Полученные данные свидетельствуют, что увеличение концентрации лактата во время интенсивного полета пчелы может быть связано с порогом анаэробноза и развитием метаболического ацидоза [11].

Paulk et al. [30] верили, что процессы визуализации/ориентации, протекающие в мозге беспоз-

воночных и позвоночных животных, могут иметь много общих черт. Поэтому мы предположили, что лактат импортируется внутрь нейронов и принимает участие в формировании долговременной памяти [31, 32]. В соответствии с новыми заключениями, память формируется с участием феромонов, гормонов, генов [33] и лактата (рис. 1, 2). Лактат возбуждает нейроны, но также распространяется за их пределы и модифицирует активность нейронов и астроцитов в соседних районах [34]. Кроме того, лактат может выступать в качестве альтернативного энергетического субстрата и служить топливом для мозга [31]. До того, как окислиться, лактат преобразуется в пируват под действием LDH. Впоследствии он включается в митохондриальные процессы [35], активизирующиеся во время полета насекомого [18].

Это первая публикация об активности LDH и о концентрации лактата и других соединений в

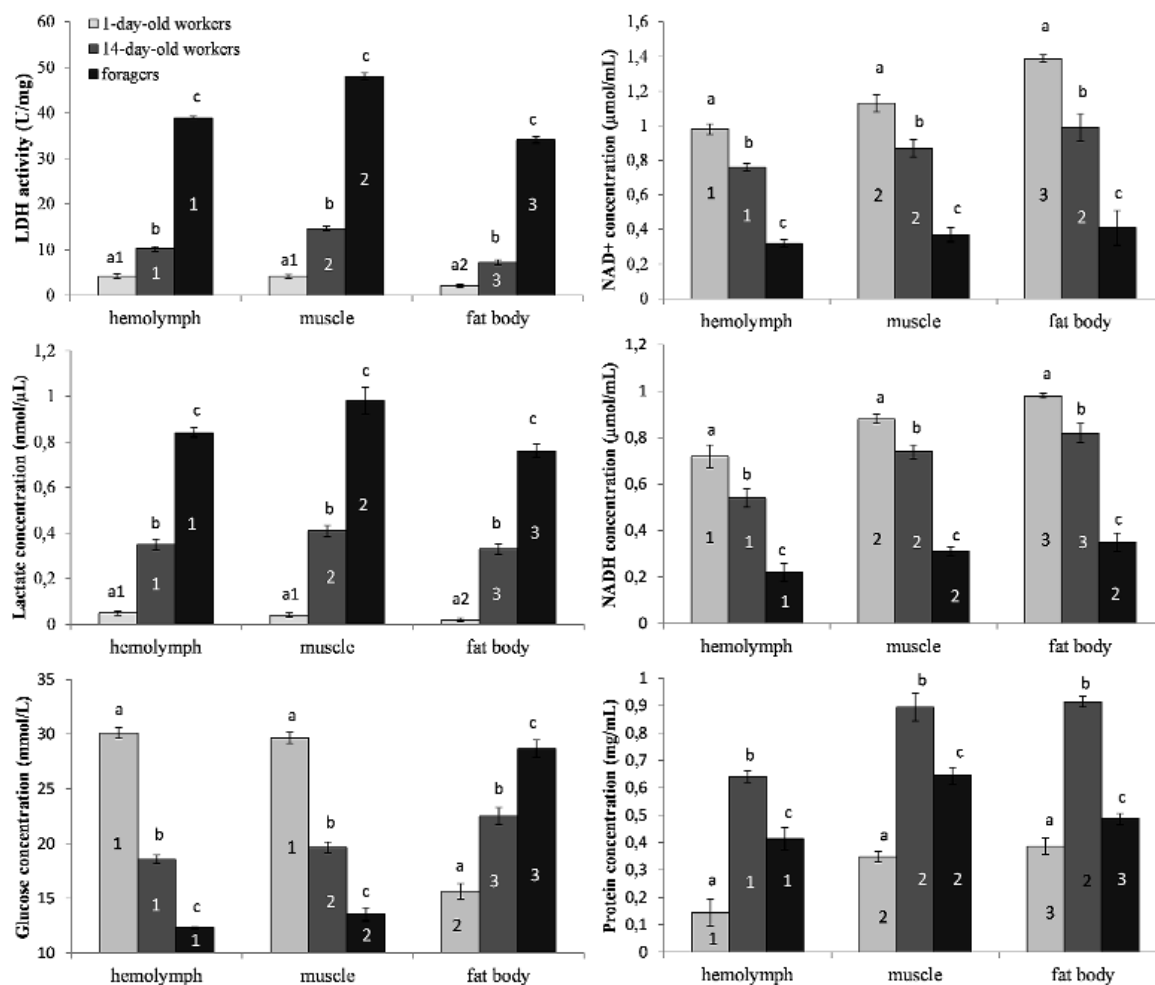


Рис. 1. Активности/концентрации различных соединений в разных тканях рабочих пчел *A. mellifera*. Буквы над столбцами означают наличие существенных различий ($p \leq 0,05$) в исследуемых показателях между насекомыми различной специализации и разного возраста и в определенных тканях. Цифры указывают на существенные различия ($p \leq 0,05$) в исследуемых показателях между разными тканями от насекомых определенного возраста

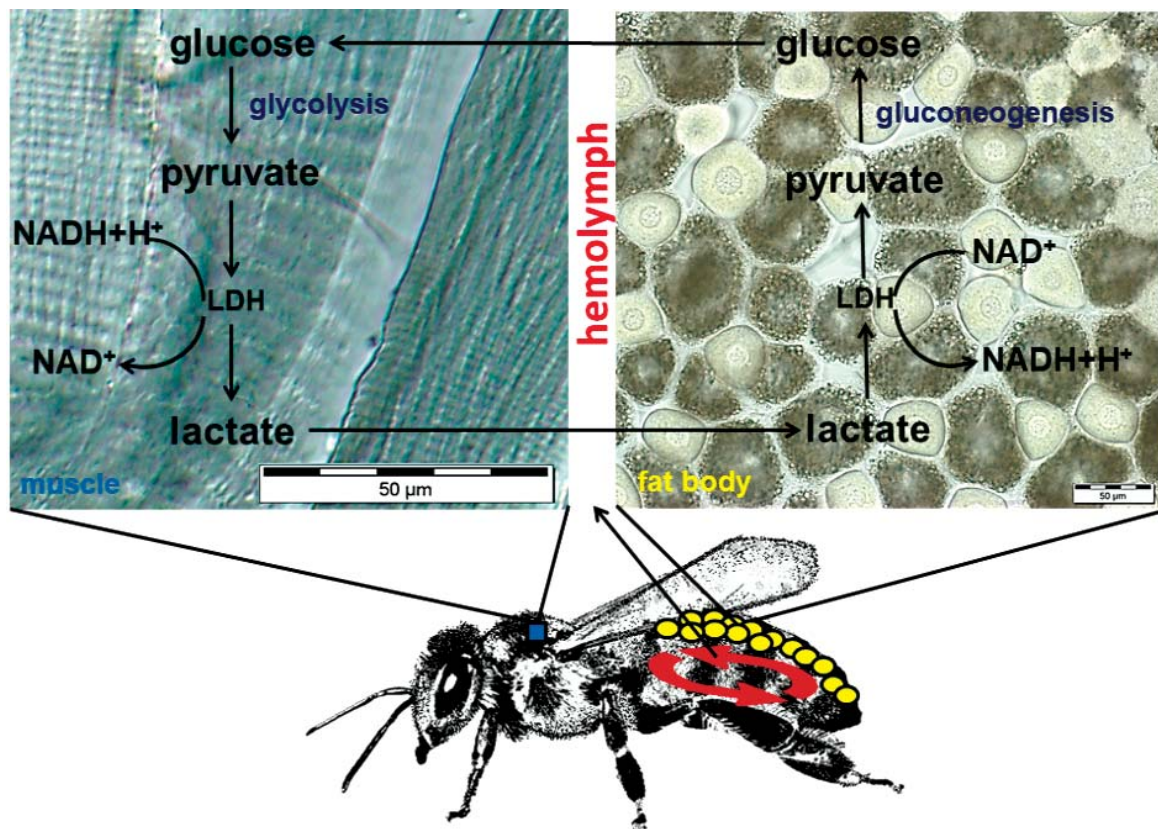


Рис. 2. Схема цикла Кори у рабочих пчел *A. Mellifera*.
С цветным вариантом рис. 2 можно ознакомиться в электронной версии статьи на сайте: www.elibrary.ru

