

Свідоцтво про державну реєстрацію: № KB 21158-10958ПР від 23.01.2015.

**Проблематика:** фізіологія і біохімія, ветеринарна медицина, живлення та годівля, розведення і селекція тварин, морфологія, клітинна та молекулярна біологія, імунологія, генетика, екологія і токсикологія, цитологія, мікробіологія та біотехнологія; огляди актуальних проблем біології; методичні роботи, в яких описано нові або вдосконалені методи досліджень; статті з історії біологічної, ветеринарної та сільськогосподарської наук, що висвітлюють еволюцію ідей, виникнення і розвиток наукових шкіл або присвячені творчим портретам учених; дискусійні статті рецензій на нові книги та на журнальні публікації; наукова хроніка.

**Засновник:** Інститут біології тварин НААН.

**Рік заснування:** 1998. **Періодичність:** 4 рази на рік.

**Мова видання:** українська, англійська.

Науковий журнал «Біологія тварин» індексується у *The Index Copernicus International*, *Google Scholar*, *Cross Ref*, *WorldCat*, *DOAJ*.

**Головний редактор:** Салига Ю. Т., д. біол. н.

**Науковий редактор:** Вудмаска І. В., д. с.-г. н.

**Відповідальний секретар:** Грабовська О. С., к. біол. н.

**Комп'ютерна верстка:** Судин К. Ю.

Certificate of print media State registration: No. KB 21158-10958ПР of 23.01.2015.

**Aims and Scope:** physiology and biochemistry, veterinary medicine, nutrition and feeding animals, breeding and selection, morphology, cellular and molecular biology, immunology, genetics, ecology and toxicology, cytology, microbiology, biotechnology; reviews on actual problems of biology; methodical works describing new or improved research methods; articles about the history of biological, agricultural and veterinary sciences highlighting the evolution of ideas, the conception and development of scientific schools or dedicated to creative portraits of scientists; discussion reviews of the new books and the journal publications; scientific chronicle.

**Founder:** Institute of Animal Biology NAAS of Ukraine.

**Published since:** 1998. **Periodicity:** 4 times per year.

**Language:** Ukrainian, English.

"The Animal Biology" scientific journal is included in: *The Index Copernicus International*, *Google Scholar*, *CrossRef*, *WorldCat*, *DOAJ*.

**Editor-in-chief:** Yuriy Salyha, Dr. Sc.

**Scientific Editor:** Ihor Vudmaska, Dr. Sc.

**Editorial secretary:** Olexandra Grabovska, PhD.

**Page layout:** Kateryna Sudyn.

## РЕДАКЦІЙНА КОЛЕГІЯ

Салига Юрій Тарасович, Інститут біології тварин НААН (Україна) — Голова колегії, головний редактор  
Вудмаска Ігор Васильович, Інститут біології тварин НААН (Україна) — заступник головного редактора

Антоняк Галина Леонідівна, Львівський національний університет імені І. Франка (Україна)

Бартлевські Павел, Ветеринарний коледж Онтаріо, Університет Гвельфа (Канада)

Білий Ростислав Олександрович, Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького (Україна)

Віщур Олег Іванович, Інститут біології тварин НААН (Україна)

Войтюк Олександр, Уппсальський університет (Швеція)

Гавриляк Вікторія Василівна, Національний університет «Львівська політехніка» (Україна)

Гладій Михайло Васильович, Національна академія аграрних наук України (Україна)

Гунчак Алла Володимирівна, Інститут біології тварин НААН (Україна)

Гжегоцький Мечислав Романович, Львівський національний медичний університет ім Данила Галицького (Україна)

Доліба Микола, Пенсильванський університет (США)

Жукорський Остап Мирославович, Національна академія аграрних наук України (Україна)

Заячківська Оксана Станіславівна, Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького (Україна)

Іскра Руслана Ярославівна, Львівський національний університет імені І. Франка (Україна)

Калачнюк Лілія Григорівна, Національний університет біоресурсів і природокористування України (Україна)

Кльоцек Чеслав, Сільськогосподарський університет імені Гуго Коллонтая у Кракові (Польща)

Ковальські Зигмунд, Сільськогосподарський університет імені Гуго Коллонтая у Кракові (Польща)

Ковальчук Ірина Іванівна, Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького (Україна)

Корпан Ярослав Ізидорович, Інститут молекулярної біології і генетики НАН України (Україна)

Коцюмбас Ігор Ярославович, Державний науково-дослідний контрольний інститут ветеринарних препаратів та кормових добавок (Україна)

Кришталь Олег Олександрович, Інститут фізіології імені О. О. Богомольця НАН України (Україна)

Кулік Джордж, Медичний центр Університету Вейк Форест (США)

Лесик Ярослав Васильович, Дрогобицький державний педагогічний університет імені Івана Франка (Україна)

Луговий Богдан, Університет Маунт Сент Вінсент (Канада)

Лушак Володимир Іванович, Прикарпатський національний університет імені Василя Стефаника (Україна)

Мадіч Алла Всеволодівна, Кембриджський університет (Великобританія)

Мароунек Мілан, Інститут тваринництва (Чехія)

Медина Ігор, Середземноморський інститут нейробиології (Франція)

Мудронь Павол, Університет ветеринарної медицини та фармації в Кошице (Словаччина)

Муравські Мацей, Сільськогосподарський університет імені Гуго Коллонтая у Кракові (Польща)

Остапів Дмитро Дмитрович, Інститут біології тварин НААН (Україна)

Півнева Тетяна Андріївна, Інститут фізіології імені О. О. Богомольця НАН України (Україна)

Снітинський Володимир Васильович, Львівський національний аграрний університет (Україна)

Стапай Петро Васильович, Інститут біології тварин НААН (Україна)

Стибель Володимир Володимирович, Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького (Україна)

Стойка Ростислав Степанович, Інститут біології клітини НАН України (Україна)

Тизьо Роман, Середземноморський інститут нейробиології (Франція)

Федорович Єлизавета Іллівна, Інститут біології тварин НААН (Україна)

Федорук Ростислав Степанович, Інститут біології тварин НААН (Україна)

Шаран Микола Михайлович, Інститут біології тварин НААН (Україна)

Адреса редакції: Інститут біології тварин НААН,  
вул. В. Стуса, 38, м. Львів, 79034, Україна.  
Тел./ Факс: (+38 032) 260-07-95, (+38 032) 270-23-89.  
Електронна скринька: editor.animbiol@gmail.com  
Веб-сторінка: <http://aminbiol.com.ua>

Editorial Office: Institute of Animal Biology NAAS,  
38 Stus str., Lviv, 79034, Ukraine.  
Tel. / Fax: (+38 032) 260-07-95, (+38 032) 270-23-89.  
E-mail: editor.animbiol@gmail.com  
Website: <http://aminbiol.com.ua>



ІНСТИТУТ  
БІОЛОГІЇ  
ТВАРИН  
НААН

ISSN 1681-0015 (print)

ISSN 2313-2191 (online)

DOI: 10.15407/animbiol

# БІОЛОГІЯ ТВАРИН

---

---

## The ANIMAL BIOLOGY

2023 ▪ Volume 25 ▪ Issue 2 ▪ Issue DOI: 10.15407/animbiol25.02

---

### EDITORIAL COUNCIL

**Yuriy Salyha**, Institute of Animal Biology NAAS (Ukraine) — Head of the council, editor-in-chief  
**Ihor Vudmaska**, Institute of Animal Biology NAAS (Ukraine) — deputy chief editor

**Halyna Antonyak**, Ivan Franko National University of Lviv (Ukraine)  
**Paweł Mieczysław Bartlewski**, Ontario Veterinary College, University of Guelph (Canada)  
**Rostyslav Bilyy**, Danylo Halatsky Lviv National Medical University (Ukraine)  
**Nicolai M. Doliba**, University of Pennsylvania (United States)  
**Yelyzaveta Fedorovych**, Institute of Animal Biology NAAS (Ukraine)  
**Rostyslav Fedoruk**, Institute of Animal Biology NAAS (Ukraine)  
**Mykhailo Gladij**, The National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine (Ukraine)  
**Mechyslav Gzhegotskyi**, Danylo Halatsky Lviv National Medical University (Ukraine)  
**Viktoriiia Havryliak**, Lviv Polytechnic National University (Ukraine)  
**Alla Hunchak**, Institute of Animal Biology NAAS (Ukraine)  
**Ruslana Iskra**, Ivan Franko National University of Lviv (Ukraine)  
**Liliia Kalachniuk**, National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine (Ukraine)  
**Czesław Klocek**, University of Agriculture in Kraków (Poland)  
**Yaroslav Korpan**, Institute of Molecular Biology and Genetics NAS of Ukraine (Ukraine)  
**Igor Kotsyumbas**, State Scientific-Research Control Institute of Veterinary Medicinal Products and Feed Additives (Ukraine)  
**Iryna Kovalchuk**, Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies of Lviv (Ukraine)  
**Zygmunt Maciej Kowalski**, University of Agriculture in Kraków (Poland)  
**Oleg Krishtal**, Bogomoletz Institute of Physiology NAS of Ukraine (Ukraine)  
**George Kulik**, Wake Forest University (United States)  
**Yaroslav Lesyk**, Drohobych Ivan Franko State Pedagogical University (Ukraine)  
**Bohdan Luhovyy**, Mount Saint Vincent University (Canada)  
**Volodymyr Lushchak**, Vasyl Stefanyk Precarpathian National University (Ukraine)  
**Alla Madich**, University of Cambridge (United Kingdom)  
**Milan Marounek**, Institute of Animal Science (Czech Republic)  
**Igor Medina**, Mediterranean Institute of Neurobiology (France)  
**Pavol Mudroň**, University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice (Slovak Republic)  
**Maciej Murawski**, University of Agriculture in Kraków (Poland)  
**Dmytro Ostapiv**, Institute of Animal Biology NAAS (Ukraine)  
**Tatyana Pivneva**, Bogomoletz Institute of Physiology NAS of Ukraine (Ukraine)  
**Mykola Sharan**, Institute of Animal Biology NAAS (Ukraine)  
**Volodymyr Snityns'kyi**, Lviv National Agrarian University (Ukraine)  
**Petro Stapay**, Institute of Animal Biology NAAS (Ukraine)  
**Rostyslav Stoika**, Institute of Cell Biology NAS of Ukraine (Ukraine)  
**Volodymyr Stybel**, Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies of Lviv (Ukraine)  
**Roman Tyzio**, Mediterranean Institute of Neurobiology (France)  
**Oleg Vishchur**, Institute of Animal Biology NAAS (Ukraine)  
**Oleksandr Voytyuk**, Uppsala University (Sweden)  
**Oksana Zayachkivska**, Danylo Halatsky Lviv National Medical University (Ukraine)  
**Ostap Zhukorskyi**, The National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine (Ukraine)

## ЗМІСТ

<i>Козак М., Петрух І.</i> Біохімічні показники крові мишей за дії поліфосфатестерів та їх комплексів з антибіотиками.....	3
<i>Шаран О., Стефанік В., Муравські М.</i> Якість сперміїв баранів після розморожування за додавання наночитрату $Mn^{2+}$ , $Zn^{2+}$ та $Cu^{2+}$ до середовища для кріоконсервування.....	8
<i>Козир В. С.</i> Комплексна оцінка бугаїв скоростиглих м'ясних порід англійської селекції в умовах України.....	14
<i>Чечет О. М., Коваленко В. Л., Горбатюк О. І., Курята Н. В., Бучковська Г. А., Мусієць І. В., Шалімова Л. В., Ординська Д. О., Баланчук Л. В., Щур Н. В., Тогачинська Л. В.</i> Чутливість до антибактеріальних препаратів штамів <i>Bacillus</i> spp. з високим рівнем антагоністичної активності для виготовлення пробіотиків.....	23
<i>Руминська Т. М.</i> Вплив німесулідів та нового похідного 4-тіазолідинону на гематологічні параметри в умовах експериментального запального процесу.....	33
<i>Литвинюк Н. І., Ерстенюк А. М.</i> Стан глутатіонової системи головного мозку щурів за умов споживання енергетичного напою.....	37
<i>Боднар О. О.</i> Імунобіологічна реактивність організму корів за дисфункції яєчників.....	42
Тези доповідей XXI Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих вчених, присвяченої 100-річчю від дня народження доктора біологічних наук, професора Василя Юхимовича Шавкуна (18–19 травня 2023 року, м. Львів, Україна).....	47
Наші ювіляри.....	83
Некролог.....	84
Оголошення.....	85
Реклама.....	86

## CONTENTS

<i>Kozak M. R., Petruh I. M.</i> Blood biochemical parameters in mice under the action of polyphosphate esters and their complexes with antibiotics.....	3
<i>Sharan O., Stefanyk V., Murawski M.</i> The quality of ram spermatozoa after thawing with the addition of $Mn^{2+}$ , $Zn^{2+}$ and $Cu^{2+}$ nanocitrate to cryopreservation diluent.....	8
<i>Kozyr V. S.</i> Integrated assessment of bulls of precocious meat breeds of English selection in the conditions of Ukraine.....	14
<i>Chechet O. M., Kovalenko V. L., Horbatiuk O. I., Kuryata N. V., Buchkovska G. A., Musiets I. V., Shalimova L. V., Ordynska D. O., Balanchuk L. V., Shchur N. V., Togachynska L. V.</i> On sensitivity to antibacterial preparations of strains of <i>Bacillus</i> spp. with a high level of antagonistic activity for the production of probiotics.....	23
<i>Rumynska T. M.</i> The effect of the nimesulide and a new 4-thiazolidinone derivative on hematological parameters in the conditions of an experimental inflammatory process.....	33
<i>Lytvyniuk N. I., Ersteniuk A. M.</i> The state of the glutathione system of the cerebral of rats under the conditions of energy drink consumption.....	37
<i>Bodnar O. O.</i> Immunobiological reactivity of the body in cows with ovarian dysfunction.....	42
Abstracts of reports of XXI All-Ukrainian Scientific and Practical Conference of Young Scientists, dedicated to the 100 <sup>th</sup> anniversary of birth of Doctor of biological sciences, professor Vasyl SHAVKUN (May 18 <sup>th</sup> –19 <sup>th</sup> , 2023, Lviv, Ukraine).....	47
Our jubilarians.....	83
Obituary.....	84
Announcement.....	85
Advertisement.....	86



## Blood biochemical parameters in mice under the action of polyphosphate esters and their complexes with antibiotics

M. R. Kozak, I. M. Petruh  
mariya\_kozak@yahoo.com



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

### ORCID:

M. R. Kozak <https://orcid.org/0000-0002-2271-8529>  
I. M. Petruh <https://orcid.org/0000-0002-6686-2127>

### Authors' Contributions:

**KMR:** Conceptualization; Data curation; Formal analysis; Investigation; Methodology; Project administration; Supervision; Writing — original draft, review & editing.  
**PIM:** Investigation; Methodology; Project administration; Supervision; Writing — original draft, review & editing

### Declaration of Conflict of Interests:

None to declare.

### Ethical approval:

A permission to conduct the research was obtained from the from the Committee on Bioethics of the Institute of Animal Biology NAAS (Protocol no. 135 from 20.06.2023, Lviv, Ukraine)

### Acknowledgements:

The authors wish to thank A. Stasiuk, N. Figurka, N. Nosova and V. Samaryk (Department of organic chemistry of Lviv Polytechnic National University) for the synthesis of polyphosphate esters and their complexes with antibiotics.



Attribution 4.0 International  
(CC BY 4.0)

Complexes of polyphosphate esters with antibiotics were developed in Lviv Polytechnic National University together with scientists of Institute of Animal Biology NAAS to reduce the negative impact of antibiotics on the animal body. The conducted experiments allow assessing the effect of antibiotics, polyphosphate esters and complexes of polyphosphate esters with antibiotics on the body of laboratory animals based on biochemical markers of hepato- and nephrotoxicity. The antibiotics were administered in average daily therapeutic doses. It was found that the physiological state of mice and their blood biochemical indicators were within physiological normal values after the administration of polyphosphate ester P4 and complexes of polyphosphate ester P4+antibiotics (amoxicillin, oxytetracycline, and doxycycline). At the same time, intramuscular administration of polyphosphate ester P6 and complexes of P6+antibiotics have a certain negative effect on mice, which is manifested by changes in the activity of marker enzymes: aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), alkaline phosphatase (ALP). We found an increase in AST and ALT activities. P6+amoxicillin and P6+oxytetracycline complexes increased ALP activity. Complexes P4+antibiotics decreased ALP. Blood urea content decreased after the administration of polyphosphate ester P6 by 38.5%, P6+oxytetracycline by 26.9%, P6+doxycillin by 21.8%. P6+amoxicillin complex caused a significant increase by 237% in the concentration of creatinine in the blood of mice. The changes of blood creatinine concentration of other experimental groups fell within normal physiological range. Conducted studies of blood biochemical characteristics of mice under the action of new complexes of nanobiopolymer transporters with antibiotics ensured the selection of antibacterial drugs with low toxicity.

**Key words:** mice, antibiotics, polymers, polyphosphate ester complexes

## Introduction

Drug delivery is understood as a set of methods, technologies and techniques aimed at modifying the physical and chemical, pharmacological and pharmaceutical properties of medicinal products in order to improve their effectiveness and safety [6]. Development

and production of medicinal products using nanotechnology allows optimizing efficiency and minimizing side effects [4, 5, 12]. First of all, drugs with high toxicity, due to their inclusion in drug delivery systems, can be successfully used. In addition, their bioavailability improves and controlled drug release becomes possible [2, 6]. But despite this, there are not enough studies on

the toxicity of drugs created on the basis of nanoparticles or polymers.

In medical practice, among a large number of drugs with bactericidal properties, antibiotics or their synthetic analogues are most often used. They act against bacteria and tumor cells, suppressing their vital activity or destroying them. This group includes hundreds of drugs of different chemical structure. They have divergent spectrum, mechanism of action, side effects and indications for use [17]. However, the use of antibiotics is associated with toxicity for the human or animal body, which develops especially during their long-term use [1, 7]. This issue can be resolved in two ways: reducing the administered dose while maintaining its effectiveness and by “targeted delivery”, when the active substance is delivered directly to the microorganism in special container molecules that are non-toxic for the body [11]. Effective targeted drug delivery systems developed in recent years include nanoscale biocompatible polymer transport systems that penetrate the membranes of bacterial cells and, in combination with existing antibiotics, are able to increase the therapeutic effect and reduce the toxic effect of the active substance on cells and, in general, on human or animal body [9, 14].

Antibiotics are often applied in veterinary practice. The slaughter of animals for meat and the consumption of milk are allowed only after a certain period of time, which depends on the drug that was used. The meat and milk obtained before the specified period are disposed of or fed to non-productive animals, depending on the conclusion of a veterinary medicine doctor [3]. Therefore, in order to reduce the negative impact of antibiotics on the animal body, the scientists of the Institute of Animal Biology NAAS together with the staff of the Lviv Polytechnic National University developed complexes of polyphosphate esters with antibiotics. It is supposed that the antibiotic in combination with polyphosphates will maintain its therapeutic properties and be less toxic than the commercial form.

The aim of this study was to assess the effect of polyphosphate ester complexes with antibiotics on the body of laboratory animals based on biochemical markers of hepato- and nephrotoxicity to select compound with reduced toxicity for veterinary medicine.

## Materials and methods

The research was carried out at the Institute of Animal Biology NAAS together with the staff of the Lviv Polytechnic National University.

The polymeric transporters, polyphosphate esters, were synthesized based on N-derivatives of glutamic acid and dipolyethylene glycol(ethyl)phosphates. The molecular weight of the synthesized polymeric transporters is 1800–2400 Da. The particle size is 80–160 nm in the self-stabilized aqueous dispersed phase. Polymers were synthesized using dipolyethylene glycol(ethyl)phosphate (PEG-200÷1500), N-stearoyl glutamic acid, N,N'-dicyclo-

hexylcarbodiimidine (DCC), N,N'-dimethylaminopyridine (DMAP), dimethylformamide (*Aldrich*). The polymer-antibiotic complexes were synthesized by adding the appropriate antibiotic [7]. The quantitative content of the antibiotic in the samples was investigated using high-performance liquid chromatography with a diode-matrix detector. The samples were separated on a Waters chromatograph equipped with a *Luna C 18(2)* 250×4.6 chromatographic column. Eluent flow rate was 1 ml/min. A mixture of acetonitrile and 0.2% phosphoric acid in a volume ratio of 2:8 acted as the eluent and solvent simultaneously.

White mice of the BALB/c line weighing 20–30 g were selected and randomly divided into groups: the control group receiving intramuscular administration of physiological solution, and experimental groups that included subgroups. The first experimental group consisted of 3 subgroups according to the antibiotic used, which was administered to mice intramuscularly in an average daily therapeutic dose (amoxicillin 15 mg/kg, oxytetracycline 20 mg/kg, doxycycline 4.4 mg/kg). In the second experimental group, mice were divided into three subgroups and injected intramuscularly with the complexes of polyphosphate esters and antibiotics in doses that were used in the first experimental group. The third experimental group contained two subgroups. These mice were injected with polymer P4 and P6, respectively. The mice were observed for 3 days after the use of medicines, and were decapitated. Blood biochemical analysis was performed to assess the hepato- and nephrotoxicity of the used drugs. Alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST) and alkaline phosphatase (ALP) activities, blood urea and creatinine content were measured.

Mice were kept in the vivarium of Institute of Animal Biology NAAS. All manipulations with animal were done in accordance with the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals (Strasbourg, 1986). The protocol for animal experiments was approved by the Ethical Committee of the Institute of Animal Biology NAAS of Ukraine (Protocol no. 135 from 20.06.2023).

Statistical analysis of the results ( $M \pm m$ ) was performed using *Microsoft Excel* software,  $P < 0.05$  was accepted as statistically significant.

## Results and discussion

An increase in AST with the use of amoxicillin was established in all experimental groups. The maximum increase by 44% was in the group of mice that were injected intramuscularly with polymer P6 and its complex with amoxicillin by 31% (fig. 1).

Despite the increased AST activities in these experimental groups of mice, all parameters were within the normal physiological range for mice [8, 10].

At the same time, the ALT activity differed little between groups after polymer P4+antibiotic complexes administration to mice. The established changes in the activity of the enzyme were within the physiological normal range.

The ALT activity was  $47.4 \pm 6.62$  U/l after P4+amoxicillin administration,  $67.0 \pm 8.2$  U/l for P4+oxytetracycline and  $69.9 \pm 13.45$  U/l for P4+doxycycline. ALT activity of control group was  $45.8 \pm 4.96$  U/l.

Changes in ALT activity in subgroups of experimental mice that received P4 or P6 polymers were contrary. ALT activity increased by 38.2% after polymer P4 administration, but, on the contrary, it decreased by 17.7% using polymer P6 (fig. 2). These data were compared to the control.

Low ALT activity (for mice it is under 50 U/L) may be normal or indicates kidney disease [16]. At the same time, the created polymer P6+antibiotic complexes caused an increase in ALT activity in the blood of mice of all experimental groups (fig. 3).

Thus, ALT activity increased by 21% after P6+amoxicillin complex administration. P6+doxycycline complex caused increase of ALT by 106%, and P6+oxytetracycline complex — by 140%. These data were compared to ALT activity of control group (fig. 3). At the same time, changes in ALT activity after polymer P4+antibiotic complexes administrations differed little from the control group of mice. Thus, The ALT activity was  $47.4 \pm 6.62$  U/l after P4+amoxicillin complex administration,  $67.0 \pm 8.2$  U/l for P4+oxytetracycline, and  $69.9 \pm 13.45$  U/l for P4+doxycycline. All obtained results fell within physiological normal values.

Changes in the activity of AST and ALT enzymes in the blood of experimental mice may indicate that the functional capacity of the liver is reduced due to P6 polymer and polymer P6+antibiotic complexes administration to mice.

Another catalyst of biochemical reactions in the body is alkaline phosphatase, an enzyme that is localized mostly in the liver. The change in its activity characterizes the processes occurring in the hepatobiliary system [15].

It was found that the P6+amoxicillin and P6+oxytetracycline complexes increased the activity of the enzyme by 27.9% ( $P < 0.05$ ) and 3%, respectively (fig. 4). This is an evidence of negative influence on mice liver. Alkaline phosphatase is tightly bound to cell membranes. The established increase in the activity of the enzyme in the blood serum of mice under the action of P6+amoxicillin and P6+oxytetracycline complexes may indicate damage to their liver parenchyma.

Controversially, the activity of alkaline phosphatase decreased from 7.7% to 47% ( $P < 0.001$ ) after the administration of complexes P4+antibiotics compared to the control group. However, decreased activity of the enzyme in the blood was within the normal physiological range, and therefore, the use of polymer P4 in the combination with antibiotics did not affect the functional capacity of the liver.

An important diagnostic test of the function of both the liver and kidneys is the determination of urea. Blood urea concentration depends on the intensity of synthesis in the liver and the activity of excretion from the body by the kidneys. Blood urea concentrations are presented in table.

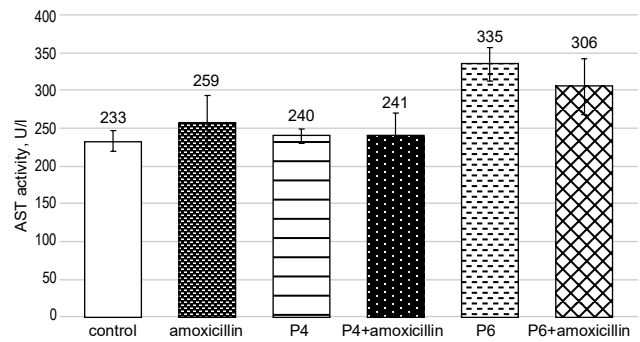


Fig.1. AST activity in blood serum of control and experimental groups of mice, U/l (n=3–4)

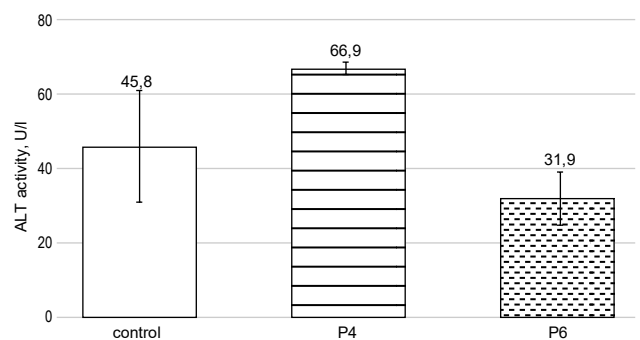


Fig. 2. ALT activity in the blood of mice under the action of polyphosphate esters, U/l (n=3)

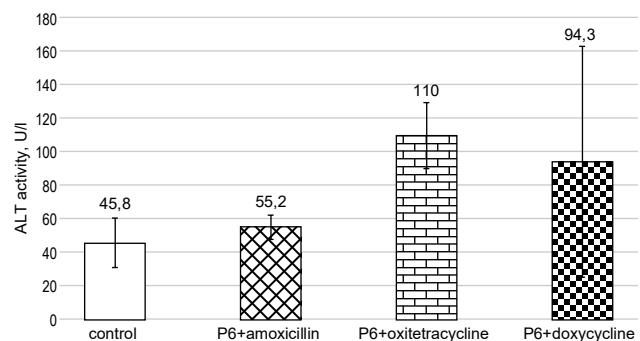


Fig. 3. Blood serum ALT activity in mice under the action of polymer P6+antibiotic complexes, U/l (n=3–4)

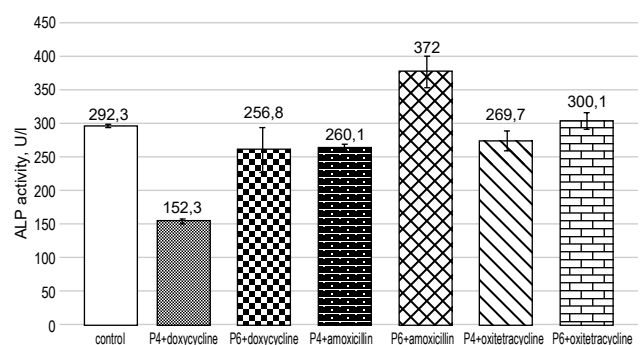


Fig. 4. Alkaline phosphatase activity in blood serum of mice under the action of polymer+antibiotic complexes, U/l (n=3–4)

**Table.** The concentration of urea and creatinine in the blood serum of mice, mmol/l (n=3–4)

Groups of mice	Urea concentration, mmol/l	Creatinine concentration, mmol/l
Control	8,57±0.19	51.45±0.25
<b>Antibiotic:</b>		
amoxicillin	8.23±0.69	57.80±0.15
doxycycline	8.03±1.07	57.20±4.83
oxytetracycline	7.1±1.36	56.10±0.15
<b>Polymer P4</b>	4.37±0,50***	58.88±3.88
<b>P4+antibiotic complex</b>		
P4+amoxicillin	5.60±0.34***	59.40±6.60
P4+doxycycline	5.73±1.00*	64.40±2.43
P4+oxytetracycline	4.71±1.27*	62.75±7.55
<b>Polymer P6</b>	5.27±0.54***	52.27±1.75
<b>P6+antibiotic complex</b>		
P6+amoxicillin	8.95±0.25	173.45±53.95
P6+doxycycline	6.70±1.00	55.0±1.35
P6+oxytetracycline	6.27±1.80	57.23±5.92

Note. The difference is statistically significant compared to the control group: \*\*\* — P<0.001; \*\* — P<0.01; \* — P<0.05.

Intramuscular administration of antibiotics leads to a slight decrease of blood urea concentration by 3.9% (amoxicillin), 6.4% (doxycycline) and 17% (oxytetracycline). Polymers P4 and P6 caused the decrease in urea concentration by 49% (P<0.001) and 38.5% (P<0.001), compared to the control group. Polymer+antibiotic complexes also caused a decrease of blood urea concentration: P4+amoxicillin by 53% (P<0.001), P4+doxycycline by 49.4% (P<0.05) and P4+oxytetracycline by 44.4% (P<0.05). P6+doxycycline and P6+oxytetracycline complexes also reduce urea concentration in the blood of mice by 22% and 27%, respectively, compared to the control group. However, the changes in urea concentration in the blood of experimental groups of mice remained within the physiological normal range [13].

In contrast, intramuscular administration of the polymer P6+amoxicillin complex to mice caused an increase in urea concentration by 4.5% compared to the control group. This may indicate a negative effect on the functional capacity of the kidneys, in particular, their filtration function.

At the same time, polymer P6+amoxicillin complex caused a significant increase by 237% in the concentration of creatinine in the blood of mice (table). Creatinine is excreted by the kidneys via glomerular filtration. Its concentration in the blood reflects the degree of impairment of the filtration function of the kidney glomeruli. Increased blood creatinine concentration in mice under the action of the polymer P6+amoxicillin complex may indicate a violation of the filtration function of the renal glomeruli.

The changes of blood creatinine concentration in mice of other experimental groups were within normal physiological range.

The conducted studies of the physiological and biochemical characteristics of the animal organism under the action of new complexes of nanobiopolymer transporters with antibiotics (amoxicillin, oxytetracycline and

doxycycline) ensured the selection of effective antibacterial drugs with low toxicity for their organism. It was found that the physiological state and blood parameters of the animals were within the physiological limits after polyphosphate ester complexes P4+antibiotics complexes administration in average daily therapeutic doses. These complexes are perspective candidates for medical practice. Intramuscular administration of polyphosphate ester P6 in combination with antibiotics has a negative effect on the body of experimental mice, which is manifested by changes in the activity of enzymes-markers of the state of the body, therefore it is not recommended for use. The results of this study will be used as a basis for elucidating the mechanisms and features of the action of polyphosphate esters and their complexes with antibiotics on the animal body.

## References

1. Agwuh KN, MacGowan A. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of the tetracyclines including glycylicyclines. *J. Antimicrob. Chemother.* 2006; 58 (2): 256–265. DOI: 10.1093/jac/dkl224.
2. Anirudhan TS, Mohan AM. Novel pH sensitive dual drug loaded-gelatin methacrylate/methacrylic acid hydrogel for the controlled release of antibiotics. *Int. J. Biol. Macromol.* 2018; 110: 167–178. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2018.01.220.
3. Beryk IM, Pharionik TV, Novhorodska NV. *Veterinary and sanitary examination of products of animal and plant origin*. A textbook. Vinnytsia, VNAU Publ., 2020: 232 p. Available at: <http://repository.vsau.org/getfile.php/25441.pdf> (in Ukrainian)
4. Emerich DF, Thanos CG. Nanotechnology and medicine. *Expert. Opin. Biol. Ther.* 2003; 3 (4): 655–663. DOI: 10.1517/14712598.3.4.655.
5. Emerich DF, Thanos CG. The pinpoint promise of nanoparticle-based drug delivery and molecular diagnosis. *Biomol. Eng.* 2006; 23 (4): 171–184. DOI: 10.1016/j.bioeng.2006.05.026.
6. Holovenko M, Larionov V. Targeted delivery of drugs to the brain by nanosystems. *Bull. Pharmacol. Pharmac.* 2008; 4: 8–16. (in Ukrainian).
7. Inghammar M, Nibell O, Pasternak B, Melbye M, Svanström H, Hviid A. Long-term risk of cardiovascular death with use of clarithromycin and roxithromycin: A nationwide cohort study. *Am. J. Epidemiol.* 2018; 187 (4): 777–785. DOI: 10.1093/aje/kwx359.
8. Kozak MR, Petruh IM, Vlizlo VV. Comparison of adjuvant properties of chitosan during oral and subcutaneous immunization of mice with BSA. *Ukr. Biochem. J.* 2022; 94 (2): 31–37. DOI: 10.15407/ubj94.02.031.
9. Kozak M, Stasiuk A, Vlizlo V, Ostapiv D, Bodnar Y, Kuzmina N, Figurka N, Nosova N, Ostapiv R, Kotsumbas I, Varvarenko S, Samaryk V. Polyphosphate ester-type transporters improve antimicrobial properties of oxytetracycline. *Antibiotics.* 2023; 12 (3): 616. DOI: 10.3390/antibiotics12030616.
10. Kumar A, Nautiyal U, Kaur C, Goel V, Piarchand N. Targeted drug delivery system: current and novel approach. *Int. J. Pharm. Med. Res.* 2017; 5 (2): 448–454. Available at: <https://www.ijpmr.org/pdf/3-Targeted-Drug-Delivery-System-Current-and-Novel-Approach.pdf>
11. Mazzaccara C, Labruna G, Cito G, Scarfò M, De Felice M, Pastore L, Sacchetti L. Age-related reference intervals of the main biochemical and hematological parameters in C57BL/6J, 129SV/EV and C3H/HeJ mouse strains. *PLoS One.* 2008; 3 (11): e3772. DOI: 10.1371/journal.pone.0003772.

12. Najahi-Missaoui W, Arnold RD, Cummings BS. Safe nanoparticles: are we there yet? *Int. J. Mol. Sci.* 2020; 22 (1): 385. DOI: 10.3390/ijms22010385.
13. Ostapchenko LI, Kompanets IV, Synelnyk TB. *Biological membranes and the basics of intracellular signaling: the research methods*. A textbook. Kyiv, Kyiv University, 2017: 447 p. Available at: <https://biomed.knu.ua/institute-activity/educational/kafedry/kafedra-biomedicine/biblioteka/3299-biologichni-membrani-ta-osnovi-vnutrishnoklitinnoji-signalizatsiji-metodi-doslidzhennya.html> (in Ukrainian)
14. Priskoka AO, Chekman IS. Nanotechnologies in development of drug delivery systems. *Ukr. Med. J.* 2010; 1 (75): 1–14. Available at: <https://umj.com.ua/uk/stattia-2951-nanotexnologii-u-rozrobci-sistem-dostavki-likarskix-zasobiv> (in Ukrainian)
15. Rani K, Paliwal SA. Review on targeted drug delivery: its entire focus on advanced therapeutics and diagnostics. *Sch. J. Appl. Med. Sci.* 2014; 2 (1): 328–331. DOI: 10.36347/sjams.2014.v02i01.0069.
16. Rodrigues WF, Miguel CB, Napimoga MH, Oliveira CJF, Lazo-Chica JE. Establishing standards for studying renal function in mice through measurements of body size-adjusted creatinine and urea levels. *BioMed Res. Intern.* 2014; 2014: 872827. DOI: 10.1155/2014/872827.
17. Sette LHBS, de Almeida Lopes EP. The reduction of serum aminotransferase levels is proportional to the decline of the glomerular filtration rate in patients with chronic kidney disease. *Clinics.* 2015; 70 (5): 346–349. DOI: 10.6061/clinics/2015(05)07.

## Біохімічні показники крові мишей за дії поліфосфатестерів та їх комплексів з антибіотиками

М. Козак, І. Петрух  
mariya\_kozak@yahoo.com

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

Для зменшення негативного впливу антибіотиків на організм тварин в Інституті біології тварин НААН спільно зі співробітниками Національного університету «Львівська політехніка» створено комплекси поліфосфатестерів з антибіотиками. Проведені дослідження дозволили за біохімічними маркерами гепато- і нефротоксичності оцінити вплив антибіотиків, поліфосфатестерів та комплексів поліфосфатестерів з антибіотиками на організм лабораторних тварин за введення їх у середньодобових лікувальних дозах. Встановлено, що фізіологічний стан і показники крові тварин за застосування окремо поліфосфатестеру Р4 та комплексів поліфосфатестер Р4+антибіотики у його складі (амоксцилін, окситетрациклін, доксициклін) були в межах фізіологічних величин. Водночас внутрішньом'язове введення поліфосфатестеру Р6 та комплексу Р6+антибіотики у його складі мають певний негативний вплив на організм дослідних мишей, що проявляється змінами активності ензимів-маркерів стану організму — аспаратаміно-трансферази (АСТ), аланінаміно-трансферази (АЛТ) і лужної фосфатази (ЛФ). Ми виявили підвищення активності АСТ і АЛТ. Комплекси Р6+амоксцилін і Р6+окситетрациклін підвищували активність ЛФ; комплекси Р4+антибіотики знижували активність цього ензиму. Вміст сечовини у крові знизився після введення поліфосфатестеру Р6 на 38,5%, комплексу Р6+окситетрациклін — на 26,9%, комплексу Р6+доксицилін — на 21,8%. Комплекс Р6+амоксцилін викликав вірогідне підвищення на 237% концентрації креатиніну в крові мишей. Зміни концентрації креатиніну в крові інших дослідних груп були в межах фізіологічної норми. Проведені дослідження біохімічних характеристик крові мишей за дії нових комплексів нанобіополімерних транспортерів з антибіотиками забезпечили підбір антибактеріальних препаратів з низькою токсичністю.

**Ключові слова:** миші, антибіотики, полімери, комплекси поліфосфатестерів





# The quality of ram spermatozoa after thawing with the addition of Mn<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup> and Cu<sup>2+</sup> nanocitrate to cryopreservation diluent

O. Sharan<sup>1</sup>, V. Stefanyk<sup>1</sup>, M. Murawski<sup>2</sup>  
oshaom737@gmail.com



<sup>1</sup>Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies of Lviv, 50 Pekarska str. Lviv, 79010, Ukraine  
<sup>2</sup>University of Agriculture in Kraków, Al. Mickiewicza, 21, Kraków, 31-120, Poland

## ORCID:

O. Sharan <https://orcid.org/0000-0002-6193-8727>  
V. Stefanyk <https://orcid.org/0009-0002-9630-6540>  
M. Murawski <https://orcid.org/0000-0002-0720-7755>

## Authors' Contributions:

**SO:** Conceptualization; Formal analysis; Investigation; Methodology; Writing — original draft.

**SV:** Conceptualization; Formal analysis; Investigation; Methodology; Project administration; Supervision; Review & editing.

**MM:** Formal analysis; Methodology; Supervision; Review & editing.

## Declaration of Conflict of Interests:

None to declare.

## Ethical approval:

During the experiment, all international, national and/or institutional principles of animal care and use were followed, in particular, Directive 2010/63/EU "On the protection of animals used for scientific purposes"...

## Acknowledgements:

None.



Attribution 4.0 International  
(CC BY 4.0)

The aim of the study was to find out the effect of adding nanocitrate of Mn, Zn and Cu to the diluent for ram spermatozoa cryopreservation on its quality and ability for fertilizing. The experiment was carried out on six clinically healthy breeder 2–4-year-old rams of the Texel breed. The received ejaculates of the rams were evaluated for the volume, sperm concentration and motility and then divided into control and experimental groups. Control sperm samples were diluted with lactose-yolk-tris-citrate-glycerin medium (LYTCGM). Nanocitrates of microelements were added to the medium in experimental samples of ram sperm in the following doses: Zn<sup>2+</sup> and Mn<sup>2+</sup> — 2.5, 5.0 and 7.5 µg/l, Cu<sup>2+</sup> — 1.25, 2.5 and 3.75 µg/l. The diluted sperm was packaged in straws, equilibrated for 2.5 h and frozen. After thawing of sperm we determined motility, survival of sperm, activity of succinate dehydrogenase (SDH) and cytochrome oxidase (CO), activity of antioxidant protection enzymes superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (HPO) and catalase (CAT). A dose-dependent effect of Mn, Zn, and Cu nanocitrates upon their addition to LYTCGM was established. Addition of nanocitrates of Mn, Zn to LYTCGM at a dose of 5.0 µg/l increased sperm motility by 22.2% (P<0.05) and 26.0% (P<0.01), and sperm survival, respectively, by 12.6% on (P<0.01) and 5.9% (P<0.05) compared to the control. Nanocitrates of Mn, Zn at a dose of 5.0 µg/l as part of LYTCGM caused a probable increase in SDH (P<0.001) and CO (P<0.05–0.01), which indicates a high fertilizing ability of ram spermatozoa. Similarly, when Mn, Zn nanocitrates were added to LYTCGM at a dose of 5.0 µg/l, SOD activity decreased by 29.6% (P<0.01) and 38.8% (P<0.01) and HPO activity increased by 43.5% (P<0.01) and 39.1% (P<0.01), and CAT — by 40.0% (P<0.05) and 37.5% (P<0.05), respectively. At the same time, the addition of Cu nanocitrate to LYTCGM with an increase in the dose significantly reduces the activity, survival and fertilizing capacity of thawed ram spermatozoa, and also worsens their antioxidant protection.

**Key words:** ram, sperm, nanocitrate Mn, Zn, Cu, fertilizing ability, motility, antioxidant protection

## Introduction

Artificial insemination is major biotechnics in assisted reproductive technology which had the greatest effect on fast

increasing of the genetic value of farm animals all over the world. At the same time, artificial insemination requires the constant availability of cryopreserved sperm for breeders [23]. However, cryopreservation of the rams' sperm is still

not effective to be commonly used in insemination because of its high sensitivity for cooling and thawing after cryopreservation process. Because of that intensive research is carried out in many labs to solve that problems [2].

The process of sperm freezing causes ultrastructural, biochemical and functional changes in spermatozoa [29]. Sperm plasma and acrosome are especially cryosensitive, as a result of which the permeability of cell membranes increases and spermatozoa motility and their morphology are disturbed [30, 8]. Damage to plasma membranes is accompanied by the leakage of enzymes, including those that directly participate in fertilization processes. In addition, mitochondria, the main energy-generating organelles of germ cells, are impaired or destroyed [27].

To ensure adequate protection of spermatozoa from adverse factors in low temperatures, various diluents for cryopreservation are used, which effectiveness depends on their composition [37].

An important role in the regulation of metabolic processes in sperm belongs to trace elements such as  $Zn^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$  and  $Cu^{2+}$ , which are cofactors of glycolysis enzymes, the respiratory chain of mitochondria and antioxidant protection, and also provide energy needs and utilization of cytotoxic metabolites of cells [26]. In particular,  $Zn^{2+}$  is included in the active centers of numerous enzymes of glycolysis and the pentose phosphate pathway of glucose oxidation,  $Cu^{2+}$  ensures the activity of enzymes of the respiratory chain and proteinases, and  $Mn^{2+}$  is a part of enzymes of the Krebs cycle. In addition, the indicated microelements as  $Cu^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$  and  $Mn^{2+}$  are part of the first link of enzymatic antioxidant protection which is superoxide dismutase (SOD), i.e. they are cofactors of the enzyme that converts  $O_2^-$  and by this inhibits the formation of active forms of oxygen [5, 19]. It is also known that SOD in sperm is present in three isoforms, which contain ions in the catalytic center:  $Mn^{2+}$  in mitochondria;  $Zn^{2+}$  and  $Cu^{2+}$  in cytoplasmic and extracellular matrix [33, 20]. These studies proved that the survival and, accordingly, the capacity of spermatozoa for fertilizing of germ cells depend on the activity of the specified enzyme and the ratio of its isozymes.