цикле Кори у медоносных пчел. Эти соединения были обнаружены в мышцах, гемолимфе и жировых тельцах пчел. Высокие активности LDH могут свидетельствовать о повреждении тканей или клеток, особенно это относится к мышцам и жировым тельцам старых или уставших рабочих пчел. Повышенные концентрации лактата могут означать достижение порога анаэробнозиса и развитие метаболического ацидоза. Повышенные концентрации компонентов цикла Кори могут выражаться в развитии DOMS у старых пчел-фуражиров. Анализ динамики полета, массы переносимого груза и поведения пчел следует связывать с изменениями в концентрациях/активностях компонентов цикла Кори. В дальнейшем эти компоненты следует также подробно проанализировать в тканях рабочих пчел после зимовки. Следовало бы проверить, связано ли появление болезненности мышц у пчел с их микротравмированием, как это происходит у млекопитающих.

Финансирование

Работа была выполнена как часть исследовательского проекта ZKB/MN/5 2012-2018, фи-

нансиремого Министерством науки и высшего образования Польши. AS была поддержана Национальным центром науки (польский OPUS грант № 2014/15/B/NZ9/00425).

Конфликт интересов

Авторы подтверждают, что между ними не существует взаимоисключающих интересов. Все авторы дали свое согласие на публикацию материала.