In the process of preparing ejaculates for cryopreservation, the concentration of these ions decreases, which leads to a decrease in enzyme activity and ultimately disrupts the process of substrate transformation and ATP resynthesis. Therefore, trace elements are added to ejaculate diluents to maintain high physiological characteristics and fertilizing ability of sperm. However, the use of inorganic salts of microelements as part of diluents is ineffective, which is due to their short-term contact with germ cells after sperm dilution, low permeability through membranes and the ability to be included in metabolism [28].

The disadvantages of using inorganic salts of trace elements in ejaculate diluents can be eliminated by using organic nanoforms of metals, in particular as nanocitrates, which will make easier their involvement in the metabolic processes of sperm [10, 15, 17, 22, 32, 36]. The investigation of Kosinov and Kaplunenko showed

that toxic doses of nanoaquacitrates are 6 to 8 folds lower than their substitutes of mineral salts forms [17]. In this regard, it is of interest to study the influence of nanocitrate of Mn, Zn, and Cu as part of sperm diluents on the quality of ram spermatozoa. Therefore, the aim of the study was to find out the effect of adding nanocitrate of Mn, Zn and Cu to the diluent for cryopreservation of ram sperm on the quality and its ability for fertilization.

## Materials and Methods

The study was conducted on six clinically healthy Texel rams, from 2- to 4-year-old, which were kept in three cages for two males in each one. Semen from rams was collected with artificial vagina (*Minitube*, Germany) and each ejaculate was evaluated separately for its volume, motility, concentration and total number of spermatozoa. Only ejaculates with spermatozoa concentration of at least 2.5 billion/ml were used for investigation. After evaluation, semen was diluted with a lactose-yolk-tris-citrate-glycerol medium (LYTCGM) to final spermatozoa concentration of  $8 \times 10^7$ /ml. Each diluted ejaculate was divided into one control and nine experimental groups. Three groups of diluents were prepared for each nanocitrate microelements of Zn, Mn and Cu in amount as follow: 2.5; 5.0; 7.5  $\mu\text{g/l}$  and 1.25; 2.5; 3.75  $\mu\text{g/l}$ , respectively. Nanocitrates of Mn, Zn and Cu were prepared by the method of erosion-explosive aqua nanotechnology by "Nanotechnologies and nanomaterials" LLC (Kyiv, Ukraine) [17].

Diluted semen was packed into 0.25 ml volume straws (*Minitube*, Germany) and cooled for 2.5 h at a temperature of  $+4^\circ\text{C}$ . After that, straws were placed in nitrogen vapor for 30 min, then were put into liquid nitrogen. After thawing in a water bath at temperature of  $40-42^\circ\text{C}$  for 20 sec, sperm motility, survival of spermatozoa, activity of succinate dehydrogenase (SDH) and cytochrome oxidase (CO), activity of antioxidant protection enzymes superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPO) and catalase (CAT) were evaluated in each control and experimental group.

### Semen analysis

The volume of ram ejaculate was determined with a graduated test tube, and the spermatozoa concentration was determined spectrophotometrically using a photometer SDM 6 with a touch display (*Minitube*, Germany). Germ cell motility, morphological abnormalities and the percentage of degenerate spermatozoa were determined by the computerized system CASA (*Computer Assisted Semen Analysis*) with activation of the *Sperm Vision* module [40].

After thawing semen was kept in refrigerator at temperature of  $+4^\circ\text{C}$  and its survival was checked every hour under a microscope at magnification of 200-fold until the complete death of germ cells.

The activity of antioxidant protection enzymes was determined according to the methods described by Wirth and Mijal [38]. In particular, SOD activity was determined

by the amount of nitroformazan formed in the reaction between phenazinemetasulfate and NADH using a calibration curve, for which a standard solution of SOD (*Sigma*, USA; C1345) was used and expressed in IU/mg protein. Photometry of the samples was carried out at a wavelength of 540 nm on a spectrophotometer SF-46.

The activity of GPO was determined by using the Eilman reagent (0.01 M solution of 5,5-dithiobis-2-nitrobenzoic acid (*Acros Organics*, Belgium) The staining intensity was measured at 412 nm on a spectrophotometer SF-46. The sample was added to the control sample before protein precipitation.

The activity of CAT was determined by the method of Koroliuk et al. (1991). The staining intensity was measured at 410 nm on a spectrophotometer SF-46.

### Statistical analysis

All obtained digital data were processed using the *Statistica* computer program using the method of variational statistics and the *Excel* program from the *Microsoft Office* 2007 and 2010 service packages. Differences between groups were considered statistically significant at  $P < 0.05$ .

## Results and Discussion

The highest motility of spermatozoa after thawing semen, 56.7%, was noticed in diluent with 5.0  $\mu\text{g/L}$  of Zn nanocitrate, which was significantly higher ( $P < 0.01$ ), and the lowest one, 35%, was observed in diluent with 3.75  $\mu\text{g/L}$  of Cu nanocitrate which was significantly lower ( $P < 0.05$ ) than in control group (table 1).

More pronounced changes in the motility of thawed ram spermatozoa were found with the addition of Zn nanocitrate to LYTCGM diluent. In particular, sperm motility increased by 12.9% ( $P < 0.05$ ), 26.0% ( $P < 0.01$ ) and 3.8% compared to the control, after adding it in amount of 2.5, 5.0 and 7.5  $\mu\text{g/l}$ , respectively.

The addition of 1.25  $\mu\text{g/l}$  Cu nanocitrate to the diluent for cryopreservation of ram semen caused increase in

sperm motility in after thawing by 5.1%, but adding 2.5 and 3.75  $\mu\text{g/L}$  of nanocitrate of Cu caused decrease in motility compared to the control by 12.9 and 35.0% ( $P < 0.05$ ), respectively. However, the highest time of spermatozoa survival, 105.3 h ( $P < 0.01$ ), was observed in diluent with 5.0  $\mu\text{g/l}$  Mn nanocitrate and the lowest, 64.7 h ( $P < 0.001$ ), was in diluent with 3.75  $\mu\text{g/l}$  of Cu nanocitrate which was lower than in diluent in control group (table 1).

The study of the activity of SDH and CO enzymes, which are markers of the fertilizing ability of spermatozoa revealed dose dependent differences in thawed ram semen. The highest activity of both SDH and CO enzymes were observed in spermatozoa in group with 5.0  $\mu\text{g/L}$  in diluent of Mn nanocitrate on the level of 44 units ( $P < 0.001$ ) and 49.8 units ( $P < 0.01$ ) respectively than in control group (table 2).

The lowest activity of SDH and CO enzymes in comparison to control group were noticed in diluent with 3.75  $\mu\text{g/l}$  on the level of 19.2 units ( $P < 0.05$ ) and 29 units ( $P < 0.01$ ) respectively.

Addition of nanocitrates of Mn, Zn and Cu to LYTCGM causes changes in the activity of antioxidant defense enzymes in thawed ram sperm. Thus, the addition of 2.5  $\mu\text{g/l}$  Mn nanocitrate caused a decrease in the activity of SOD by 14.5% with a simultaneous increase in the activity of GPO by 15.2% and CAT by 7.5% compared to the control (table 3). At the addition of manganese nanocitrate in a dose of 5.0  $\mu\text{g/l}$ , the difference in the activity of antioxidant protection enzymes in thawed spermatozoa was the highest compared to the control: the activity of SOD decreased by 29.6% ( $P < 0.01$ ), and the activity of GPO and CAT increased by 43.5% ( $P < 0.01$ ) and 40.0% ( $P < 0.05$ ), respectively. At the same time, with the addition of 7.5  $\mu\text{g/l}$  of Mn nanocitrate, the difference in the activity of antioxidant defense enzymes in thawed spermatozoa of rams with the control was insignificant or absent: the activity of SOD was 7.1% lower than the control, and GPO and CAT were higher by 2.2% and 5.0%, respectively.

The similar changes in the activity of antioxidant defense enzymes in thawed spermatozoa were also found when Zn nanocitrate was added to the medium

**Table 1.** Motility and survival of ram spermatozoa after freezing in diluents with addition of Mn, Zn or Cu nanocitrate ( $M \pm SD$ ,  $n=6$ )

Nanocitrate, dose, $\mu\text{g/l}$	Spermatozoa motility, %	Sperm survival, hours
Mn <sup>2+</sup>	2.5	47.5 $\pm$ 1.12
	5.0	55.0 $\pm$ 1.83*
	7.5	44.2 $\pm$ 1.54
Zn <sup>2+</sup>	2.5	50.8 $\pm$ 1.54*
	5.0	56.7 $\pm$ 1.67**
	7.5	46.7 $\pm$ 2.11
Cu <sup>2+</sup>	1.25	47.3 $\pm$ 2.67
	2.5	39.2 $\pm$ 3.01
	3.75	35.0 $\pm$ 1.83*
Control	45.0 $\pm$ 1.83	93.5 $\pm$ 1.84

Note. In this and the following tables \*, \*\* and \*\*\* — superscripts indicate statistical differences  $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$  and  $P < 0.001$ , respectively.

**Table 2.** Activity of SDH and CO in thawed ram spermatozoa in diluent with the addition of Mn, Zn or Cu nanocitrate ( $M \pm SD$ ,  $n=6$ )

Nanocitrate in diluent, $\mu\text{g/l}$	Enzyme activity, units	
	SDH	CO
Mn <sup>2+</sup>	2.5	33.7 $\pm$ 2.16**
	5.0	44.0 $\pm$ 3.24***
	7.5	39.8 $\pm$ 4.18**
Zn <sup>2+</sup>	2.5	38.7 $\pm$ 2.70**
	5.0	41.7 $\pm$ 3.04***
	7.5	39.2 $\pm$ 4.04**
Cu <sup>2+</sup>	1.25	31.5 $\pm$ 1.89*
	2.5	29.2 $\pm$ 2.93*
	3.75	19.2 $\pm$ 3.67*
Control	25.5 $\pm$ 1.59	40.0 $\pm$ 2.52

for cryopreservation of ram sperm. In particular, the addition of zinc nanocitrate in doses of 2.5, 5.0 and 7.5 µg/l caused a decrease in SOD activity in thawed ram sperm by 18.3% (P<0.05), 33.8% (P<0.01) and 10.4%, respectively, and GPO activity, on the contrary, increased by 13.0%, 39.1% (P<0.01) and 4.3%, respectively. At the same time, CAT activity in thawed sperm of rams significantly increased compared to the control at doses of Zn nanocitrate 5.0 µg/l by 37.5% (P<0.05), and at other doses only by 10.0 and 5.0%.

Addition of Cu nanocitrate to LYTCGM caused opposite changes in the activity of antioxidant defense enzymes in thawed ram sperm. Thus, with the addition of 1.25 µg/l of cuprum nanocitrate, SOD activity increased by 6.2%, while GPO and CAT, on the contrary, decreased by 10.9% and 2.5%, respectively, compared to the control. With an increase in the dose of Cu nanocitrate, the difference became more significant: with the addition of 2.5 µg/l, the activity of SOD increases by 18.8% (P<0.05), and the activity of GPO and CAT decreases by 28.5% (P<0.05) and 12.5%, respectively. The difference in the activity of antioxidant protection enzymes in thawed spermatozoa of rams with the control at doses of Cu nanocitrate 3.75 µg/l is even greater: the activity of SOD is higher by 30.3% (P<0.01), the activity of GPO and CAT is lower by 37.0% (P<0.001) and 25.0% (P<0.05), respectively.

The use of frozen-thawed ram semen is important in modern sheep breeding, so effective cryopreservation of ram spermatozoa is an important tool for developing of this branch of breeding and for the whole reproductive technology [3]. It is known that diluents, dilution-cooling-freezing and thawing methods play an important role in the success of ram sperm cryopreservation [34]. To maintain high physiological characteristics of sperm, trace elements are added to ejaculate thinners. At the same time, literature data indicate a negative effect of an excess of trace elements on the physiological characteristics and fertilizing ability of sperm [31, 40]. With an excess of certain elements, it is possible to disrupt the functions of mitochondria, which leads to a decrease in the physiological

characteristics and fertilizing ability of spermatozoa [24]. In view of the above, many authors conduct research on the effect of metals in the form of nanosized forms or nanoparticles on the quality of mammalian sperm [6, 9, 12].

Today, an important role in ensuring the health and productivity of animals is played by new directions of obtaining and using biologically active substances, in particular nanotechnology and nanomaterials [1, 4, 11, 13, 14, 18, 35].

In experiments with the sperm of bulls, the effectiveness of using nanosuccinate of Mn, Zn, and Cu as part of the diluent for cryopreservation of semen of breeding bulls was determined, where the optimal doses of nanosuccinate of manganese and zinc were established, which have a positive effect on the activity, movement parameters, survival, and fertilizing ability of spermatozoa [16, 40]. At the same time, the addition of Cu nanosuccinate to the medium for cryopreservation of spermatozoa has a slight positive effect on bull sperm only at a low dose, with an increase in the dose, the quality and fertilizing ability of germ cells significantly decreases.

In view of the above, we conducted a study to study the effect of adding nanocitrate of Mn, Zn and Cu to the composition of the diluent for cryopreservation of ram semen on quality parameters and fertilizing ability of spermatozoa. It was found experimentally that the addition of Mn and Zn nanocitrate at an optimal dose of 5.0 µg/L to LYTCGM probably increases the motility of ram spermatozoa after thawing, and also reduces the percentage of sperm with morphological disorders. In contrast, the addition of Cu nanocitrate in increasing doses significantly reduces sperm motility in thawed ram semen, simultaneously increasing the percentage of degenerate spermatozoa. This is confirmed by the research of Leahy et al., which was established that an excess of Cu<sup>2+</sup> in diluted ram semen causes sperm agglutination due to the oxidation of free sulfhydryl groups to disulfide ones and reduced its motility [20, 21, 39].

In our studies, the addition of Mn and Zn nanocitrate at a dose of 5.0 µg/L to the medium for freezing ram sperm increases spermatozoa survival, and the addition of Cu nanocitrate in increasing doses significantly reduces the survival time, which confirms the results of studies with bull sperm [16, 39].

Scientists have proven that SDH and CO are markers for determining the fertilizing ability of spermatozoa of male farm animals [25]. In our studies, the addition of Mn and Zn nanocitrate at a dose of 5.0 µg/L to LYTCGM increases the activity of SDH and CO in ram sperm after thawing, and the addition of Cu nanocitrate to diluent in Cu1 and Cu2 groups significantly reduces the activity of these enzymes.

Sperm has an effective enzymatic system of antioxidant protection (SAP), which destroys the excess of formed active forms of oxygen and improves the quality of semen. The main enzymes of SAP are SOD, GPO and CAT [7]. In our experiment, the addition of Mn and Zn nanocitrates to the diluent for cryopreservation of ram semen intensifies

**Table 3.** Activity of antioxidant defense enzymes in thawed spermatozoa of rams at the addition of micronutrient nanocitrate (M±SD, n=6)

Micronutrient nanocitrate, dose, µg/l	SOD, IU/mg of protein	GPO µmol/min×mg of protein	KAT, µmol/min×mg of protein	
Mn <sup>2+</sup>	2.5	47.3±2.11	0.53±0.040	0.43±0.027
	5.0	38.5±1.77**	0.66±0.039**	0.56±0.037*
	7.5	50.8±1.88	0.47±0.045	0.42±0.029
Zn <sup>2+</sup>	2.5	44.7±2.39*	0.52±0.028	0.44±0.024
	5.0	36.2±1.85**	0.64±0.038**	0.55±0.043*
	7.5	49.0±1.75	0.48±0.038	0.42±0.031
Cu <sup>2+</sup>	1.25	58.1±2.44	0.41±0.024	0.39±0.033
	2.5	65.0±2.88*	0.32±0.037*	0.35±0.040
	3.75	71.3±2.68**	0.29±0.036***	0.30±0.027*
Control	54.7±2.58	0.46±0.026	0.40±0.025	

the activity of antioxidant defense enzymes in thawed spermatozoa, which indicates their higher quality at the optimal dose of 0.5 µg/l. At the same time, the addition of Cu nanocitrate LYTCGM in higher doses increases the activity of SOD and decreases the activity of GPO and CAT, which indicates a decrease in sperm quality.

Thus, the addition of Mn and Zn nanocitrate at an optimal dose of 5.0 µg/L to the medium for cryopreservation of ram sperm probably increases the motility of thawed spermatozoa, their survival, the activity of SDH and CO in germ cells, and also intensifies the activity of antioxidant defense enzymes in sperm.

In summary, in our study we observed the highest survival time of semen and highest activity of SDH, CO, GPO and CAT enzymes in ram spermatozoa after thawing in diluent supplemented with 5.0 µg/l Mn and values of those parameters in that group were much better than in control group. Also, the addition of 5.0 µg/l Zn citrate to the extender resulted in a significantly longer sperm survival time after thawing and had a significantly beneficial effect on increasing the SDH, CO, SOD, GPO and CAT enzymatic activity of ram semen after thawing, and the semen survival time was significantly higher ( $P < 0.05$ ) compared to the control group. Although the addition of 1.25 µg/l Cu the sperm survival time was significantly shorter than in the control group, an increase in SOD activity was observed ( $P > 0.05$ ), while the activity of other enzymes did not change significantly compared to the control group.

The obtained results indicate that the addition of Mn, Zn or Cu nanocitrates has a positive effect on all or some parameters of semen suitability for fertilization and also extends its survival (Mn, Zn nanocitrate) after thawing. Due to the multifactorial effect of the addition of Mn, Zn and Cu nanocitrates on semen parameters, research should be continued in order to explain their impact on ram sperm metabolism and survival in the cryopreservation process.

1. Addition of Mn and Zn nanocitrate in amount of 5.0 µg/l to LYTCGM increases the motility of ram sperm ( $P < 0.05$ – $0.01$ ) after thawing, and with the addition of Cu nanocitrate in increasing doses, sperm motility significantly decreases in thawed sperm of rams.

2. Addition of Mn and Zn nanocitrate at a dose of 5.0 µg/L to the extender for freezing ram semen increases sperm survival ( $P < 0.05$ – $0.01$ ) but addition of Cu nanocitrate in amount used in our experiment significantly reduces its survival time.

3. The addition of Mn and Zn nanocitrate at a dose of 5.0 µg/l to LYTCGM increases the activity of SDH ( $P < 0.01$ – $0.001$ ) and TSO ( $P < 0.05$ – $0.001$ ) in thawed ram sperm, and the addition of nanocitrate Cu in higher amount significantly reduces the activity of these enzymes.

4. Addition of Mn and Zn nanocitrates in amount of 0.5 µg/l to the extender for cryopreservation of ram semen intensifies the activity of antioxidant defense enzymes in thawed spermatozoa, which indicates their important role for spermatozoa protection during cryopreservation.

## References

1. Ali A, Ijaz M, Khan YR, Sajid HA, Hussain K, Rabbani AH, Shahid M, Naseer O, Ghaffar A, Naeem MA, Zafar MZ, Malik AI, Ahmed I. Role of nanotechnology in animal production and veterinary medicine. *Trop. Anim. Health Prod.* 2021; 53 (5): 508. DOI: 10.1007/s11250-021-02951-5.
2. Alvarez M, Anel-Lopez L, Boixo JC, Chamorro C, Neila-Montero M, Montes-Garrido R, de Paz P, Anel L. Current challenges in sheep artificial insemination: A particular insight. *Reprod. Domest. Anim.* 2019; 54 (S4): 32–40. DOI: 10.1111/rda.13523.
3. Benson JD, Woods EJ, Walters EM, Critser JK. The cryobiology of spermatozoa. *Theriogenol.* 2012; 78 (8): 1682–1699. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2012.06.007.
4. Borisevich VB, Kaplunenko VG, Kosinov MV. *Nanomaterials in Biology. Fundamentals of nano-veterinary medicine.* Kyiv, Avicenna, 2010: 416 p. (in Ukrainian)
5. Eghbali M, Alavi-Shoushtari SM, Rezaii SA. Effects of copper and superoxide dismutase content of seminal plasma on buffalo semen characteristics. *Pakistan J. Biol. Sci.* 2008; 11 (15): 1964–1968. DOI: 10.3923/pjbs.2008.1964.1968.
6. Falchi L, Khalil WA, Hassan M, Marei WFA. Perspectives of nanotechnology in male fertility and sperm function. *Int. J. Vet. Sci. Med.* 2018; 6 (2): 265–269. DOI: 10.1016/j.ijvsm.2018.09.001.
7. Ford WCL. Regulation of sperm function by reactive oxygen species. *Human Reprod.* 2004; 10 (5): 387–399. DOI: 10.1093/humupd/dmh034.
8. Gandini L, Lombardo F, Lenzi A, Spanò M, Dondero F. Cryopreservation and Sperm DNA Integrity. *Cell Tiss. Bank.* 2006; 7: 91–98. DOI: 10.1007/s10561-005-0275-8.
9. Iftikhar M, Noureen A, Uzair M, Jabeen F, Daim MA, Cappello T. Perspectives of nanoparticles in male infertility: evidence for induced abnormalities in sperm production. *Int. J. Environ. Res. Publ. Health.* 2021; 18 (4): 1758. DOI: 10.3390/ijerph18041758.
10. Iskra RY, Vlizlo VV, Fedoruk RS, Antonyak GL. *Chromium in Animal Nutrition.* A monograph. Kyiv, Agrarian Science Publ., 2014: 312 p. (in Ukrainian)
11. Kareem EH, Dawood TN, Al-Samarai FR. Application of nanoparticle in the veterinary medicine. *Magna Scientia Adv. Res. Rev.* 2022; 4 (1): 27–38. DOI: 10.30574/msarr.2022.4.1.0082.
12. Khalil W, El-Harairy MA, Zeidan AEB, Hassan MAE. Impact of selenium nanoparticles in semen extender on bull sperm quality after cryopreservation. *Theriogenol.* 2019; 126: 121–127. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2018.12.017.
13. Kondrasiy LA, Yakubchak ON, Maliuk NO, Kaplunenko VH. The quality variation of raw milk under preparation based on citrate Zn and Ge. *Sci. Rep. NULES Ukraine.* 2017; 3 (67): 19–32. DOI: 10.31548/dopovid2017.03.019. (in Ukrainian)
14. Kondratska OA, Grushka NG, Kaplunenko VG, Pavlovych SI, Sribna VO, Yanchii RI. Protective effect of germanium citrate in endotoxin-induced ovarian dysfunction in mice. *Med. Perspect.* 2018; 23 (1/1): 71–77. DOI: 10.26641/2307-0404.2018.1(part1).127240. (in Ukrainian)
15. Kornyat S, Sharan M, Ostapiv D, Korbeckij A, Jaremchuk I, Andrushko O. Quality of deconserved bull sperm for the action of nanosuccinates Zn, Cu and Mn in the diluents. *Biol. Tvarin.* 2021; 23 (1): 23–29. DOI: 10.15407/animbiol23.01.023. (in Ukrainian)
16. Kornyat S, Yaremchuk I, Andrushko O, Ostapiv D, Sharan M, Chajkovska O. The intensity of the oxidation processes in the sperm of the boar at the add of metal nanosuccinates to the Ecosperm medium. *Sci. Tech. Bull. SSRIVMPFA.* 2019; 20 (2): 352–357. DOI: 10.36359/scivp.2019-20-2.46. (in Ukrainian)
17. Kosinov MV, Kaplunenko VG. Method for metal carboxylates obtaining "Nanotechnology of obtaining metal carboxylates". Patent of Ukraine no. 38391 from 12.01.2009. Available at: <https://base.uipv.org/searchINV/search.php?action=viewdetails&IdClaim=128062> (in Ukrainian)
18. Kovalchuk II, Kykish IB, Kaplunenko VH. *Influence of citrate microelements on the reproductive capacity of queen bees. Actual problems of natural sciences: modern scientific discussions.* A collective monograph. Riga, Baltija Publishing, 2020: 87–110. DOI: 10.30525/978-9934-26-025-4-6. (in Ukrainian)

19. Kuzmina NV, Ostapiv DD. SOD isozymes in diluted ejaculates of bulls. *Anim. Breed. Genet.* 2010; 44: 107–108. Available at: [http://nbuv.gov.ua/UJRN/rgt\\_2010\\_44\\_37](http://nbuv.gov.ua/UJRN/rgt_2010_44_37) (in Ukrainian)
20. Leahy T, Rickard JP, Aitken RJ, de Graaf SP. D-penicillamine prevents ram sperm agglutination by reducing the disulphide bonds of a copper-binding sperm protein. *Reprod.* 2016; 151 (5): 491–500. DOI: 10.1530/REP-15-0596.
21. Maulana T, Said S. Kinematics motility of frozen-thawed X and Y sperm of Sumba Ongole bull. *IOP Conf. Ser. Earth Environ. Sci.* 2019; 387: 012030. DOI: 10.1088/1755-1315/387/1/012030.
22. Nagata MPB, Egashira J, Katafuchi N, Endo K, Ogata K, Yamana-ka K, Yamanouchi T, Matsuda H, Hashiyada Y, Yamashita K. Bovine sperm selection procedure prior to cryopreservation for improvement of post-thawed semen quality and fertility. *J. Anim. Sci. Biotechnol.* 2019; 10: 91. DOI: 10.1186/s40104-019-0395-9.
23. Nakada K, Sato A, Yoshida K, Morita T, Tanaka H, Inoue SI, Yoneka-wa H, Hayashi JI. Mitochondria-related male infertility. *PNAS.* 2006; 103 (41): 15148–15153. DOI: 10.1073/pnas.0604641103.
24. Nischemenko N, Kaplunenko V, Emelianenko A. Embryonic development of quails in the incubating eggs processing solution aquachelate germany. *Sci. Bull. LNUVMBT. Ser. Vet. Sci.* 2014; 16 (2/2): 258–264. Available at: [http://nbuv.gov.ua/UJRN/nvlnu\\_2014\\_16\\_2%282%29\\_44](http://nbuv.gov.ua/UJRN/nvlnu_2014_16_2%282%29_44). (in Ukrainian)
25. Pal RP, Mani V, Mir SH, Singh RK, Sharma R. Importance of trace minerals in the ration of breeding bull — a review. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.* 2017; 6 (11): 218–224. DOI: 10.20546/ijcmas.2017.6.11.026.
26. Rokotyanska VO. The influence of nanoaquachelates on the biological quality of sperm. *Bull. Agr. Sci. Black Sea Region.* 2018; 3 (99): 56–60. DOI: 10.31521/2313-092X/2018-3(99)-9. (in Ukrainian)
27. Rowe MP, Powell JG, Kegley EB, Lester TD, Rorie RW. Effect of supplemental tracemineral source on bull semen quality. *Appl. Anim. Sci.* 2014; 30 (1): 68–73. DOI: 10.15232/S1080-7446(15)30085-1.
28. Salamon S, Maxwell WMC. Frozen storage of ram semen I. Processing, freezing, thawing and fertility after cervical insemination. *Anim. Reprod. Sci.* 1995; 37 (3–4): 185–249. DOI: 10.1016/0378-4320(94)01327-1.
29. Salamon S, Maxwell WMC. Storage of ram semen. *Anim. Reprod. Sci.* 2000; 62 (1–3): 77–111. DOI: 10.1016/S0378-4320(00)00155-X.
30. Sengupta P. Environmental and occupational exposure of metals and their role in male reproductive functions. A review. *Drug Chem. Toxicol.* 2013; 36 (3): 353–368. DOI: 10.3109/01480545.2012.710631.
31. Serdyuk AM, Gulich MP, Kaplunenko VG, Kosinov MV. Nano-technologies of micronutrients: problems, prospects and ways to eliminate the deficiency of macro- and microelements. *J. NAMS Ukraine.* 2010; 16 (1): 107–114. (in Ukrainian)
32. Skrzycki M, Czczot H. Extracellular superoxide dismutase (EC-SOD) — structure, properties and functions. *Adv. Hygiene Exp. Med.* 2004; 24 (58): 301–311. PMID: 15280800 (in Polish)
33. Tekin N, Uysal O, Akçay E, Yavaş İ. Effects of different taurine doses and freezing rate on freezing of row semen. *Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg.* 2006; 53 (3): 179–184. Available at: <http://vetjournal.ankara.edu.tr/en/pub/issue/47514/599969> (in Turkish)
34. Uysal O, Bucak MN. Effects of oxidized glutathione, bovine serum albumin, cysteine and lycopene on the quality of frozen-thawed ram semen. *Acta Vet. Brno.* 2007; 76 (3): 383–390. DOI: 10.2754/avb200776030383.
35. Vlizlo VV. (ed.). *Laboratory Methods in Biology, Stockbreeding and Veterinary Medicine.* Lviv, Spolom Publ., 2012: 764 p. (in Ukrainian)
36. Vlizlo V, Bashchenko M, Iskra R, Fedoruk R, Zhukorskyi O, Mezentseva L. Nanotechnologies and their application in animal husbandry and veterinary medicine. *Bull. Agr. Sci.* 2015; 93 (11): 5–9. DOI: 10.31073/agrovisnyk201511-01. Available at: <https://agrovisnyk.com/index.php/agrovisnyk/article/view/178> (in Ukrainian)
37. Vlizlo VV, Fedoruk RS, Iskra RJ. Biological effect of functional nanomaterials in various species of animals. *Bull. Agr. Sci.* 2018; 96 (11): 80–86. DOI: 10.31073/agrovisnyk201811-11. (in Ukrainian)
38. Wirth JJ, Mijal RS. Adverse effects of low level heavy metal exposure on male reproductive function. *Syst. Biol. Reprod. Med.* 2010; 56 (2): 147–167. DOI: 10.3109/19396360903582216.
39. Yaremchuk I, Kuzmina N, Ostapiv D, Sharan M, Kava S. Oxidative processes intensity and quality of bull semen when adding microelements nanosuccinate compounds. *Sci. Bull. LNUVMBT Ser. Vet. Sci.* 2017; 19 (77): 185–189. DOI: 10.15421/nvlvet7740. (in Ukrainian)
40. Yaremchuk IM, Sharan MM. Modern analysis capabilities sperm quality and sperm dose calculation. *Biol. Tvarin.* 2012; 14 (1–2): 697–703. Available at: <http://aminbiol.com.ua/index.php/archive?catid=1.2013-02-15-09-09-13&id=203.2013-03-09-12-31-38> (in Ukrainian)

## Якість спермійв баранів після розморожування за додавання наночитрату Mn<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup> та Cu<sup>2+</sup> до середовища для кріоконсервування

O. Шаран<sup>1</sup>, В. Стефанік<sup>1</sup>, М. Муравські<sup>2</sup>  
oshaom737@gmail.com

<sup>1</sup>Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Ґжицького, вул. Пекарська, 50, м. Львів, 79010, Україна

<sup>2</sup>Краківський сільськогосподарський університет, ал. Міцкевича, 21, м. Краків 31-120, Польща

Метою роботи було з'ясувати вплив додавання наночитрату Mn, Zn та Cu до середовища для кріоконсервування сперми баранів на якість та запліднювальну здатність спермійв. Експеримент проводили на шести клінічно здорових баранах-плідниках віком 2-4 роки породи тексель. Отримані еякуляти баранів оцінювали за об'ємом, концентрацією та рухливістю спермійв і ділили на контрольну і дослідні групи. Контрольні зразки сперми розбавляли лактозо-жовтково-тріс-цитрато-гліцериним середовищем (ЛЖТЦГС). У дослідних зразках сперми баранів до середовища додавали наночитрати мікроелементів у дозах: Zn<sup>2+</sup> і Mn<sup>2+</sup> — 2,5, 5,0 та 7,5 мкг/л, Cu<sup>2+</sup> — 1,25, 2,5, та 3,75 мкг/л. Розбавлену сперму фасували у соломинки, еквілювали впродовж 2,5 год. і заморозували. Після розморожування сперми визначали рухливість, виживання спермійв, активність сукцинатдегідрогенази (СДГ) та цитохромоксидази (ЦО), активність ензимів антиоксидантного захисту супероксиддисмутазу (СОД), глутатіонпероксидази (ГПО) і каталази (КАТ). Встановлено дозозалежну дію наночитратів Mn, Zn та Cu за додавання їх до ЛЖТЦГС. Додавання наночитратів Mn, Zn до ЛЖТЦГС у дозі 5,0 мкг/л активність спермійв підвищилася на 22,2% (P<0,05) та 26,0% (P<0,01), а виживання спермійв — відповідно, на 12,6% (P<0,01) та 5,9% (P<0,05) порівняно з контролем. Наночитрати Mn, Zn у дозі 5,0 мкг/л у складі ЛЖТЦГС спричинили вірогідне зростання СДГ (P<0,001) і ЦО (P<0,05–0,01), що вказує на високу запліднювальну здатність спермійв баранів. Аналогічно, за додавання наночитратів Mn, Zn до ЛЖТЦГС у дозі 5,0 мкг/л активність СОД знизилася на 29,6% (P<0,01) та 38,8% (P<0,01), активність ГПО підвищилася, відповідно, на 43,5% (P<0,01) та 39,1% (P<0,01), КАТ — відповідно, на 40,0% (P<0,05) та 37,5% (P<0,05). Водночас додавання наночитрату Cu до ЛЖТЦГС зі збільшенням дози вірогідно знижує активність, виживання та запліднювальну здатність деконсервованих спермійв баранів, а також погіршує показники їх антиоксидантного захисту.

**Ключові слова:** баран, сперма, наночитрат Mn, Zn, Cu, запліднювальна здатність, рухливість, антиоксидантний захист



## Integrated assessment of bulls of precocious meat breeds of English selection in the conditions of Ukraine

V. S. Kozyr  
izkzoo3337@gmail.com



Institute of Grain Crops NAAS, 14 Volodymyra Vernadskoho str., 14, Dnipro, 49009, Ukraine

### ORCID:

V. S. Kozyr <https://orcid.org/0000-0002-0275-475x>

### Authors' Contributions:

**KVS:** Conceptualization; Data curation; Formal analysis; Investigation; Methodology; Project administration; Supervision; Writing — original draft, review & editing.

### Declaration of Conflict of Interests:

None to declare.

### Ethical approval:

None.

### Acknowledgements:

None.



Attribution 4.0 International  
(CC BY 4.0)

An integrated assessment of the productivity of precocious Hereford and Aberdeen Angus beef bulls of English breeding in the Ukraine Steppe zone conditions was carried out. It has been established that livestock from the seaside climate have adapted to the dry, hot environment of the Steppe zone, as evidenced by the clinical indicators of the animals' bodies. Livestock developed harmoniously, external measurements and indices of body structure were within the limits of breed standards. Hereford and Aberdeen Angus breeds bulls under pasture-free maintenance and rearing conditions for up to 2.5 years at the end of fattening had high productivity — 688 and 531 kg of body weight, respectively. The bulls were with a harmoniously developed body and perfectly expressed meat forms. The bulls were of compact build with a developed deep chest, a full back part of the body, which is characteristic of cattle with a strong constitution and potentially high meat productivity. The relative growth rate of the bulls during the study was in the range of 19–22%. Therefore, Hereford and Aberdeen Angus breeds are the future of meat cattle breeding in Ukraine to increase the production of high-quality “marble” beef. Compared to Aberdeen Angus, Herefords differ in slightly larger habit, massiveness, growth energy, feed conversion, slaughter indicators, balanced morphological composition of carcasses, meatiness ratio. Absolute and relative increases in body weight confirm the high genetic potential of meat productivity — 18–24-month-old bulls have reached sales conditions. Today, their number is small, and reproduction requires a certain amount of time and money, so we believe that the breeding period can be extended to 30 months. In the period of formation of the meat cattle breeding industry, it is possible to raise young animals up to 30 months of age without deterioration of slaughter performance and culinary and taste qualities of beef in accordance with consumer requirements.

**Key words:** cattle, breed, bulls, exterior, meat productivity, slaughter indicators, beef quality

## Introduction

In countries with developed cattle breeding, beef is mainly obtained from specialized meat breeds. In Ukraine, this industry is in the stage of formation, and dairy cattle are used for slaughter, the meat of which has much lower quality.

Therefore, a lot of livestock is imported into the country to participate in the creation of meat cattle breeding and the breeding of domestic meat types and breeds. The productivity of beef cattle genotypes was studied by many domestic and foreign scientists [12, 14]. The most common short-ripening Hereford and Aberdeen Angus breeds [15].

Hereford is the most numerous breed of cattle in the world. It was bred in United Kingdom. The world association for this breed includes more than 25 national associations, including two such organizations in the USA and Australia. They were brought to Ukraine from UK, the USA and Canada.

The widespread distribution and popularity of this breed was achieved due to excellent adaptation to different climatic conditions (from the frosts of northern latitudes to subtropical heat), relatively economic precociousness of animals, good fertility, easy calving, calm temperament, ability to effectively use plant fodder and rapid growth of meat forms and outstanding performance. The live weight of adult cows is 500–600 kg, in bulls it is over 1000 kg. Livestock is not high in comparison to others. These qualities are persistently transmitted to offspring not only during purebred breeding, but also during industrial crossing.

In Ukraine, Herefords are used in the creation of new high-yielding meat genotypes with a strong constitution. For science and practice, it is expedient to study how purebred cattle behave in the rather difficult pasture-free climatic conditions of the steppe zone, how these conditions affect the intensity of their growth in different age periods, to what live weight and age animals should be raised for meat in order to obtain the maximum the amount of high-quality beef with the optimal ratio of muscles and bones, protein and fat, lower consumption of feed per unit of production.

The Aberdeen Angus cattle breed is native to the counties of Aberdeen and Angus in northeastern Scotland. It was bred in the 19<sup>th</sup> century and has the most pronounced precocious type, widely distributed in countries with developed meat cattle breeding — USA, Canada, Argentina, Australia, New Zealand.

Aberdeen Angus cattle began to be imported to Ukraine from England in 1932, and a particularly large number of them arrived in 1960–1964 from Canada. Breeding and genetic work with them was carried out from the beginning of the seventies of the last century at the experimental station of meat cattle breeding of the National Agrarian University (Vorzel, Kyiv Region) under the leadership of Professor O. G. Timchenko [14].

Bulls and cows imported from UK are large with well-defined meat forms compared to Canadian ones, which are more angular, have a strong and rough skeleton, a heavy head. The young, obtained from reciprocal crossings of animals of Canadian and Scottish origin, grew and developed normally. There is practically no barrenness and abandonment of newborn calves. The results of crossbreeding Aberdeen Angus with Simmentals, Charolais, Herefords, Kianas, Ukrainian black and white cattle were used by O. G. Tymchenko with the breeding of domestic Volyn and Znamyan meat breeds. He came to the unequivocal conclusion that Aberdeen Angus were satisfactorily acclimatized in different soil and climatic zones of Ukraine, are not demanding on coarse feed (they eat straw of winter cereals well).

Despite the fact that this breed was created for pasture keeping, it feels comfortable in stall-walking keeping as well. According to S. Ya. Dudik and A. V. Lanyina cows of this breed have sufficient milk yield to raise a calf with a body weight of 200 kg for up to 7–8 months.

Herefords and Aberdeen Angus were also brought to Dnipropetrovsk region for this purpose. The reproductive function of heifers and cows was within such limits as in their homeland. Embryonic development of the fetus and hotels took place without abnormalities. Growth of newborn calves was also normal. Observations did not reveal any external defects. All the measured measurements of the animals were within the limits typical for specialized meat English breeds. The body of cattle of both breeds was tub-shaped with well-developed trunk muscles.

Our long-term (up to 30 months) studies of the ontogeny of bulls in the steppe zone of Ukraine established that they are well acclimatized to the ecological conditions of a hot, dry climate when they are kept without pasture. This is evidenced by clinical and hematological indicators. Physiological processes in the animals' body were within normal limits. Edibility of traditional rough forages (straw of winter wheat and barley), silage from corn of milk-wax maturity and silage from alfalfa, green mass of corn and alfalfa, finishing feeds (combined fodder from grain corn, wheat, barley, peas, sunflower meal), mineral additive (tricalcium phosphate), trace elements were at the level of 97–98%.

Meat productivity (average daily gains) corresponded to the breed standard, it increased in the first months of life, and after 24 months of age it gradually decreased due to the slowing down of muscle tissue growth and the outpacing growth rate of fat synthesis (body salting). Slaughter parameters (slaughter yield, carcass and offal yield, meatiness ratio, beef marbling, protein-to-fat ratio, calorie content, culinary and taste qualities) were such that they met the needs of the consumer.

Despite the fact that both breeds are precocious and have a great uniformity of many indicators, Hereford and Aberdeen Angus bulls had some breed characteristics, which prompted the urgency of conducting research.

The purpose of the research is to study the peculiarities of the ontogenesis of Hereford and Aberdeen Angus bulls in the Ukraine steppe conditions. The subject of research is bulls of specialized precocious meat breeds of Great Britain. The object of research is the growth, development and meat productivity of bulls from birth to 30 months of age.

## Materials and Methods

Two groups of clinically healthy Hereford and Aberdeen Angus breeds (15 bulls in each group) were formed in the research farm "Polyvanivka" of the Institute of Grain Crops NAAS. The animals were raised in the same room under the same climatic, technological and feed conditions from birth to 30 months of age.



Rations by age periods were balanced according to the norms. Distribution of fodder, watering of animals and cleaning of the premises was mechanized.

Growth was studied according to the external indicators of body measurements, development — according to live weight (monthly weighing), absolute and average daily growth at birth, at 6, 12, 18, 24 and 30 months. Hematological studies were performed in the certified laboratory of the Dnipro State Agrarian and Economic University. Modern biochemical, zootechnical, economic, statistical, analytical methods were used during constant observation of animals.

**Results and Discussion**

Clinical indicators of experimental animals of both breeds indicate that they are well acclimatized in the steppe zone of Ukraine and were healthy during all periods of observation (table 1).

The body temperature and pulse and breathing rates in the bulls were within the average limits for cattle without significant deviations. With age, all clinical indicators naturally gradually decreased. Normal physiological processes in the animal body are confirmed by the results of blood serum analysis: the number of erythrocytes (6–8 million/mm<sup>3</sup>), hemoglobin (10–13%), leukocytes (6–12 thousand/mm<sup>3</sup>), lymphocytes (49–52%). level of glucose and albumins, lipoproteins, carotene, calcium and phosphorus concentration.

The age-related exterior changes were observed. The indicators of all measurements increased naturally (table 2): in comparison with the one-year age, the height in withers at the age of 30 months of the Hereford bulls increased by 14%, the Aberdeen Angus — by 13%, the height in sacrum — by 10 and 13%, respectively, the chest width — by 49 and 34%, chest depth — by 26 and 23%, chest girth — by 25 and 20%, back width in the macklocks — by 45 and 41%, in the hip joint — by 27 and 23%, and in the buttocks humps — by 86 and 62%, back half girth — by 27 and 26%, metacarpus girth — by 19 and 21%, head length — by 13 and 11%, forehead width — by 17 and 16%, oblique body length — by 19 and 12%.

According to all external data, the Aberdeen Angus bulls were smaller compared to the Herefords, but the animals of both breeds were compact with proportional forms of parts of the body, in relation to the ratio of height and depth and body length and width, as a result of which the animal acquired a more rounded barrel-shaped physique with age with a broad back, a well-developed rear third, that is, those parts that give the most valuable meat and in larger quantities [2]. They reached optimal development at the age of 18 months.

Body measurements characterize the meat type. Live weight gain is related to linear, although the latter increases less intensively than the former, which follows from the Darwinian law of the ratio of growth and the correlative relationship between individual parts of the

**Table 1.** Clinical indicators of bulls

Breed	Age, months	Body t, C°		Pulse per min		Breaths per min	
		M	lim	M	lim	M	lim
H	at birth	40.4	40.3–40.5	125.5	121–130	31.5	31–32
	6	40.3	40.2–40.4	94.5	93–96	29.0	28–30
	12	39.1	38.9–39.8	92.5	91–94	23.5	23–24
	18	38.9	38.7–39.1	84.5	93–86	19.0	18–20
	24	37.9	37.8–38.1	72.5	71–74	18.0	17–19
	30	37.4	37.1–37.6	61.0	60–62	15.5	15–16
AA	at birth	40.2	40.1–40.3	137.0	134–140	30.5	30–31
	6	39.9	39.7–40.1	94.0	93–95	28.0	27–29
	12	39.2	39.0–39.8	83.5	83–84	22.0	21–23
	18	38.5	38.4–38.6	73.5	71–76	17.0	16–18
	24	38.1	38.0–38.2	63.5	61–66	16.0	15–17
	30	37.5	37.4–37.6	62.5	60–64	14.5	13–16

Note. Here and in the next tables H — Hereford, AA — Aberdeen Angus.