Вклад авторов

Исследование было задумано и спланировано А. Strachecka. Ткани были подготовлены А. Strachecka и J. Chobotow. Биохимические анализы выполнены под руководством А. Strachecka и М. Grzybek. Полученные данные были проанализированы и интерпретированы А. Strachecka и А. Los. Первый вариант рукописи был прочитан А. Strachecka; редактирование рукописи выполняли А. Strachecka, А. Los, R. Rowinski и А.А. Ptaszynska, консультируясь со всеми соавторами.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Tresguerres, M. (2016) Novel and potential physiological roles of vacuolar-type H⁺-ATPase in marine organisms, *J. Exp. Biol.*, **219**, 2088–2097.
2. Berg, J., Tymoczko, J., and Stryer, L. (2002) Gluconeogenesis and glycolysis are reciprocally regulated, in *Biochemistry* (Freeman, W., ed.) New York.
3. Katz, J., and Tayek, J. (1998) Gluconeogenesis and the Cori cycle in 12-, 20-, and 40-h-fasted humans, *Am. J. Physiol.*, **275**, E537–42.
4. Arrese, E.L., and Soulages, J.L. (2010) Insect fat body: energy, metabolism, and regulation, *Annu. Rev. Entomol.*, **55**, 207–225.
5. Sane, S. (2003) The aerodynamics of insect flight, *J. Exp. Biol.*, **206**, 4191–4208.
6. Goulson, D., Peata, J., Stoutb, J., Tuckera, J., Darvilla, B., Derwenta, L., and Hughes, W. (2002) Can alloethism in workers of the bumblebee, *Bombus terrestris*, be explained in terms of foraging efficiency? *Anim. Behav.*, **64**, 123–130.
7. Mountcastle, A., Ravi, S., and Combesa, S. (2015) Nectar vs. pollen loading affects the tradeoff between flight stability and maneuverability in bumblebees, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **112**, 10527–10532.
8. Feuerbacher, E., Fewell, J., Roberts, S., Smith, E., and Harrison, J. (2003) Effects of load type (pollen or nectar) and load mass on hovering metabolic rate and mechanical power output in the honey bee *Apis mellifera*, *J. Exp. Biol.*, **206**, 1855–1865.
9. Goodwin, M., Harris, J., Hernandez, A., and Gladden, L. (2007) Blood lactate measurements and analysis during exercise: a guide for clinicians, *J. Diabetes Sci. Technol.*, **1**, 558–569.
10. Nation, J.L. (2001) *Insect physiology and biochemistry*, CRC Press, Boca Raton, Florida.
11. Wasserman, K. (1986) The anaerobic threshold: definition, physiological significance and identification, *Adv. Cardiol.*, **35**, 1–23.
12. Strachecka, A., Olszewski, K., and Paleolog, J. (2016) Varroa treatment with bromfenvinphos markedly suppresses honeybee biochemical defence levels, *Entomol. Exp. Appl.*, **160**, 57–71.
13. Woyciechowski, M., and Kuszevska, K. (2012) Swarming generates rebel workers in honeybees, *Curr. Biol.*, **22**, 707–711.
14. Strachecka, A., Krauze, M., Olszewski, K., Borsuk, G., Paleolog, J., Merska, M., Chobotow, J., Bajda, M., and Grzywnowicz, K. (2014) Unexpectedly strong effect of caffeine on the vitality of western honeybees (*Apis mellifera*), *Biochemistry (Moscow)*, **79**, 1192–1201.
15. Strachecka, A., Olszewski, K., Paleolog, J., Borsuk, G., and Bajda, M. (2014) Coenzyme Q10 treatments influence the lifespan and key biochemical resistance systems in the honeybee, *Apis mellifera*, *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, **86**, 165–179.
16. Schacterle, G.R., and Pollack, R.L. (1973) A simplified method for the quantitative assay of small amounts of protein in biologic material, *Anal. Biochem.*, **51**, 654–655.
17. Mostafa, S., Naby, A., and Zidan, E. (2014) Activity level of lactate dehydrogenase and α -glucosidase enzymes in the honeybee colonies, (*Apis mellifera* L.) with different feeding, *J. Agric. Technol.*, **10**, 483–491.
18. Kerkut, G., and Gilbert, L. (1985) *Comprehensive insect physiology, biochemistry and pharmacology*, Pergamon Press, Oxford. pp. 400–485.
19. Gmeinbauer, R., and Crailsheim, K. (1993) Glucose utilization during flight of honeybee (*Apis mellifera*) workers, drones and queens, *J. Insect Physiol.*, **39**, 959–967.
20. Suarez, R.K. (2000) Energy metabolism during insect flight: biochemical design and physiological performance, *Physiol. Biochem. Zool.*, **73**, 765–771.
21. Blatt, J., and Roces, F. (2001) Haemolymph sugar levels in foraging honeybees (*Apis mellifera Carnica*): dependence on metabolic rate and in vivo measurement of maximal rates of trehalose synthesis, *J. Exp. Biol.*, **204**, 2709–2716.
22. Suarez, R.K. (1996) Upper limits to mass-specific metabolic rates, *Annu. Rev. Physiol.*, **58**, 583–605.
23. Suarez, R.K., Darveau, C., Welch, K., Brien, D., Roubik, D., and Hochachka, P. (2005) Energy metabolism in orchid bee flight muscles: carbohydrate fuels all, *J. Exp. Biol.*, **208**, 3573–3579.
24. Suarez, R.K., Staples, J.F., and Lighton, J.R. (1999) Turnover rates of mitochondrial respiratory chain enzymes in flying honeybees (*Apis mellifera*), *J. Exp. Zool.*, **283**, 1–6.
25. Sudhakar, S., and Naiya, A. (2012) Biochemical markers an indirect method for evaluating Delayed Onset Muscle Soreness among recreational athletes, *Int. J. Biol. Med. Res.*, **3**, 1624–1626.
26. Even, N., Devaud, J., and Barron, A. (2012) General stress responses in the honey bee, *Insects*, **3**, 1271–1298.
27. Diamantino, T., Amadeu, E., Soares, M., and Guilherminoc, L. (2001) Lactate dehydrogenase activity as an effect criterion in toxicity tests with *Daphnia magna* Straus, *Chemosphere*, **45**, 553–560.
28. Johnson, R. (2015) Honey bee toxicology, *Annu. Rev. Entomol.*, **60**, 22.1–22.20.
29. Senthil, N., Kalaivani, K., and Murugan, K. (2006) Effect of biopesticides on the lactate dehydrogenase (LDH) of the rice leafhopper, *Cnaphalocrocis medinalis* (Guenee) (Insecta: Lepidoptera: Pyralidae), *Ecotox. Environ. Safe.*, **65**, 102–107.
30. Paulk, A., Dacks, A., Phillips-Portillo, J., Fellous, J., and Gronenberg, W. (2009) Visual processing in the central bee brain, *J. Neurosci.*, **29**, 9987–9999.
31. Hall, G., Stromstad, M., Rasmussen, P., Jans, O., Zaar, M., Gam, C., Quistorff, B., Secher, N., and Nielsen, H. (2009) Blood lactate is an important energy source for the human brain, *J. Cereb. Blood Flow Metab.*, **29**, 1121–1129.
32. Suzuki, A., Stern, S., Bozdagi, O., Huntley, G., Walker, R., Magistretti, P., and Alberini, C. (2011) Astrocyte-neuron lactate transport is required for long-term memory formation, *Cell*, **144**, 810–823.
33. Alaux, C., Conte, Y., Adams, H., Rodriguez-Zas, S., Grozinger, C., Sinha, S., and Robinson, G. (2009) Regulation of the brain gene expression in honey bees by brood pheromone, *Genes Brain Behav.*, **8**, 309–319.
34. Barros, L. (2013) Metabolic signaling by lactate in the brain, *Trends Neurosci.*, **36**, 396–404.
35. Bauernfeind, A., and Babbitt, C. (2014) The appropriation of glucose through primate neurodevelopment, *J. Human Evol.*, **77**, 132–140.