**Table 2.** Age-related exterior changes, cm (X±Sx)

Body measurements	Breed	Age, months			
		12	18	24	30
Oblique body length	H	143.8± ±2.61	157,6 ±3,91	166,0± ±2,33	171,7± ±1,54
	AA	130.0± ±1.17	134,5± ±0,74	138,7± ±0,54	145,6± ±1,32
Height in withers	H	107.2± ±0.42	115,6± ±0,70	120,0± ±0,52	121,0± ±1,01
	AA	99.6± ±0.64	102,8± ±1,61	110,7± ±0,92	112,9± ±1,04
Height in sacrum	H	110,0± ±0,91	121,4± ±1,62	123,4± ±1,14	124,0± ±3,61
	AA	103.5± ±0.86	108,9± ±0,59	115,7± ±0,59	117,9± ±0,72
Chest depth	H	56.2± ±0.41	65,6± ±1,84	69,4± ±0,95	70,7± ±1,32
	AA	52.0± ±0.24	56,3± ±0,81	61,0± ±0,69	63,9± ±1,24
Chest width	H	38,8± ±0,22	46,4± ±0,81	55,0± ±0,66	57,7± ±0,34
	AA	35,8± ±0,81	40,0± ±0,66	44,7± ±0,71	47,9± ±0,49
Chest girth	H	170.2± ±1.81	194,6± ±3,67	208,0± ±1,72	212,7± ±0,39
	AA	143.6± ±1.04	151,8± ±1,12	162,0± ±0,94	167,9± ±0,88
Back width in macklocks	H	39,6± ±0,84	47,4± ±0,82	49,2± ±0,73	49,3± ±0,38
	AA	33,9± ±0,35	35,3± ±0,24	41,7± ±0,59	47,9± ±0,61
Back width in the hip joint	H	40,0± ±0,71	47,5± ±1,03	49,9± ±0,79	50,6± ±0,34
	AA	40,2± ±0,69	44,3± ±0,43	48,7± ±0,38	49,9± ±0,37
Back width in the buttock humps	H	13,4± ±0,54	17,8± ±0,60	23,4± ±0,48	25,0± ±0,69
	AA	11,7± ±0,15	12,3± ±0,16	14,3± ±0,29	19,1± ±0,77
Back half girth	H	94,1± ±1,44	97,3± ±1,53	117,4± ±1,21	119,1± ±1,17
	AA	92,8± ±1,31	95,5± ±1,67	115,3± ±1,17	116,9± ±1,21
Metacarpus girth	H	19,4± ±0,41	22,2± ±0,24	22,4± ±0,29	23,0± ±0,09
	AA	16,0± ±0,23	16,6± ±0,27	18,5± ±0,29	19,4± ±0,08
Head length	H	40,0± ±1,05	42,4± ±0,90	45,0± ±0,37	45,2± ±0,34
	AA	39,0± ±0,44	34,8± ±0,66	43,0± ±0,33	43,1± ±0,29
Forehead width	H	21,2± ±0,61	22,6± ±0,77	24,6± ±0,26	24,7± ±0,31
	AA	19,2± ±0,41	19,3± ±0,31	21,0± ±0,33	22,4± ±0,17

animal's body, which consists in the fact that the entire organization of the animal during growth and development to be in such a relationship that when changes occur in any part and are accumulated by natural selection, other parts also change. Our research confirms the opinion of N. G. Chervinskyi and A. A. Moliganov, that in young animals the live weight increases more slowly compared to the growth of the body in width and length. Body composition indexes more objectively characterize the degree and process of growth and development of individual parts of the body and the organism in general (table 3).

With age, the stretching, pelvic-thoracic, thoracic, bonyness, and compactness indices increase, while long-leggedness decreases. In all age periods, the animals had a compact body structure, a deep and wide body, a well-developed chest, a well-filled rear third of the body, which are characteristic of animals with a strong constitution and potentially high meat productivity.

Some interbreed differences were observed in the energy of growth in bulls in separate age periods (table 4). The highest average daily increases were in the sucking period. In the future, they gradually decreased. But during the entire period of research, they remained high. However, Herefords grew more intensively, as evidenced by absolute increases. Weight growth occurred in parallel with linear growth, but the latter increased more slowly than the former. This corresponds to the Darwinian law of individual development — the ratio of growth and correlative connection between individual parts of the body of animals, which is also confirmed by body composition indices.

In connection with the fact that the average daily and therefore the absolute gains of Aberdeen Angus in all age periods were lower than those of Hereford cattle, they were inferior to Herefords in terms of live weight (table 5). The relative growth rate in animals of both breeds in all studied periods was practically the same — 19–22%. The lower rate of increase in live weight of Aberdeen Angus has a negative impact on the efficiency of using feed because animals use more nutrients in the diet to obtain a unit of fat, including crude, than to produce muscle tissue (meat).

The results of our research correspond the statement of many scientists that the absolute increase in the body weight of animals increases intensively until it reaches 1/3 of the weight of the grown animal, and then decreases [16]. These indicators are important from a practical point of view, and the relative growth rate (multiplicity) indicates the intensity of growth and the intensity of assimilation processes in the body [3]. It is also important for assessing the genetic potential of productivity and the economic and biological characteristics of the breed.

The level of meat productivity depends on the conditions of animal feeding [6]. As for feed costs for live weight gain, they increased with age, especially after 18 months of life, which is associated with faster growth rates of adipose tissue compared to muscle tissue (table 6). This is characteristic of precocious specialized breeds with intensive formation of beef marbling. Each kilogram of fat increases the total feed consumption [9].

**Table 3.** Body structure indices in bulls

Indicator	Breed	Age, months			
		12	18	24	30
Long-leggedness	H	47.8	45.2	44.9	43.8
	AA	47.5	43.2	42.1	36.9
Stretching	H	120.5	122.4	124.9	125.8
	AA	119.5	124.2	126.3	127.2
Pelvic-thoracic index	H	105.6	113.3	117.2	119.4
	AA	97.6	98.8	111.7	116.9
Thoracic index	H	68.8	71.5	73.3	78.8
	AA	69.0	70.7	79.2	81.7
Compactness	H	119.6	120.7	124.5	129.9
	AA	132.7	135.5	137.7	140.0
Macklocks/hip joint index	H	26.1	27.8	29.4	31.4
	AA	33.5	37.5	42.0	46.0
Bonyness	H	16.1	16.2	16.7	16.8
	AA	18.2	19.2	19.6	19.9
Latitude	H	30.9	31.8	32.8	33.1
	AA	29.0	30.2	34.0	36.0

**Table 4.** Gain in bulls of experimental breeds

Age period, months	Daily average, g		Absolute, kg, X±Sx	
	H	AA	H	AA
0–6	1191	901	215.5±1.12	162.2±1.64
6–12	1008	882	126.0±2.91	68.8±1.87
0–12	936	707	341.5±3.74	127.2±2.89
12–18	875	676	157.5±4.64	103.7±5.19
0–18	924	620	499.0±6.99	334.7±5.91
18–24	853	626	81.5±7.81	112.6±6.47
0–24	795	612	580.5±8.96	447.3±7.72
24–30	661	534	83.0±9.11	60.2±8.37
0–30	730	558	663.5±11.04	507.5±9.85

**Table 5.** Dynamics of live weight in bulls, kg (X±Sx)

Age, months	Breeds	
	H	AA
At birth	25.0±0.50	23.5±0.58
6	240.5±3.85	185.7±4.11
12	366.5±5.70	254.5±4.34
18	524.0±7.90	358.2±6.19
24	606.5±8.25	470.8±7.71
30	688.5±9.50	531.0±8.67

**Table 6.** Feed costs per 1 kg of growth, MJ (X±Sx)

Age, months	Breeds	
	H	AA
0–6	132.4±1.17	135.1±1.24
6–12	112.7±1.14	113.4±1.27
12–18	91.2±0.98	96.2±1.06
18–24	119.6±1.16	125.4±1.24
24–30	148.4±2.67	153.6±2.78
0–30	117.2±1.24	121.3±1.31

Thus, the potential of rocks even in the difficult ecological and climatic conditions of the Ukrainian steppe is great. Therefore, it is short-sighted to abandon the use of Herefords and Aberdeen Angus, both in the creation of purebred herds and in industrial crossbreeding.

**Table 7.** Slaughter rates of bulls (X±Sx)

Indicator	Age, months	Breeds	
		H	AA
Pre-slaughter live weight, kg	18	508.4±6.77	340.1±4.27
	24	583.0±10.64	447.01±8.90
	30	688.2±14.72	504.3±12.31
Steamed carcass weight, kg	18	312.7±12.52	202.9±6.05
	24	363.0±14.10	259.2±4.46
	30	416.1±16.3	294.0±9.64
Steam carcass output, %	18	61.4±0.41	59.8±1.35
	24	62.2±0.63	57.9±0.40
	30	62.3±0.37	58.3±0.09
Specific weight of the high category offal, %	18	86.4±0.83	85.7±0.77
	24	84.9±0.74	83.2±0.81
	30	85.5±0.57	82.8±0.64
Crude fat weight, kg	18	5.7±0.10	6.8±0.14
	24	18.9±0.24	13.9±0.31
	30	23.0±0.39	17.0±0.44
Crude fat output, %	18	1.1±0.12	2.0±0.94
	24	3.7±0.18	4.1±1.12
	30	4.6±1.41	5.0±2.17
Slaughter yield, %	18	64.6±0.30	61.4±0.90
	24	65.5±0.42	61.1±0.31
	30	65.7±0.24	61.9±0.34

**Table 8.** Morphological composition of carcasses (X±Sx)

Indicator	Age, months	Breeds	
		H	AA
Muscle weight, kg	18	239.2±3.12	163.4±3.77
	24	284.3±3.01	209.4±2.99
	30	328.9±2.92	244.9±2.70
Muscle yield, %	18	76.5±2.02	80.5±1.19
	24	78.3±2.14	80.8±1.76
	30	79.1±3.01	83.3±2.04
Bone weight, kg	18	42.4±1.14	35.6±1.41
	24	54.6±1.87	42.9±1.58
	30	60.2±2.94	47.4±3.06
Meatiness index	18	5.6±0.11	4.6±0.17
	24	5.2±0.19	4.9±0.24
	30	5.4±0.32	5.2±0.39
The specific weight of the high quality meat, %	18	12.3±0.79	8.5±0.66
	24	12.6±0.86	8.7±0.83
	30	12.7±0.97	8.8±0.84

**Table 9.** Characteristics of crude fat (X±Sx)

Indicator	Age, months	Breeds	
		H	AA
Crude fat weight, kg	18	15.9±0.6	6.9±0.8
	24	18.9±2.01	13.9±0.3
	30	23.1±2.03	17.0±1.8
Including: gastric, kg	18	4.9±0.17	2.6±0.32
	24	8.9±1.19	3.1±0.96
	30	9.7±1.31	5.9±1.04
kidney, kg	18	7.4±0.82	2.2±0.66
	24	8.3±1.09	6.9±0.93
	30	8.6±1.22	7.3±1.12
intestinal, kg	18	3.5±0.31	3.1±0.12
	24	4.2±0.40	3.2±0.87
	30	4.9±0.52	3.5±0.91
heart, kg	18	0.1±0.01	0.2±0.01
	24	0.5±0.10	0.7±0.12
	30	0.9±0.24	0.7±0.21
Output of crude fat	18	5.1±0.47	3.5±0.24
	24	5.2±0.49	5.4±0.62
	30	5.6±0.54	5.8±0.73

The Hereford bulls breed by habitus and live weight were larger and heavier than Aberdeen Angus ones. Despite this, the animals of both breeds in the end of the experiment reached high weight conditions, which had a positive impact on slaughter indicators (table 7).

The majority of scientists were limited to raising livestock up to 15, 18, and 21 months of age [10]. We believe that such age periods are not typical for all meat breeds, due to the great difference in the results of their slaughter. Therefore, we conducted a study when the animals were slaughtered at a later age.

One of the main indicators of the nutritional value of beef is the weight of the carcass and its morphological composition and ratio of individual parts, yield of offal and crude fat (table 8). The carcasses of experimental animals in all controlled periods are classified as I category.

With the age of the animals, the weight of the paired carcass, crude fat, and therefore the slaughter weight and the slaughter yield, increased, except for the yield of high category offal. During the entire period of research, Hereford bulls were ahead of their Aberdeen Angus peers. The morphological composition of carcasses shows that precocious British breeds show the greatest intensity of growth in live weight and carcass weight up to 18 months of age, and later — fat weight (table 9). It is desirable to take this pattern into account when deciding on the duration of their cultivation and implementation, because the synthesis of each extra kilogram of crude fat, which, like subcutaneous fat (watering), is not in demand by the consumer, and the body spends much more feed than on production of muscles [1]. Age-related changes also occur in the chemical composition of fat. This is especially visible when comparing breeds — Herefords accumulate more raw material.

In adults, the function of individual organs and metabolism decreases, as a result of which the intensity of fat deposition in different parts of the body is not uniform. First, it accumulates on the internal organs, then between the muscles and under the skin, and at the end of fattening — in the muscles (the meat acquires marbling). Fat synthesis increases from the moment when the caloric content of the diet begins to exceed the body's energy expenditure. Ability to early obesity is one of the signs of precociousness of livestock [11].

Fat is evenly distributed between muscles, which makes them "marble" and increases the taste of beef [6]. Out of the total amount of fat in the body of bulls, the share of fat in the carcass was 29%, and fat in raw meat was 71%. In their further cultivation, the amount of fat in the carcass increased to 55% (table 10). The chemical composition changed with age — less moisture, more protein and especially fat. The ratio of muscle components becomes more attractive to the consumer [8]. The presence of fat in the meat makes it juicy, tender and aromatic. But excess fat impairs the body's assimilation of nutrients and the culinary qualities of beef. The total weight of crude fat increases dynamically from 15–18 months of age. Gastric and cardiac had the highest growth rates, and intestinal occurred at a slower rate [7].

**Table 10.** Chemical composition of muscles, % (X±Sx)

Indicator	Age, months	Breeds	
		H	AA
Water	18	60.9±2.83	63.6±2.17
	24	57.3±1.81	59.4±1.77
	30	54.1±0.56	55.7±0.61
Protein	18	16.9±0.39	16.1±0.57
	24	16.2±1.61	15.9±1.72
	30	15.6±1.14	15.4±1.66
Fat	18	21.2±2.24	22.1±1.98
	24	24.5±2.57	25.7±2.19
	30	29.3±1.19	30.2±2.14
Fat:water ratio	18	34.8±1.71	34.7±1.98
	24	42.3±2.49	43.2±2.86
	30	54.2±3.92	54.2±4.17
Protein:fat ratio	18	0.8±0.04	0.7±0.05
	24	0.7±0.03	0.6±0.05
	30	0.5±0.05	0.5±0.06
Caloric content in 1 kg of muscles, MJ	18	11.15±0.969	12.1±0.886
	24	12.49±1.149	13.2±1.219
	30	14.08±2.041	15.1±2.140

There was no clear regularity of the yield of offal. But with the age of the animals there was a trend of an absolute increase in the weight of the most nutritionally valuable offal, while their relative and specific weight decreased (table 11).

The absolute weight of the stomach and its components consistently increased with the age of the animals (table 12). When studying the ratio of the weight of the stomach and its departments with the pre-slaughter live weight, the same pattern was revealed. In Hereford bulls, the development of the stomach was generally completed by 18 months, in Aberdeen Angus — by 20 months.

In accordance with the general biological laws of individual development of cattle, the relative weight of the stomach and rumen increased throughout the period of research, and the rumen, reticulum and abomasum — only up to 18 months of the animals' life. This also applies to the intestines.

Structural transformations of the rumen, reticulum and omasum occur after the 3<sup>rd</sup> month of age, which is associated with a change in the type of feeding, when the abomasum reduces its function in connection with the transition from the dairy period of nutrition to vegetable feed. It also contributed to the development of the intestines. We did not find a clear dependence of its length on the age of the bulls (table 13). But there was a tendency to decrease the length of the small intestine and increase the length of the large intestine.

Undoubtedly, the size and function of the small and large intestines was affected by the type of livestock feeding, namely, the total weight and specific weight of coarse-fiber feed was increased in the rations — straw of winter and spring crops, silage not only from corn of milk-wax maturity, but also of full grain maturity (so-called "yellow silage") and silage from dried alfalfa, meadow hay and sown cereal and leguminous grasses, mineral feed and feed additives, food

**Table 11.** Weight and yield of offal (X±Sx)

Offal	Age, months	Breeds			
		H		AA	
		weight, kg,	output, %	weight, kg,	output, %
I category, total	18	16.9±1.11	3.3	10.7±0.97	2.1
	24	20.9±3.42	3.6	11.4±1.14	2.5
	30	20.2±3.50	3.0	14.1±2.71	2.8
including: liver	18	6.0±0.4	1.2	5.3±0.81	1.5
	24	6.3±0.2	1.1	5.6±0.93	1.3
	30	7.7±1.1	1.2	6.9±0.90	1.4
kidneys	18	0.9±0.02	0.2	0.7±0.01	0.2
	24	1.0±0.03	0.2	0.8±0.01	0.2
	30	1.2±0.05	0.3	0.9±0.04	0.2
heart	18	1.5±0.10	0.3	0.7±0.10	0.5
	24	2.0±0.02	0.3	1.8±0.20	0.4
	30	2.3±0.10	0.3	1.9±0.20	0.4
tongue	18	1.2±0.09	0.2	0.7±0.8	0.2
	24	1.2±1.00	0.2	0.8±0.7	0.2
	30	1.4±1.10	0.2	1.0±0.9	0.2
brain	18	0.9±0.05	0.2	0.8±0.05	0.1
	24	1.0±0.08	0.2	0.9±0.07	0.2
	30	1.5±0.11	0.2	1.3±0.08	0.2
II category, total	18	35.0±2.71	6.8	31.7±2.14	9.3
	24	45.3±4.18	7.8	37.2±3.42	8.3
	30	49.7±5.21	7.0	38.9±4.17	7.7
including: trachea	18	3.4±1.00	0.7	2.9±0.5	0.9
	24	3.8±0.79	0.7	4.1±1.0	0.9
	30	4.1±0.3	0.6	4.4±1.1	0.9
lungs	18	3.8±0.51	0.8	4.1±0.4	0.9
	24	6.0±0.80	1.0	5.6±0.3	1.2
	30	6.8±0.10	0.7	6.1±0.2	1.2
spleen	18	0.9±0.10	0.2	0.6±0.1	0.2
	24	0.9±0.10	0.2	0.7±0.2	0.2
	30	0.9±0.10	0.1	0.8±0.1	0.2

**Table 12.** Development of the stomach of bulls, kg (X±Sx)

Indicator	Age, months	Breeds	
		H	AA
Stomach weight, total, kg	18	16.5±2.12	12.9±0.32
	24	17.7±2.43	15.0±0.44
	30	21.8±2.81	18.4±1.17
including: rumen	18	10.0±0.83	6.7±0.52
	24	10.1±0.86	6.9±0.98
	30	10.2±0.94	8.9±1.24
reticulum	18	1.0±0.33	0.7±0.12
	24	1.2±0.37	0.8±0.26
	30	1.7±0.39	0.9±0.19
abomasum	18	2.1±0.07	1.2±0.17
	24	1.6±0.19	1.6±0.21
	30	2.1±0.15	1.7±0.19
omasum	18	2.1±0.03	4.3±0.16
	24	6.0±0.20	5.7±0.19
	30	7.8±1.2	6.9±0.20

industry waste from food grain processing. A similar effect on the development of the gastrointestinal tract was provided by a change in the regime of livestock feeding, the sequence of feeding the ration of fodder, taking into account their nutritional and palatable qualities of forage.

**Table 13.** Weight and length of intestines of cattle (X±Sx)

Indicator	Age, months	Breeds	
		H	AA
Intestine weight, total, kg	18	6.5±0.42	6.0±0.24
	24	9.7±0.89	6.8±0.51
	30	10.2±0.21	7.2±0.19
including: small intestine, kg	18	2.3±0.10	2.4±0.11
	24	3.4±0.43	2.9±0.40
	30	3.6±0.72	3.1±0.53
colon, kg	18	3.3±0.19	2.6±0.22
	24	5.3±0.42	2.7±0.13
	30	5.4±0.71	2.8±0.51
cecum, kg	18	0.9±0.04	1.0±0.10
	24	1.0±0.01	1.2±0.11
	30	1.2±0.06	1.3±0.50
The intestine length, total, m	18	43.7±1.39	38.4±0.41
	24	45.6±1.61	41.2±0.29
	30	46.8±0.50	42.1±0.40
including: small intestine, m	18	35.4±1.32	33.0±0.80
	24	35.7±1.61	34.4±1.12
	30	36.7±1.55	35.0±1.42
colon, m	18	6.8±0.54	4.1±0.21
	24	8.3±0.63	5.5±0.33
	30	8.4±0.29	5.7±0.90
cecum, kg	18	1.5±0.09	1.0±0.14
	24	1.6±0.01	1.3±0.11
	30	1.7±0.06	1.4±0.12
Ratio of the whole intestine weight to the live weight, %	18	1.28	1.76
	24	1.67	1.62
	30	1.50	1.43

The condition of the bones, the specific weight of which decreased by 1.5 times over the course of the research with age, while the absolute weight and size increased by two times, their strength by three times, also testifies to the good adaptation of the experimental cattle to the ecological, climatic and fodder conditions of the steppe of Ukraine. This was influenced by the amount of calcium and phosphorus in them, the indicators of which are higher in Hereford than in Aberdeen Angus and the bone walls were thicker (table 14). The mineral state of the bones of both breeds is optimal for realization and high meat productivity.

The marketable properties of the skins of bulls of both breeds already at the age of one year met the requirements of the leather industry for raw materials: heavy (categorized as bull — more than 25 kg), high yield, long, wide, large area, Herefords are relatively thicker.

All these indicators naturally increase with age, as well as the habit of the animals — in the subsequent period of slaughter, they exceeded the weight of the skin of the animals in the previous one (table 15). A similar trend took place in relation to their length, width and area. The chemical composition remained practically stable during the entire period of research.

The quality of the meat of bulls in all studied age periods had high physical and technological properties and was suitable for culinary use and long-term storage (table 16). One of the criteria that determines the completion of growing young animals is the meat maturity indicator — the ratio between fat and moisture [4].

**Table 14.** Mineral composition of bulls' bones, % (X±Sx)

Indicator	Age, months	Breeds			
		H		AA	
		humerus	meta-carpal	humerus	meta-carpal
Calcium	18	23.8±0.51	32.4±0.32	22.9±0.51	30.8±0.29
	24	28.6±0.23	38.3±0.60	25.4±0.47	35.4±0.69
	30	28.3±0.60	39.7±0.84	26.7±0.63	37.1±0.78
Phosphorus	18	12.3±0.22	11.9±0.31	11.8±0.19	10.7±0.27
	24	12.4±0.30	12.0±0.24	11.9±0.34	11.5±0.30
	30	12.1±0.34	12.7±0.23	12.2±0.29	12.1±0.26
Potassium	18	0.04±0.011	0.04±0.011	0.04±0.012	0.03±0.007
	24	0.04±0.015	0.05±0.009	0.03±0.010	0.03±0.009
	30	0.03±0.011	0.05±0.021	0.03±0.014	0.04±0.010
Sodium	18	0.9±0.08	0.6±0.07	0.7±0.02	0.6±0.01
	24	0.8±0.08	0.8±0.02	0.7±0.02	0.9±0.01
	30	0.8±0.09	0.7±0.07	0.6±0.01	0.8±0.02
Magnesium	18	1.8±0.14	1.4±0.12	1.7±0.14	1.5±0.11
	24	1.7±0.10	1.6±0.17	1.7±0.16	1.7±0.16
	30	1.7±0.12	1.7±0.09	1.6±0.12	1.6±0.13
Crushing force, kg/cm <sup>2</sup>	18	2067±33	2500±109	1921±49	2341±98
	24	3001±52	5939±153	5217±74	5016±144
	30	5667±88	5067±233	4839±82	5421±169

More than 30 animals older than 18 months indicates a high fat content of beef and the expediency of their slaughter. But even at the age of 30 months, the quality of the meat remains high. Precociousness of animals also determines the ratio between dry matter and moisture. In our study, it was in the range of 0.56–0.60 in both breeds in the conditions of the steppe of Ukraine.

The beef quality is also determined by the ratio between protein and fat. 0.5–1:1 is considered normal. The growth of fat increased the calorie content of meat, which is age-dependent [5, 13].

Hereford and Aberdeen Angus breeds bulls are able to show high productivity in the ecological, climatic and fodder conditions of the steppe of Ukraine under pasture-free cultivation for up to 2.5 years and reach 688 and 531 kg of live weight, respectively, at the end of fattening, with a harmonious body and perfectly expressed m in clear forms. Therefore, they should occupy a worthy place in the structure of meat cattle breeding of the state and contribute to the increase in the production of high-quality marble beef.

**Table 15.** Quality of steamed skin (X±Sx)

Indicator	Age, months	Breeds	
		H	AA
Weight, kg	18	55.3±3.52	40.4±1.14
	24	60.7±1.27	43.0±5.72
	30	63.7±2.91	48.0±5.21
Output, %	18	10.2±0.54	11.9±0.4
	24	10.7±1.81	9.6±1.5
	30	10.9±2.79	9.5±2.4
Length, cm	18	198.3±9.17	197.3±0.18
	24	216.3±10.42	215.0±0.14
	30	226.7±10.61	219.0±0.23
Width, cm	18	185.7±2.76	186.5±0.12
	24	223.0±3.45	190.0±0.19
	30	226.4±5.14	196.0±0.31
Area, cm <sup>2</sup>	18	362.1±9.54	368.4±1.11
	24	482.3±11.73	409.0±2.63
	30	489.7±12.12	411.6±3.71
Thickness near the last rib, mm	18	5.6±0.20	4.3±0.8
	24	6.2±0.73	6.8±2.12
	30	8.4±1.37	6.5±2.71

**Table 16.** Meat quality (X±Sx)

Indicator	Age, months	Breeds	
		H	AA
Protein weight in the carcass, kg	18	40.4±1.23	39.1±1.4
	24	48.9±1.27	40.4±1.50
	30	54.3±2.32	50.9±2.12
Fat weight in the carcass, kg	18	50.7±2.17	61.7±4.13
	24	69.6±3.27	72.1±6.18
	30	96.4±6.11	114.4±8.12
Protein qualitative indicator	18	4.49±0.002	4.32±0.001
	24	4.32±0.002	4.24±0.02
	30	4.30±0.004	4.03±0.05
Protein:fat ratio, %	18	0.8±0.01	0.6±0.01
	24	0.7±0.03	0.5±0.01
	30	0.5±0.02	0.4±0.02
Meat marbling, %	18	21.2±1.41	22.7±1.38
	24	24.9±1.60	26.4±1.54
	30	29.2±2.02	31.2±2.07
Calorie content of 1 kg of meat, MJ	18	11.2±1.04	12.9±1.09
	24	12.5±1.15	14.7±1.29
	30	14.1±1.34	18.1±1.47
Tenderness of meat, g/cm/sec	18	0.544±0.0061	0.498±0.0052
	24	0.679±0.0074	0.689±0.0069
	30	0.718±0.0081	0.701±0.0074

Dynamic age-related changes in the live weight of animals caused changes in linear external measurements, indexes of a compact physique with a developed deep chest, a full rear part of the body, which are characteristic of cattle with a strong constitution and potentially high meat productivity. The relative growth rate of experimental bulls during the study was within 19–22% and did not exceed 1.2–1.3 times the live weight of the previous period.

In comparison, Herefords differ from Aberdeen Angus bulls in a somewhat larger habitat, massiveness, growth energy, feed conversion, slaughter performance, balanced morphological composition of carcasses, meatiness ratio, heavy fatless offal and skin with a thin layer of irrigation.

It is more expedient to hold animals of the researched breeds up to 18–24 months, but today, when their number is small, and reproduction requires a certain amount of time and money, we believe that it is possible to extend the period of growing the relevant livestock up to 30 months. At the same time, the quality of beef and broth practically does not change with age and it is 4.5 points.

**References**

1. Furmanets YS. Feeding of young cattle with compound fodder of own production: *Collect. Sci. Works Podilsk DATU*. 2013; 21: 276–278. (in Ukrainian)
2. Huuskonen A, Joki-Tokola E. Performance of growing dairy bulls offered diets based on silages made of whole-crop barley, whole-crop wheat, hairy vetch and grass. *Agricult. Food Sci.* 2010; 19 (2): 116–126. DOI: 10.2137/145960610791542325.
3. Ibatulin II, Zhukorskyi OM. *Handbook of complete feeding of agricultural animals*. Kyiv, 2016: 332 p. ISBN 978-966-540-402-6. (in Ukrainian)
4. Kolisnyk OI, Prudnikov VG, Kryvoruchko YI. Monitoring and evaluation of Aberdeen Angus beef cattle in Ukraine. *Bull. Poltava State Agr. Acad.* 2018; 3: 127–131. DOI: 10.31210/visnyk2018.03.19. (in Ukrainian)
5. Kolisnyk OI, Prudnikov VG, Kryvoruchko YI, Nagorny SA. Characteristics of organizational and technological conditions for the storage of meat cow of the Aberdeen Angus breed in stall period without the use of accommodation. *Bull. Poltava State Agr. Acad.* 2018; 1: 97–100. DOI: 10.31210/visnyk2018.01.17.
6. Kozyr VS, Shevchenko TV. Fodder conversion in the growth of goblets mature and long meat breeds. *Grain crops.* 2019; 3 (2): 345–349. DOI: 10.31867/2523-4544/0095.
7. Kukhtyn M, Salata V, Berhilevych O, Malimon Z, Tsvihun A, Gutyj B, Horiuk Y. Evaluation of storage methods of beef by microbiological and chemical indicators. *Potravinarstvo Slovak J. Food Sci.* 2020; 14: 602–611. DOI: 10.5219/1381.
8. Kukhtyn M, Salata V, Pelenyo R, Selskyi V, Horiuk Y, Boltyk N, Ulko L, Dobrovolsky V. Investigation of zeranol in beef of Ukrainian production and its reduction with various technological processing. *Potravinarstvo Slovak J. Food Sci.* 2020; 14: 95–100. DOI: 10.5219/1224.
9. Salata V, Kuhtyn M, Semanjuk V, Perkij Y. Dynamics of microflora of chilled and frosted beef during storage. *Sci. Mess. LNUVMBT.* 2017; 19 (73): 178–182. DOI: 10.15421/nvlvet7337. (in Ukrainian)
10. Savchuk IM, Kovalova SP, Tymoshenko ZA, Yashchuk IV. Productivity of bulls and the quality of muscle tissue and liver due to the use of high-protein feed in diets. *Bull. Agr. Sci.* 2022; 7 (832): 36–43. DOI: 10.31073/agrovisnyk202207-06. (in Ukrainian)
11. Savchuk I, Skydan O, Stepanenko V, Kryvyi M, Kovalova S. Safety of livestock products of bulls on various diets during fattening in the conditions of radioactive contamination. *Reg. Mech. Biosys.* 2021; 12 (1): 86–91. DOI: 10.15421/022113.
12. Serraino A, Bardasi L, Riu R, Pizzamiglio V, Liuzzo G, Galletti G, Giacometti F, Meriardi G. Visual evaluation of cattle cleanliness and correlation to carcass microbial contamination during slaughtering. *Meat Sci.* 2012; 90 (2): 502–506. DOI: 10.1016/j.meatsci.2011.08.001.
13. Sharan PI. *Economics of genetic and breeding resources of cattle of specialized meat breeds of Ukraine*. Boryspil, 2019.
14. Timchenko LO. Intensification of specialized meat cattle breeding in Ukraine. *Bull. Agr. Sci.* 2015; 93 (4): 40–45. Available at: [https://agrovisnyk.com/pdf/en\\_2015\\_04\\_08.pdf](https://agrovisnyk.com/pdf/en_2015_04_08.pdf)
15. Ugnivenko AM. *Scientific basis of the development of meat cattle breeding in Ukraine*. Kyiv, Comprint, 2016: 330 p.
16. Vdovichenko YV. *Meat cattle breeding in the steppe zone of Ukraine*. Nova Kakhovka, PUEL, 2012.

## Комплексна оцінка бугаїв скоростиглих м'ясних порід англійської селекції в умовах України

В. С. Козир

izkzo3337@gmail.com

Інститут зернових культур НААН, вул. Володимира Вернадського, 14, м. Дніпро, 49009, Україна

Проведено інтегровану оцінку продуктивності бугайців скоростиглих м'ясних герефордської і абердин-ангуської порід англійської селекції в умовах степової зони України. Встановлено, що худоба з місцевості приморського клімату пристосувалась до сухого жаркого середовища степової зони, про що свідчать клінічні показники організму тварин. Худоба гармонійно розвивалась, екстер'єрні проміри та індекси тілобудови були в межах породних норм. Бугайці герефордської і абердин-ангуської порід за умов безпасовищного вирощування до 2,5 року при завершенні відгодівлі мали високу продуктивність — 688 і 531 кг маси тіла відповідно, з гармонійно розвинутим тулубом та ідеально вираженими м'ясними формами. Бугайці були компактною тілобудови з розвинутими глибокими грудьми, виповненою задньою частиною тіла, що характерно для худоби з міцною конституцією і потенційно високою м'ясною продуктивністю. Відносна швидкість росту бугайців впродовж дослідження була в межах 19–22%. Тому вони є перспективною м'ясною скотарства України для збільшення виробництва високоякісної «мармурової» яловичини. Герефорди, порівняно з абердин-ангусами, вирізняються дещо більшим габітусом, масивністю, енергією росту, конверсією корму, забійними показниками, збалансованим морфологічним складом туш, коефіцієнтом м'ясності. Абсолютні і відносні прирости маси тіла підтверджують високий генетичний потенціал м'ясної продуктивності: 18–24-місячні бугайці досягли реалізаційних кондицій. На сьогодні їх кількість невелика, а відтворення вимагає певного часу і коштів, тому вважаємо, що термін вирощування поголів'я можна подовжити до 30 місяців. У період становлення галузі м'ясного скотарства можливо вирощувати молодняк до 30-місячного віку без погіршення забійних показників та кулінарних і смакових якостей яловичини відповідно до вимог споживача.

**Ключові слова:** велика рогата худоба, порода, бугаї, екстер'єр, м'ясна продуктивність, забійні показники, якість яловичини



## Чутливість до антибактеріальних препаратів штамів *Bacillus spp.* з високим рівнем антагоністичної активності для виготовлення пробіотиків

О. М. Чечет, В. Л. Коваленко, О. І. Горбатюк, Н. В. Курята,  
Г. А. Бучковська, І. В. Мусієць, Л. В. Шалімова, Д. О. Ординська,  
Л. В. Баланчук, Н. В. Щур, Л. В. Тогачинська  
goroliva@ukr.net



Державний науково-дослідний інститут з лабораторної діагностики і ветеринарно-санітарної експертизи,  
вул. Донецька, 30, м. Київ, 03151, Україна

### ORCID:

O. M. Chechet <https://orcid.org/0000-0001-5099-5577>  
V. L. Kovalenko <https://orcid.org/0000-0002-2416-5219>  
O. I. Horbatiuk <https://orcid.org/0000-0002-0573-2089>  
N. V. Kuryata <https://orcid.org/0000-0002-6958-1064>  
G. A. Buchkovska <https://orcid.org/0009-0007-4449-614X>  
I. V. Musiets <https://orcid.org/0000-0002-2456-560X>  
L. V. Shalimova <https://orcid.org/0000-0003-1159-7159>  
D. O. Ordynska <https://orcid.org/0000-0003-3481-3248>  
L. V. Balanchuk <https://orcid.org/0000-0003-0989-5886>  
N. V. Shchur <https://orcid.org/0000-0002-3033-8139>  
L. V. Togachynska <https://orcid.org/0009-0005-5032-5940>

### Authors' Contributions:

**COM:** Project administration; Conceptualization; Methodology; Supervision; Formal analysis; Writing — review & editing.

**KVL:** Methodology; Writing — original draft.

**HOI:** Investigation; Data curation; Formal analysis.

**KNV:** Methodology; Data curation; Writing — original draft.

**BGA:** Conceptualization; Methodology; Data curation; Investigation.

**MIV:** Methodology; Investigation; Data curation; Writing — original draft.

**SLV:** Investigation; Writing — original draft.

**ODO:** Investigation; Data curation; Visualization.

**BLV:** Investigation; Data curation.

**SNV:** Methodology; Investigation; Data curation.

**TLV:** Methodology; Investigation; Data curation.

### Declaration of Conflict of Interests:

None to declare.

### Ethical approval:

Not applicable.

### Acknowledgements:

The research was carried out on a scientific research topic "Development of new and improvement of existing approaches, methods and means of monitoring and laboratory research (testing) of safety indicators and individual quality indicators of objects of sanitary measures, by-products of animal origin, feed additives, premixes, feed, soil and water" (state registration no. 0118U100597).



Attribution 4.0 International  
(CC BY 4.0)

Розвиток органічного тваринництва, зокрема птахівництва, на який націлена Україна, потребує кардинальної зміни підходів щодо профілактики та лікування інфекційних захворювань. Макроорганізм і мікробіота шлунково-кишкового тракту становлять єдину екологічну систему з гомеостатичною рівновагою. Проте її порушення загрожує виникненням у птиці дисбалансу нормофлори кишечника і розвитку захворювань бактеріальної етіології. З огляду на це зростає потреба у розробці та застосуванні пробіотичних препаратів. Високий антагоністичний потенціал бактерій роду *Bacillus* щодо інших патогенів викликає науковий і виробничий інтереси щодо розробки пробіотиків з залученням їх до складу означених бактерій як альтернативи антибіотикам. Але через наявність ризиків прямої передачі R-плазмід антибіотикорезистентності біотичній мікрофлорі шлунково-кишкового тракту разом з пробіотичними штамами за набуття нею резистентності, перспективні штами бактерій роду *Bacillus* повинні бути перевірені на чутливість до антибіотичних препаратів. Відібрані нами перспективні пробіотичні з високим рівнем антагонізму штами *Bacillus subtilis* Bs-5 і Bs-9, *Bacillus licheniformis* Bfl-1 і Bfl-4, *Bacillus coagulans* Bcg-5, *Bacillus amyloliquefaciens* Baf-1 і Baf-3 проявляли повну чутливість до застосованих антибіотиків — представників груп карбапенемів, фторхінолонів, глікопептидів, лінкозамідів, макролітів та оксазолонів. Ці штами були рекомендовані як пробіотичні, антибіотикочутливі, безпечні, перспективні для використання у конструюванні пробіотичних препаратів. Одержані результати лабораторних досліджень інших штамів *B. subtilis*, *B. licheniformis*, *B. coagulans*, *B. amyloliquefaciens* засвідчили присутність серед них бактерій, полірезистентних до антибіотиків груп фторхінолонів, карбапенемів, макролідів і глікопептидів.

**Ключові слова:** антибіотикорезистентність, антагоністична активність, пробіотичні штами, *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus coagulans*, *Bacillus amyloliquefaciens*



## Вступ

В сучасному світі здоровий спосіб життя декларується у країнах ЄС, США, інших розвинених країнах світу, зокрема і в Україні. Означений напрямок зведений до державної політики із головними завданнями — збереженням суспільного здоров'я та віковим продовженням життя населення країн через функціональне харчування якісною сільськогосподарською продукцією, зокрема продуктами птахівничої галузі завдяки одержанню чистої, екологічно безпечної продукції птахівництва [11–13, 18, 22].

Нині у птахівничій галузі України пріоритетним є розвиток органічного птахівництва. Тому у лікуванні і профілактиці інфекційних захворювань птиці спостерігають тенденцію до зростання потреб у застосуванні засобів біологічної терапії, зокрема пробіотиків [2, 7, 19].

На ринку біологічно активних препаратів в Україні переважають пробіотики, виготовлені на основі лакто- і біфідобактерій [1, 30]. Проте на сучасному етапі розвитку антибактеріальної терапії приділяють надважливу увагу вивченню методів знешкодження бактеріальних інфекцій за допомогою використання непатогенних пробіотичних спороутворювальних мікроорганізмів. Особливий інтерес привертають бактерії роду *Bacillus*. З'ясовано, що ці бактерії є найстійкішими до несприятливих умов зовнішнього середовища, здатні проявляти високий рівень антагонізму і виживати навіть у надто несприятливих умовах довкілля. Встановлено, що бактерії роду *Bacillus* є продуцентами широкого спектру біологічно активних сполук — антибіотичних, сполук з бактеріостатичним ефектом, тих, які посилюють неспецифічні фактори імунітету за допомогою активації макрофагів, сприяють прояву комплексної запальної дії і забезпечують знешкодження своїх конкурентів — патогенних мікроорганізмів [37]. Бактерії роду *Bacillus* продукують сполуки з позитивним впливом на фактори специфічного імунітету через підвищення рівня IgA і IgG. В шлунково-кишкового тракту означені бактерії завдяки продукції власних різних ферментів поліпшують кількісне зростання нормофлори [6, 15, 26].

Відомо, що *Bacillus subtilis* є продуцентом поверхнево-активних речовин (ПАР) — ліпопептиду сурфактину, який доповнює та посилює антибактеріальну дію, забезпечує гемолізис, утворює іонні канали у ліпідних мембранах. З'явилися повідомлення про продукцію *B. subtilis* поліпептидів: ліпопептиду №1, який здійснює активний антибактеріальний вплив на спорові мікроорганізми та ліпопептиду ітуруну, який проявляє антибактеріальну дію і підвищує електропровідність ліпідів у клітинних мембранах. Продукція таких речовин забезпечує бактеріям *B. subtilis* здатність проявляти високий активний антагонізм [5]. До того ж вони мають перевагу в колонізації нових середовищ та конкуренції за субстрати з іншими патогенними мікроорганізмами, зокрема і в заселенні шлунково-кишкового тракту птиці [16, 22].

Проте на фоні прояву власних високих антагоністичних властивостей бактерій роду *Bacillus* з'являється інша проблема, яка полягає у здатності цих бактерій до швидкої передачі інформації щодо їх антибіотикостійкості через горизонтальну передачу генів. Гени стійкості передаються горизонтально дочірнім клітинам бактерій *Bacillus*, які надалі створюють стійку антибіотикорезистентну популяцію. Стійкість до конкретного антибіотика визначають R-плазміді; серед них є кон'югативні, трансмісивні, здатні передавати резистентність від одного бактерійного штаму до іншого в межах виду, різних видів і родів мікробів [3, 9, 14].

Актуальним питанням у розробці пробіотичних препаратів є вивчення антибіотикорезистентності складових пробіотичних штамів бактерій для запобігання передачі резистентності мікробіоті шлунково-кишкового тракту людини, тварин, птиці після застосування пробіотика [28, 34, 38].

Метою роботи було провести скринінг щодо антибіотикорезистентності високоантагоністичних штамів бактерій роду *Bacillus*, виділених від птиці із різних регіонів України, з перспективою їх застосування для конструювання пробіотичних препаратів.

## Матеріали і методи

Експериментальні дослідження проведено на базі лабораторії діагностики захворювань бактеріальної етіології (ЛДЗБЕ) Державного науково-дослідного інституту лабораторної діагностики та ветеринарно-санітарної експертизи (ДНДІЛДВСЕ), м. Київ.

Для контролю якості живильних середовищ, їх стерильності та якості дисків з антибіотиками використовували тестові культури *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Bacillus cereus* ATCC 11778, одержані із Музею тестових культур мікроорганізмів ЛДЗБЕ ДНДІЛДВСЕ. Тестові культури *S. aureus* і *B. cereus* зберігали у криогенізованому стані в морозильній камері за температури  $-70,0 \pm 10,0^\circ\text{C}$ , в криогенних пробірках з криогранулами (*CRYO-Billes*). Для відновлення метаболічних процесів *S. aureus* і *B. cereus* із криогенного стану відповідні криогранули переносили в пробірки з триптон-соевим бульйоном (ТСБ) і культивували за температури  $37,0 \pm 1,0^\circ\text{C}$  впродовж 24 год. Після закінчення терміну інкубації тестові культури пересівали на триптон-соевий агар (ТСА), культивували в термостаті за температури  $37,0 \pm 1,0^\circ\text{C}$  впродовж 24 год. Відновлені тестові культури мікроорганізмів *S. aureus* і *B. cereus* після перевірки на відповідність основним типовим властивостям були допущені до проведення відповідних контролів (*Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*, версія 12.0, 2022).

Для відновлення метаболічних процесів у криогенізованих тестових культур з метою їх подальшого використання у дослідах виготовляли ТСБ (*HiMedia M002 Nutrient Broth*); ТСА (*HiMedia M109-100G Tryptone*).

Soya Agar w/Yeast Extract and Hemin). Для повсякденного контролю якості дисків антибіотиків та постановки основного дослідження з визначення чутливості до антибіотиків для правильної інтерпретації результатів використовували агар Мюллера-Хінтона (МХА) (*HiMedia M1825R M173/M1084*).