**COMPARISON OF LACTATE DEHYDROGENASE
ACTIVITIES IN HIVE AND FORAGER HONEYBEES
MAY INDICATE DELAYED ONSET MUSCLE SORENESS –
PRECURSORY STUDIES**

**A. Strachecka^{1*}, M. Grzybek^{2,3}, A. A. Ptaszynska⁴,
A. Los¹, J. Chobotow⁵, and R. Rowinski⁶**

¹ *Institute of Biological Basis of Animal Production, Faculty of Biology, Animal Sciences and Bioeconomy, University of Life Sciences in Lublin, 20-950 Lublin, Poland; E-mail: aneta.strachecka@up.lublin.pl; los-aleksandra@o2.pl*

² *Department of Tropical Parasitology, Medical University of Gdansk, 81-519 Gdansk, Poland; E-mail: grzybek.genetics@gmail.com*

³ *Department of Zoology, Animal Ecology & Wildlife Management, Faculty of Biology and Animal Breeding, University of Life Sciences in Lublin, 20-950 Lublin, Poland; E-mail: grzybek.genetics@gmail.com*

⁴ *Department of Botany and Mycology, Institute of Biology and Biochemistry, Faculty of Biology and Biotechnology, Maria Curie-Skłodowska University, 20-033 Lublin, Poland; E-mail: anetaptas@wp.pl*

⁵ *Zoological Museum/Laboratory, Institute of Biology and Biochemistry, Faculty of Biology and Biotechnology, Maria Curie-Skłodowska University, 20-033 Lublin, Poland; E-mail: jacek.chobotow@umcs.lublin.pl*

⁶ *Department of Tourism and Recreation, Faculty of Agrobioengineering, University of Life Sciences in Lublin, 20-950 Lublin, Poland; E-mail: badaniaawf@wp.pl*

Received May 30, 2018

Revised November 27, 2018

Accepted November 27, 2018

Lactate is produced by active skeletal muscles. H⁺ is produced during lactate neutralization in the Cori cycle, which leads to muscle acidosis and sores (so-called Delayed Onset Muscle Soreness, DOMS) in vertebrates. The aim of the study was to determine the activities/concentrations of compounds which may be involved in the Cori cycle in bee workers. Muscles, fat bodies and hemolymph from 1- and 14-day-old workers and foragers were collected. Protein, lactate, glucose, NAD⁺, and NADH concentrations and lactate dehydrogenase (LDH) activity were determined. Lactate concentrations and LDH activities increased in hemolymph, muscles and fat bodies with age, while NAD⁺ and NADH concentrations decreased with ageing/senescence. Protein concentrations increased until the 14th day of worker life, and then decreased in foragers. Glucose concentrations decreased in hemolymph and muscles and increased in fat bodies. Elevated lactate concentrations in worker foragers may indicate the transition from aerobic to anaerobic phase and the development of metabolic acidosis. Eventually, this may lead to muscle sores/soreness and shorter life-span. Analyses of flight dynamics, load mass and behaviour of bees should take into account changes in concentrations of these compounds during the Cori cycle.

Keywords: Cori cycle, fat body, honeybee workers, lactate, muscle, sores