В дослідженнях з визначення стійкості дослідних ізолятів бактерій роду *Bacillus* до антибіотичних препаратів застосовували антибіотики: іміпенем (10 мкг), меропенем (10 мкг) — група карбапенемів; ципрофлоксацин (6 мкг), левофлоксацин (6 мкг), норфлоксацин (10 мкг) — група фторхінолонів; ванкомицин (6 мкг) — група глікопептидів; еритроміцин (16 мкг) — група лінкозамідів; кліндаміцин (2 мкг) — група макролідів; лінезолід (10 мкг) — група оксазолідонів. Всі диски з антибіотиками виробництва *Himedia Laboratories Pvt. Limited* (Індія) з відповідними термінами придатності. Диски зареєстровані в Україні та відповідають міжнародним стандартам якості ISO, CE, WHO GMP (*Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*, версія 12.0, 2022) [36].

Для одержання вірогідних результатів за досліджень на стійкість до антибіотиків бактерій роду *Bacillus* проводили повсякденний контроль якості дисків з антибіотиками із використанням тестової культури *S. aureus* як індикатора. За перевірки на антибіотикочутливість бактерій роду *Bacillus* встановлено, що величини зон інгібування росту за використання як індикатора тестової культури *S. aureus* (EUCAST Version 12.0, 2022) були в межах діапазону допустимих значень, тому надалі диски з антибіотиками допускали до постановки основного дослідження.

Дослідження на чутливість до антибіотичних препаратів провели з 31 штамом роду *Bacillus*, виділеним із патологічного матеріалу від птиці із господарств різних регіонів України, зокрема із 13 штамми *B. subtilis* (Bs-1, Bs-2, Bs-3, Bs-4, Bs-5, Bs-6, Bs-7, Bs-8, Bs-9, Bs-10, Bs-11, Bs-12, Bs-13); 6 штамми *B. licheniformis* (Bfl-1, Bfl-2, Bfl-3, Bfl-4, Bfl-5, Bfl-6); 8 штамми *B. coagulans* (Bcg-1, Bcg-2, Bcg-3, Bcg-4, Bcg-5, Bcg-6, Bcg-7, Bcg-8); 4 штамми *B. amyloliquefaciens* (Baf-1, Baf-2, Baf-3, Baf-4).

Застосовано прямий метод виготовлення бактеріальних суспензій пробіотичних штамів мікроорганізмів. Для цього стерильною бактеріологічною петлею відбирали кілька типових (морфологічно схожих) колоній добових (24 год. культивування) культур відповідних штамів, вносили до стерильного фізіологічного розчину, ретельно перемішуючи. Щільність досліджуваних бактеріальних суспензій вимірювали, порівнюючи візуально зі стандартом каламутності 0,5 standard Мак-Фарланда з використанням шаблону.

Мікроскопічним методом одночасно контролювали чистоту росту всіх досліджуваних пробіотичних штамів баціл.

Диско-дифузійним методом проводили постановку основного дослідження на виявлення стійких до антибіотиків пробіотичних штамів досліджуваних бактерій роду

*Bacillus*. Виготовлені бактеріальні суспензії пробіотичних штамів мікроорганізмів інокулювали на чашки з МХА. Через 15 хв. після інокуляції чашок на поверхню агару наносили диски з антибіотиками, маркували, термостатували відразу, оскільки тримання засіяних чашок з дисками за кімнатної температури впливає на одержання вірогідних результатів. Для рівномірного прогрівання чашок з посівами і точності обліку результатів формували стоси чашок по 5 штук у кожному. Режим інкубації проходив за температури  $35 \pm 1^\circ\text{C}$  за звичайної атмосфери з терміном культивування 20 год. Поряд ставили контроль росту дослідних пробіотичних мікроорганізмів без накладання дисків з антибіотиками.

Перед початком обліку результатів дослідження перевіряли сформованість газону за візуально рівномірного суцільного росту бактерій роду *Bacillus* у чашках з контролями росту. Зона інгібування росту дослідних штамів роду *Bacillus* була чіткою, візуально видимою, без наявності будь-якого росту колоній в її межах. Облік результатів проводили, вимірюючи діаметри зон затримки росту навколо диска з відповідним антибіотиком, які визначали візуально за розміщення чашки на відстані близько 30 см від очей. Для вимірювання зон затримки росту чашку Петрі з закритою кришкою розміщували дном доверху над темною матовою поверхнею так, щоб світло падало під кутом  $45^\circ$  — ефект відбитого світла. Вимірювання зон пригнічення росту проводили з точністю до найближчого міліметра за допомогою штангенциркуля. Інтерпретацію результатів проводили згідно з чинною версією EUCAST (*Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*, версія 12.0, 2022), порівнюючи одержані значення діаметрів зон інгібування росту дослідних культур із допустимими межами чутливості, представленими у нормативах EUCAST [36].

Усі дані аналізували за допомогою програми *Statistica 8.0* (*StatSoft Inc.*, США). Результати в таблицях демонструються як  $\bar{x} \pm SE$  (середнє значення  $\pm$  стандартна похибка). Відмінності між значеннями вважали вірогідними за  $P < 0,05$  (*AStA Advances in Statistical Analysis*, версія 8) [37].

## Результати й обговорення

Ми випробували досліджувані штами *B. subtilis* на стійкість до антибіотиків. Аналіз результатів випробувань у цьому напрямку показав, що, попри дуже високі антагоністичні властивості, більшості досліджуваним штамом *B. subtilis* була притаманна антибіотикорезистентність. Із 13 дослідних ізолятів *B. subtilis* як антибіотикочутливі вдалося відібрати лише 2 штами — Bs-5 і Bs-9. В означених штамів з високими антагоністичними властивостями щодо грамнегативних та грампозитивних тестових культур за визначення антибіотикочутливості, всі показники діаметрів зон інгібування росту були в діапазоні значень, які засвідчували чутливість до застосованих

груп препаратів [5]. Тому штами *B. subtilis* Bs-5 і Bs-9 були визначені як чутливі до антибіотиків та відібрані для подальшої роботи як перспективні і безпечні пробіотичні бактерії для конструювання біологічних препаратів.

Відібрані антагоністично активні штами Bs-6 і Bs-11 виявилися досить чутливими до впливу антибіотичних препаратів, проте у них виявлено моноантибіотикорезистентність до еритроміцину та цiproфлосацину відповідно.

У досліджуваних високоантагоністично активних штамів Bs-1, Bs-2 антибіотикорезистентність була виявлена до двох антибіотиків без жодної закономірності, оскільки штам *B. subtilis* Bs-1 був резистентним до представників карбапенемів, Bs-2 — до еритроміцину і ванкоміцину.

Про резистентність до ванкоміцину штаму *B. subtilis* Bs-2 свідчив показник діаметру зони інгібування росту на рівні  $8,7 \pm 0,7$  мм. Оскільки ванкоміцин є антибіотиком четвертого покоління з високим антибактеріальним ефектом, поява стійких до його дії бактерій *B. subtilis* спричиняє занепокоєння щодо передачі резистентності іншим мікроорганізмам популяції або іншим видам бактерій. Тим паче, штам *B. subtilis* Bs-2 був виділений із патматеріалу від птиці, що вказує на ймовірну циркуляцію таких бактерій у самому господарстві.

Всі інші штами *B. subtilis* з високим рівнем антагонізму за одержаними результатами досліджень виявилися поліантибіотикорезистентними і проявляли резистентність від 3 до 6 різновидів антибіотиків груп карбапенемів, фторхінолонів, лінкозамідів, макролідів, оксазолідонів (табл. 1).

За аналізом результатів досліджень було з'ясовано, що серед 6 штамів *B. licheniformis* з високими антагоністичними властивостями два із них — штами Bfl-1 і Bfl-4 — проявляли чутливість до основних груп анти-

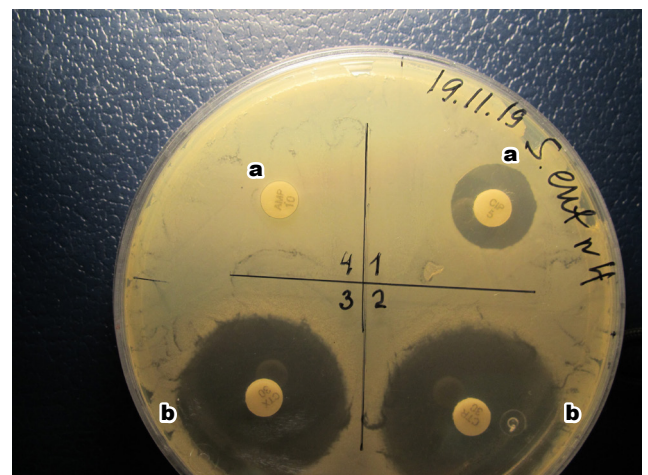
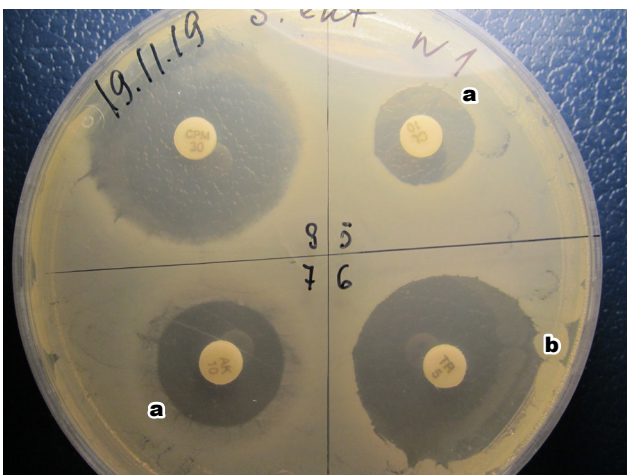
біотичних препаратів, що підтверджували величини діаметрів зон інгібування росту, які були в діапазоні значень чутливості щодо застосованих груп антибіотиків. *B. licheniformis* штам Bfl-3 проявляв резистентність до іміпенему. Всі інші штами *B. licheniformis* за результатами випробувань виявилися поліантибіотикорезистентними, оскільки показники діаметрів зон інгібування росту були нижчими за граничну межу чутливості (табл. 2).

Візуалізацію досліджень високоантагоністичних штамів *B. coagulans* на стійкість до антибіотиків представлено на рис.

За показниками діаметрів зон інгібування росту після бактерицидної дії антибіотиків усім штамам *B. coagulans*, окрім Bcg-5, була притаманна поліантибіотикорезистентність до представників груп карбапенемів, фторхінолонів, лінкозамідів. Найчастіше виявляли стійкість до антибіотиків меропенему, цiproфлосацину, левофлосацину, еритроміцину у *B. coagulans* штами Bcg-1, Bcg-3, Bcg-4, Bcg-6, Bcg-7, Bcg-8. До того ж у штамів *B. coagulans* Bcg-1, Bcg-3, Bcg-7 та Bcg-8 виявлено стійкість до ванкоміцину.

Щодо високоантагоністичного *B. coagulans* штаму Bcg-5, то показники діаметрів зон інгібування росту були в діапазоні значень, які підтверджували чутливість до антибактеріальних препаратів. Тому означений штам був відібраний як пробіотичний, антибіотикочутливий, безпечний та перспективний для конструювання пробіотичних препаратів (табл. 3).

За аналізом одержаних результатів досліджень з вивчення стійкості до антибіотиків 4 високоантагоністичних штами *B. amyloliquefaciens*, серед яких пробіотичні штами Vaf-2 і Vaf-4, проявляли поліантибіотикорезистентність до представників груп карбапенемів, фторхінолонів, лінкозамідів. Це підтверджували величини діаметрів зон інгібування росту досліджуваних культур за дії антибіотиків.



**Рис.** Візуалізація результатів досліджень з визначення чутливості до антибіотиків різних класів пробіотичного штаму *Bacillus coagulans* Bcg-4. а — штами, резистентні до антибіотиків; б — штами, чутливі до антибіотиків

**Fig.** Visualization of the results of studies on the determination of sensitivity to antibiotics of different classes probiotic strain *Bacillus coagulans* Bcg-4. a — strains resistant to antibiotics; b — strains sensitive to antibiotics

**Таблиця 1.** Стійкість штамів *Bacillus subtilis* до основних груп антибіотиків  
**Table 1.** Resistance of *Bacillus subtilis* strains to the main groups of antibiotics

Антибіотик Antibiotic	Згідно з EUCAST According to EUCAST		Зони інгібування росту, мм: of growth inhibition zones, mm:												
	діаметри зон інгібування росту, мм zone diameters growth inhibition, mm		досліджувані штами <i>Bacillus subtilis</i> : research strains of <i>Bacillus subtilis</i> :												
	Ч≥ S≥	Р< R<	Bs-1	Bs-2	Bs-3	Bs-4	Bs-5	Bs-6	Bs-7	Bs-8	Bs-9	Bs-10	Bs-11	Bs-12	Bs-13
Іміпенем Imipenem	30,0	30,0	28,0±0,3	30,3±0,3	30,3±0,3	30,3±0,3	30,7±0,7	30,3±0,3	31,7±0,7	27,0±0	32,3±0,3	30,0±0,7	30,0±0	30,7±0,7	30,3±0,3
Меропенем Meropenem	25,0	25,0	24,0±0,7	25,7±0,3	24,3±0,3	24,7±0,7	26,3±0,3	25,3±0,3	25,0±0	25,7±0,7	26,3±0,3	23,0±0,7	26,0±0,7	25,3±0,3	26,0±0,7
Ципрофлоксацин Ciprofloxacin	50,0	23,0	23,0±0,7	23,7±0,3	22,3±0,3	22,3±0,3	25,0±0,7	23,3±0,3	21,0±0,7	23,3±0,3	23,3±0,3	22,7±0,7	21,0±0,7	20,3±0,7	21,0±0,7
Левофлоксацин Levofloxacin	50,0	23,0	23,0±0,3	23,7±0,3	20,0±0,7	20,3±0,3	24,3±0,3	23,3±0,3	20,0±0	23,7±0,7	24,0±0,7	23,7±0,3	23,0±0,7	21,0±0,7	20,3±0,3
Норфлоксацин Norfloxacin	21,0	21,0	21,0±0,7	21,3±0,7	21,3±0,3	20,0±0	24,3±1,0	21,0±0,7	19,0±0,7	20,3±0,3	24,3±0,3	20,0±0,7	22,0±0,7	18,7±0,3	18,0±0,7
Ванкоміцин Vancomycin	10,0	10,0	10,0±0,3	8,7±0,7	10,0±0,7	10,3±0,3	11,7±1,0	10,3±0,3	10,3±0,3	10,0±0	13,3±1,0	10,0±0,7	10,3±0,3	10,3±0,3	10,0±0,7
Еритроміцин Erythromycin	24,0	24,0	24,3±0,3	21,7±0,3	21,7±1,0	21,7±0,3	25,0±0	23,0±0,7	26,0±0,7	23,7±1,0	25,0±0,7	23,7±0,3	24,0±0,7	22,0±0,7	28,7±1,0
Кліндаміцин Clindamycin	17,0	17,0	17,3±0,3	17,3±0,3	17,0±0,3	17,3±0,3	19,3±0,3	17,0±0,3	17,3±0,3	18,3±1,0	18,0±0,7	17,0±0,7	18,0±0,7	15,3±0,3	17,0±0,7
Лінезолід Linezolid	22,0	22,0	22,3±0,3	22,0±0	21,7±1,0	21,0±0,7	24,7±0,3	22,0±0,7	22,0±0,7	23,3±0,3	24,3±0,3	—	—	—	—

**Таблиця 2.** Стійкість штамів *Bacillus licheniformis* до основних груп антибіотиків  
**Table 2.** Resistance of *Bacillus licheniformis* strains to the main groups of antibiotics

Антибіотик Antibiotic	Згідно з EUCAST According to EUCAST		Діаметри зон інгібування росту, мм: Diameters of growth inhibition zones, mm:					
	діаметри зон інгібування росту, мм zone diameters growth inhibition, mm		досліджувані штами <i>Bacillus licheniformis</i> : research strains of <i>Bacillus licheniformis</i> :					
	Ч≥ S≥	Р< R<	Vfl-1	Vfl-2	Vfl-3	Vfl-4	Vfl-5	Vfl-6
Іміпенем / Imipenem	30,0	30,0	37,7±0,3	30,0±0,7	29,0±0,7	32,3±0,3	28,3±1,3	31,3±1,0
Меропенем / Meropenem	25,0	25,0	26,3±0,3	24,3±0,7	25,0±0,7	26,3±0,3	24,3±0,3	26,2±0,2
Ципрофлоксацин / Ciprofloxacin	50,0	23,0	23,7±0,7	20,5±0,3	24,7±0,3	26,3±1,0	25,0±1,0	22,7±0,3
Левовфлоксацин / Levofloxacin	50,0	23,0	23,2±0,2	21,2±0,3	26,7±1,0	25,7±0,3	24,7±0,3	20,3±1,0
Норфлоксацин / Norfloxacin	21,0	21,0	22,3±0,7	21,3±0,3	25,2±0,2	29,0±0	19,3±0,7	21,8±0,5
Ванкоміцин / Vancomycin	10,0	10,0	12,7±0,3	9,3±1,0	10,0±0,7	13,3±0,3	12,0±0,7	10,5±0,3
Еритроміцин / Erythromycin	24,0	24,0	26,7±0,7	24,0±0	26,3±1,0	26,3±1,0	26,7±1,0	23,3±0,7
Кліндаміцин / Clindamycin	17,0	17,0	18,3±0,7	15,6±1,0	17,3±1,0	19,2±0,2	16,3±0,3	15,7±0,3
Лінезолід / Linezolid	22,0	22,0	24,7±0,3	22,0±0,7	26,3±1,0	23,3±1,0	23,0±0,7	19,3±0,3

**Таблиця 3.** Стійкість штамів *Bacillus coagulans* до основних груп антибіотиків  
**Table 3.** Resistance of *Bacillus coagulans* strains to the main groups of antibiotics

Антибіотик Antibiotic	Згідно з EUCAST According to EUCAST		Діаметри зон інгібування росту, мм: Diameters of growth inhibition zones, mm:							
	діаметри зон інгібування росту, мм zone diameters growth inhibition, mm		досліджувані штами <i>Bacillus coagulans</i> : research strains of <i>Bacillus coagulans</i> :							
	Ч≥ S≥	Р< R<	Vcg-1	Vcg-2	Vcg-3	Vcg-4	Vcg-5	Vcg-6	Vcg-7	Vcg-8
Іміпенем / Imipenem	30,0	30,0	31,2±0,5	30,3±1,0	28,3±0,3	30,0±0,7	39,0±0,7	33,5±0,3	28,7±0,3	27,5±0,3
Меропенем / Meropenem	25,0	25,0	22,3±0,7	24,2±0,2	22,7±0,3	23,3±0,3	26,0±0,7	28,0±0	25,5±0,3	23,0±0,2
Ципрофлоксацин / Ciprofloxacin	50,0	23,0	22,0±1,3	27,2±0,5	22,3±1,0	25,6±0,3	24,0±1,0	21,2±0,5	23,3±0,3	21,0±0,7
Левовфлоксацин / Levofloxacin	50,0	23,0	20,8±0,2	22,0±0,7	19,7±0,2	26,0±0,7	26,0±0,2	20,5±0,3	21,5±0,3	24,5±0,7
Норфлоксацин / Norfloxacin	21,0	21,0	20,0±0,7	23,2±0,2	26,0±0,7	24,6±0,3	29,0±0,7	20,3±0,3	19,5±0,3	26,0±0,7
Ванкоміцин / Vancomycin	10,0	10,0	8,8±0,2	11,3±0,3	8,8±0,5	10,3±0,3	19,8±0,5	10,7±0,2	9,0±0,7	7,5±0,3
Еритроміцин / Erythromycin	24,0	24,0	22,0±0	22,3±0,3	25,5±0,3	22,0±0,7	26,5±0,3	22,7±0,3	22,3±0,3	24,0±0,2
Кліндаміцин / Clindamycin	17,0	17,0	18,0±0,7	17,5±0,3	17,3±0,3	15,7±0,3	25,8±0,2	15,7±0,3	17,5±0,3	17,0±0,2
Лінезолід / Linezolid	22,0	22,0	26,0±0,7	22,0±0,7	22,2±0,2	19,0±0,2	23,0±0,2	22,7±0,3	23,5±0,3	23,5±0,3

У *B. amyloliquefaciens* штамів Vaf-1 і Vaf-3 виявили чутливість до всіх застосованих груп антибактеріальних препаратів. Одержані величини діаметрів зон інгібування росту у згаданих досліджуваних штамів були в межах показників негативного тесту на антибіотикорезистентність. Тому штами *B. amyloliquefaciens* Vaf-1 і Vaf-3 визначені як пробіотичні, антибіотикочутливі, безпечні та перспективні для конструювання пробіотиків (табл. 4).

Таким чином, пробіотичні, з високим антагоністичним потенціалом два штами *B. subtilis* (Bs-5, Bs-9), два штами *B. licheniformis* (Vfl-1, Vfl-4), один штам *B. coagulans* (Vcg-5), два штами *B. amyloliquefaciens* (Vaf-1, Vaf-3) проявляли чутливість до представників різних класів антибіотиків. Вони були рекомендовані для конструювання пробіотичних препаратів як перспективні, пробіотичні, з високим рівнем антагонізму, антибіотикочутливі та безпечні.

**Таблиця 4.** Стійкість штамів *Bacillus amyloliquefaciens* до основних груп антибіотиків  
**Table 4.** Resistance of *Bacillus amyloliquefaciens* strains to the main groups of antibiotics

Антибіотик Antibiotic	Згідно з EUCAST According to EUCAST		Діаметри зон інгібування росту, мм: Diameters of growth inhibition zones, mm:			
	діаметри зон інгібування росту, мм zone diameters growth inhibition, mm		досліджувані штами <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> research strains of <i>Bacillus amyloliquefaciens</i>			
	Ч ≥ S ≥	P < R <	Baf-1	Baf-2	Baf-3	Baf-4
Іміпенем / Imipenem	30,0	30,0	31,0±0,7	30,2±0,7	37,7±0,3	29,8±0,3
Меропенем / Meropenem	25,0	25,0	28,5±0,3	23,8±0,2	28,0±0,3	23,7±0,2
Ципрофлоксацин / Ciprofloxacin	50,0	23,0	25,5±0,5	27,2±0,2	24,8±0,5	23,3±0,3
Левовфлоксацин / Levofloxacin	50,0	23,0	24,5±0,5	22,3±0,8	26,2±0,7	19,0±0,7
Норфлоксацин / Norfloxacin	21,0	21,0	22,5±0,3	20,0±0,7	25,7±0,3	21,2±0,2
Ванкоміцин / Vancomycin	10,0	10,0	11,3±0,3	11,3±0,3	19,2±0,2	10,2±0,2
Еритроміцин / Erythromycin	24,0	24,0	26,3±0,3	24,2±0,7	24,8±0,5	21,8±0,2
Кліндаміцин / Clindamycin	17,0	17,0	17,7±0,3	17,2±0,2	18,2±0,2	17,2±0,2
Лінезолід / Linezolid	22,0	22,0	22,7±0,3	19,3±0,3	24,7±0,3	22,8±0,5

Всі останні досліджувані штами роду *Bacillus*, маючи високий антагоністичний ефект, проявляли стійкість до антибіотиків від 1 до 2–3 і більше представників різних груп антибіотиків, серед яких більша частина штамів залишалися поліантибіотикостійкими.

Доведено, що ефективність пробіотичних препаратів визначається сукупністю біологічних властивостей штамів культур, які входять до їх складу [15, 17].

Вчені вважають, що найперспективнішими є пробіотики, створені на основі мікроорганізмів, що належать до родів *Bacillus*, *Bifidobacterium* та *Lactobacillus*, саме тих видів бактерій, які є представниками мікробіоценозів шлунково-кишкового тракту тварин та птиці [3, 8, 30].

Одержані нами результати досліджень з цього приводу підтверджують той факт, що застосування пробіотичних препаратів позитивно впливає на нормалізацію мікробіоти шлунково-кишкового тракту [5].

Світовий досвід застосування антибіотиків на практиці показав, що в лікуванні інфекційних захворювань для знищення патогенних мікроорганізмів бажано не втручатися антибіотичними препаратами у мікробіоценоз кишківника. Доведено, що за сприятливих умов для розвитку патогенних мікроорганізмів антибіотики є дуже небезпечними. Тому за новою сучасною концепцією для профілактики і лікування хвороб у тварин і птиці, спричинених умовно-патогенними і патогенними мікроорганізмами, найперше — це стимулювання природної резистентності організму. Саме кишкова мікробіота та імунна система органів травлення є потужним периферичним комплексом імунного захисту, який безпосередньо чи опосередковано впливає на імунну функцію цілого організму

[13, 16, 20, 23–25, 30]. За даними вчених, стабільний стан нормальної мікробіоти забезпечує колонізаційну резистентність слизових оболонок кишечника завдяки сукупності механізмів, які підтримують сталість кількісного і видового складу пристінкової мікробіоти і запобігають заселенню макроорганізму патогенними мікробами або надмірному розмноженню умовно-патогенних бактерій [11]. Клінічне значення патогенних і умовно-патогенних бактерій зумовлене не лише їх широким розповсюдженням, а й добре вираженими властивостями щодо набуття резистентності до антибактеріальних препаратів [35, 38]. Тому через виникнення у патогенних мікроорганізмів резистентності до поширених антибіотиків для протидії і альтернативи лікуванню антибіотиками набувають значення пробіотичні препарати. Порівняно з пробіотичними штамми лактобактерій, бактерії роду *Bacillus* стійкіші і проявляють значно вищу антагоністичну активність щодо впливу на патогенні мікроорганізми [24].

Результати наших досліджень підтверджують, що штами роду *Bacillus* з високоантагоністичним потенціалом можуть бути поліантибіотикорезистентними [5].

Науковці виявили різноспрямований вплив пробіотичних препаратів у складі з бактеріями роду *Bacillus*, зумовлений бактеріальною транслокацією, коли життєздатні бактерії зі шлунково-кишкового тракту через кров проникають у внутрішні органи [25]. Транслокація представників нормальної мікробіоти, пробіотичних бактерій роду *Bacillus* і їх метаболітів є потужним природним захисним механізмом і важливим фактором активації неспецифічної резистентності організму тварин і птиці [12, 24]. Саме тому розробка ефективних пробіотичних препаратів на основі бактерій роду

*Bacillus* привертає велику зацікавленість виробників тваринницької продукції, попри те, що вказані бактерії можуть проявляти медикаментозну стійкість, особливо до антибіотиків [33]. Недарма антибіотикорезистентні бактерії називають переможцями, які вижили і адаптувалися в умовах конкуренції в зовнішньому середовищі і за антибіотикової селекції. При цьому з'являються цілі нові раси бактерій, високостійких до антибактеріальних препаратів [10, 29].

Вчені наголошують, що застосування антибіотиків впливає на зростання селекційного тиску на популяцію бактерій роду *Bacillus*, внаслідок чого серед них чутливі бактерії гинуть, а кількість резистентних мікроорганізмів зростає. Антибіотикорезистентні бактерії в таких умовах продовжують рости, розмножуватися і кількісно збільшувати резистентну до антибіотиків популяцію мікроорганізмів. У зв'язку зі значним поширенням антибіотикорезистентних мікроорганізмів зростає потреба в альтернативних методах лікування, зокрема в пробіотиках [4].

Відомо, що бактерії можуть набувати стійкості внаслідок генетичної мутації в їхній ДНК (хромосомна резистентність) або внаслідок отримання мобільних елементів генів від інших бактерій, яким властива стійкість до антибіотиків (горизонтальний перенос генів резистентності). Ситуацію ускладнює те, що часто один ген резистентності здатний передавати стійкість до двох і більше антибіотиків одного класу — перехресна резистентність. Різні гени резистентності з детермінантами стійкості до антибіотиків різних класів часто розташовуються в ДНК бактерії поряд і можуть здійснювати таку передачу одночасно — корезистентність. Горизонтальна передача генів антибіотикорезистентності становить серйозну загрозу, оскільки вона відбувається дуже швидко і безпосередньо прямим шляхом. Цей механізм передачі часто спричиняє одночасне поширення стійкості до декількох антибіотиків різних класів [10, 31].

Коли стійкість проти антибіотиків сформована, бактерії зберігають її протягом тривалого часу навіть за відсутності контакту з антибіотиками. Часто спостерігають одночасну передачу генів антибіотикорезистентності і вірулентності, що призводить до появи резистентних бактерій з підвищеною вірулентністю. Небезпечним є те, що антибіотикорезистентні бактерії формують стійку популяцію і персистують в організмі тварин та птиці навіть після припинення застосування антибіотиків [29, 31, 35].

Зважаючи на ризики стосовно передачі антибіотикостійкості мікробіоті шлунково-кишкового тракту за використання біологічно активних препаратів і пробіотиків зокрема, постає питання в необхідності перевірки на резистентність до антибактеріальних препаратів пробіотичних штамів бактерій, відібраних для конструювання пробіотиків [6].

Наші випробування стосовно антибіотикорезистентності виділених від птиці ізолятів роду *Bacillus* були присвячені вивченню цього питання. Результати

наших досліджень бактерій *B. subtilis*, *B. licheniformis*, *B. coagulans*, *B. amyloliquefaciens* на чутливість до антибіотиків показали, що серед відібраних перспективних пробіотичних штамів з високим антагоністичним потенціалом виявлено антибіотикорезистентні мікроорганізми. Найбільша кількість штамів, резистентних до антибіотичних препаратів, була серед бактерій *B. subtilis* — до 31,0%. Серед них виявили полірезистентність до антибіотиків груп фторхінолонів, карбапенемів і макролідів. Серед *B. licheniformis* два штами були полірезистентними і проявляли стійкість до антибіотиків груп фторхінолонів і карбапенемів, один із них був резистентним до ванкомицину (група глікопептидів). Серед *B. coagulans* полірезистентними до груп фторхінолонів і карбапенемів виявилися шість штамів, серед них чотири проявляли резистентність до ванкомицину. Серед *B. amyloliquefaciens* два штами виявився полірезистентними щодо застосованих різних груп антибіотиків.

Щодо відбору перспективних пробіотичних штамів, то серед 31 штаму бактерій роду *Bacillus* виявлено чутливість до застосованих груп антибіотиків у семи із них (22,6%), які були визначені як пробіотичні з високим ступенем антагоністичних властивостей, антибіотикочутливі, безпечні мікроорганізми з перспективою використання їх для конструювання пробіотичних препаратів. Решта дослідних штамів бактерій роду *Bacillus* з високим антагоністичним потенціалом у 77,4% випадків проявляли резистентність до застосованих різних груп антибіотиків. Це викликає стурбованість наших дослідників та інших науковців щодо поширеності серед тварин і птиці антибіотикорезистентних мікроорганізмів.

Визначено, за аналізом результатів проведених нами експериментів, високоантагоністичні штами *B. subtilis* Bs-5, Bs-9, *B. licheniformis* Bfl-1, Bfl-4, *B. coagulans* Bcg-4, *B. amyloliquefaciens* Baf-1, Baf-3, виділені від птиці з різних регіонів України, є антибіотикочутливими, пробіотичними, безпечними, перспективними для конструювання пробіотичних препаратів.

## Джерела

1. Ashraf R, Shah NP. Immune system stimulation by probiotic microorganisms. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 2014; 54 (7): 938–956. DOI: 10.1080/10408398.2011.619671.
2. Babenko LP, Tymoshok NO, Safronova LA, Demchenko OM, Zaitseva GM, Lazarenko LM, Spivak MJ. Antimicrobial and therapeutic effect of probiotics in cases of experimental purulent wounds. *Biosys. Diversity.* 2022; 30 (1): 22–30. DOI: 10.15421/012203.
3. Behnsen J, Deriu E, Sassone-Corsi M, Raffatellu M. Probiotics: properties, examples, and specific applications. *CSH Perspect. Med.* 2013; 3 (3): a010074. DOI: 10.1101/cshperspect.a010074.
4. Cassir N, Rolain JM, Brouqui P. A new strategy to fight antimicrobial resistance: the revival of old antibiotics. *Front. Microbiol.* 2014; 5: 551 p. DOI: 10.3389/fmicb.2014.00551.
5. Chechet OM, Kovalenko VL, Horbatyuk OI, Gaidei OS, Kravtsova OL, Andriyashchuk VO, Musiets IV, Ordynska DO.

- Antagonistic properties of a probiotic preparation with bacteria of the genera *Bacillus* and *Enterococcus*. *Reg. Mech. Biosys.* 2022; 13 (4): 362–366. DOI: 10.15421/022247.
6. Cherny N, Kulak V. The resistance and productivity of rabbits at use of probiotic “Evitaliya” in terms of regulatory climate. *Sci. Mess. LNUVMBT Ser. Vet. Sci.* 2016; 18 (2/66): 192–196. DOI: 10.15421/nlvvet6639.
  7. Dyshlyuk NV, Orlova AV. Structure’s features of esophagus and it’s immune formations of quails. *Sci. Mess. LNUVMBT Ser. Vet. Sci.* 2017; 19 (77): 3–6. DOI: 10.15421/nlvvet7701. (in Ukrainian)
  8. Di Criscio T, Fratianni A, Mignogna R, Cinquanta L, Coppola R, Sorrentino E, Panfili G. Production of functional probiotic, prebiotic and synbiotic ice creams. *J. Dairy Sci.* 2010; 93 (10): 4555–4564. DOI: 10.3168/jds.2010-3355.
  9. Fanelli U, Chiné V, Pappalardo M, Gismondi P, Esposito S. Improving the quality of hospital antibiotic use: impact on multidrug-resistant bacterial infections in children. *Front. Pharmacol.* 2020; 11: 745. DOI: 10.3389/fphar.2020.00745.
  10. Feshchenko YI, Humeniuk MI, Denysov OS. Antibiotic resistance of microorganisms. State of the problem and the way of decision. *Ukr. Chemother. J.* 2010; 1–2 (23): 4–10. Available at: [http://www.ifp.kiev.ua/doc/journals/uhj/10/pdf10-\(1-2\)/4.pdf](http://www.ifp.kiev.ua/doc/journals/uhj/10/pdf10-(1-2)/4.pdf) (in Ukrainian)
  11. Hopchuk OM, Herasymova TV, Morozova OV. Probiotics: a modern perspective on therapeutic efficacy. *Med. Aspects Women’s Health.* 2015; 6 (92): 56–61. Available at: [https://mazzg.com.ua/ua/archive/2015/6%2892%29/pages-56-61/probiotiki-suchasniy-poglyad-na-terapevtichnu-efektivnist#Probiotiki%3A\\_suchasniy\\_poglyad\\_na\\_terapevtichnu\\_efektivnist](https://mazzg.com.ua/ua/archive/2015/6%2892%29/pages-56-61/probiotiki-suchasniy-poglyad-na-terapevtichnu-efektivnist#Probiotiki%3A_suchasniy_poglyad_na_terapevtichnu_efektivnist) (in Ukrainian)
  12. Huyghebaert G, Ducatelle R, Immerseel FV. An update on alternatives to antimicrobial growth promoters for broilers. *SWorld J.* 2014; 187 (2): 182–188. <https://doi.org/10.1016/j.tvj.2010.03.003>.
  13. Iegorov B, Kananykhina O, Turpurova T. Probiotic feed additives in fattening agricultural animals. *Grain Prod. Mixed Fodders.* 2022; 21 (4): 25–31. DOI: 10.15673/gpmf.v21i4.2250.
  14. Kachkin DV, Khorolskaya JI, Ivanova JS, Rubel AA. An efficient method for isolation of plasmid DNA for transfection of mammalian cell cultures. *Methods Protoc.* 2020; 3 (4): 69. DOI: 10.3390/mps3040069.
  15. Khariv M, Gutyj B, Ohorodnyk N, Vishchur O, Khariv I, Solovodzinska I, Mudrak D, Grymak C, Bodnar P. Activity of the T- and B-system of the cell immunity of animals under conditions of oxidation stress and effects of the liposomal drug. *Ukr. J. Ecol.* 2017; 7 (4): 536–541. DOI: 10.15421/2017\_157.
  16. Klaenhammer TR, Kleerebezem M, Kopp MV, Rescigno M. The impact of probiotics and prebiotics on the immune system. *Nat. Rev. Immunol.* 2012; 12: 728–734. DOI: 10.1038/nri3312.
  17. Kotsyumbas G, Kostynjuk A, Mysiv O, Fedyk Y. Histological, histochemical characteristics of duodenal intestine of hen-broilers for feeding with high content of probiotic supplements. *Sci. Mess. LNUVMBT Ser. Vet. Sci.* 2017; 19 (77): 71–75. DOI: 10.15421/nlvvet7717. (in Ukrainian)
  18. Kucheruk MD, Zasekin DA, Dymko RO. Microbiological and sanitary-hygienic significance of intestinal eubiozuz in agricultural animals. *Ukr. Ecol. J.* 2018; 8 (2): 287–293. DOI: 10.15421/2018\_340. Available at: <https://www.ujecology.com/abstract/microbiological-and-sanitaryhygienic-significance-of-intestinal-eubiozuz-in-agricultural-animals-1264.html> (in Ukrainian)
  19. Kucheruk MD, Zasekin DA, Dymko RO, Shcherbina OA. Sanitary and hygienic conditions of keeping poultry under organic farming as a factor of productivity. *Biores. Env. Use Ukr.* 2017; 9 (5–6): 116–124. DOI: 10.31548/bio2017.05.015.
  20. Lutgendorff F, Nijmeijer RM, Sandström PA, Trulsson LM, Magnusson KE, Timmerman HM, van Minnen LP, Rijkers GT, Gooszen HG, Akkermans LM, Söderholm JD. Probiotics prevent intestinal barrier dysfunction in acute pancreatitis in rats via induction of ileal mucosal glutathione biosynthesis. *PLoS ONE.* 2009; 4 (2), e4512. DOI: 10.1371/journal.pone.0004512.
  21. Matseliukh OV, Safronova LA, Varbanets LD. Probiotic strains of *Bacillus amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* as proteinase producers. *Biotechnologia Acta.* 2015; 8 (2): 84–90. DOI: 10.15407/biotech8.02.084.
  22. Medvid SM, Hunchak AV, Stefanishyn OM, Pashchenko AG. The microbiota composition of broiler chickens for action of bioelements citrates. *Sci. Mess. LNUVMBT Ser. Agricult. Sci.* 2017; 19 (74): 224–228. Available at: <https://nlvet.com.ua/index.php/agriculture/article/view/2333> (in Ukrainian)
  23. Mehta R, Dedina L, O’Brien PJ. Rescuing hepatocytes from iron-catalyzed oxidative stress using vitamins B1 and B6. *Toxicol. In Vitro.* 2011; 25 (5): 1114–1122. DOI: 10.1016/j.tiv.2011.03.015.
  24. Milian VO, Kharkhota MA, Nechypurenko OO. Study of probiotic properties of strains of *Bacillus sp.* 1.1. and *B. amyloliquefaciens* UKM B-5113. *ScienceRise.* 2014; 5 (1/5): 15–22. DOI: 10.15587/2313-8416.2014.32023. (in Ukrainian)
  25. Nykytenko VY, Stadnikov AA, Kopylov VA. Bacterial translocation from the gastrointestinal tract in healthy and injured rats. *J. Wound Care.* 2011; 20 (3): 114–122. DOI: 10.12968/jowc.2011.20.3.114.
  26. Pavlova I. Effect of probiotics on doxycycline disposition in gastrointestinal tract of poultry. *Bulgar. J. Vet. Med.* 2015; 18 (3): 248–257. DOI: 10.15547/bjvm.908.
  27. Pitino I, Randazzo CL, Mandalari G, Lo Curto A, Faulks RM, Le Marc Y, Bisignano C, Caggia C, Wickham MSJ. Survival of *Lactobacillus rhamnosus* strains in the upper gastrointestinal tract. *Food Microbiol.* 2010; 27 (8): 1121–1127. DOI: 10.1016/j.fm.2010.07.019.
  28. Pitout JD, Laupland KB. Extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Enterobacteriaceae*: an emerging public-health concern. *Lancet Infect. Diseases.* 2008; 8 (3): 159–166. DOI: 10.1016/S1473-3099(08)70041-0.
  29. Romaniuk LI, Kravets NY, Klymniuk SI, Kopcha VS, Dronova OY. Antibiotic-resistance of opportunistic microorganisms: topicality, conditions of emergency, ways of overcome. *Infect. Diseases.* 2019; 4: 63–71. DOI: 10.11603/1681-2727.2019.4.10965. (in Ukrainian)
  30. Romanovych MM. The dynamics of humoral protection factors in broilers under the conditions of probiotic preparations application. *Sci. Mess. LNUVMBT Ser. Vet. Sci.* 2018; 20 (83): 264–267. DOI: 10.15421/nlvvet8352. (in Ukrainian)
  31. Salmanov AH, Muzyka VP. Combating antibiotic resistance based on the principles of the “One Health” concept. *J. Antibiot. Probiot.* 2017; 1 (2): 8–29. DOI: 10.31405/ijap.2-1.18.06.
  32. Shchur N, Chechet O, Mazur T, Martyniuk O, Gorbatiuk O, Buchkovska H, Musiets I, Ordynska D, Finkova O, Moskalenko L, Ponomaryova-Gerasimyuk T, Lusta M, Nedosekov V. Prevalence and antimicrobial resistance of campylobacter isolated from animals and poultry in Ukraine. *Adv. Anim. Vet. Sci.* 2023; 11 (5): 852–863. DOI: 10.17582/journal.aavs/2023/11.5.852.863.
  33. Shkromada OI, Dudchenko YA. Study of the antimicrobial activity of probiotic strains of *Bacillus*. *Bull. SNAU. Ser. Vet. Med.* 2021; 4 (55): 38–43. DOI: 10.32845/bsnau.vet.2021.4.6. (in Ukrainian)
  34. Smet A, Martel A, Persoons D, Dewulf J, Heyndrickx M, Herman L, Haesebrouck F, Butaye P. Broad-spectrum  $\beta$ -lactamases among *Enterobacteriaceae* of animal origin: molecular aspects, mobility and impact on public health. *FEMS Microbiol. Rev.* 2010; 34 (3): 295–316. DOI: 10.1111/j.1574-6976.2009.00198.x.
  35. Tenover FC. Mechanisms of antimicrobial resistance in bacteria. *Am. J. Med.* 2006; 119 (6/1): 3–10. DOI: 10.1016/j.amjmed.2006.03.011.
  36. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 12.0, 2022, valid from 2022-01-01. Available at: <https://www.eucast.org>
  37. Weiß CH. StatSoft, Inc., Tulsa, OK.: *Statistica*, version 8. *ASTA Adv. Stat. Analysis.* 2007; 91 (3): 339–341. DOI: 10.1007/s10182-007-0038-x.
  38. Zabrovskaya AV. Sensitivity to antimicrobial preparations of microorganisms isolated from agricultural animals and from livestock production. *VetPharma.* 2012; 5: 20–24.



## On sensitivity to antibacterial preparations of strains of *Bacillus spp.* with a high level of antagonistic activity for the production of probiotics

O. M. Chechet, V. L. Kovalenko, O. I. Horbatiuk, N. V. Kuryata, G. A. Buchkovska, I. V. Musiets, L. V. Shalimova, D. O. Ordynska, L. V. Balanchuk, N. V. Shchur, L. V. Togachynska  
goroliva@ukr.net

State Research Institute for Laboratory Diagnostics and Veterinary-Sanitary Examination, 30 Donetska str., Kyiv, 03151, Ukraine

The development of organic livestock farming, in particular poultry farming, which Ukraine is targeting, requires a radical change in approaches to the prevention and treatment of infectious diseases. The macroorganism and microbiota of the gastrointestinal tract constitute a single ecological system with homeostatic balance. However, its violation creates a threat of an imbalance of intestinal normal flora and the development of diseases of bacterial etiology in poultry. Considering this, there is a growing need for the development and use of probiotic preparations. The high antagonistic potential of bacteria of the genus *Bacillus* in relation to other pathogens causes scientific and industrial interest in the development of probiotics with their involvement in the composition of these bacteria as an alternative to antibiotics. But due to the existence of risks of direct transfer of R-plasmids of antibiotic resistance to the biotic microflora of the gastrointestinal tract together with probiotic strains when they acquire resistance, promising strains of bacteria of the genus *Bacillus* should be tested for sensitivity to antibiotic drugs. We selected promising probiotic strains with a high level of antagonism, *Bacillus subtilis* Bs-5 and Bs-9, *Bacillus licheniformis* Bfl-1 and Bfl-4, *Bacillus coagulans* Bcg-5, *Bacillus amyloliquefaciens* Baf-1 and Baf-3 showed full sensitivity to the applied antibiotics — representatives of the groups of carbapenems, fluoroquinolones, glycopeptides, lincosamides, macroliths and oxazolidones. These strains were recommended as probiotic, antibiotic sensitive, safe and promising for their use in the design of probiotic preparations. The obtained results of laboratory studies of other strains of *B. subtilis*, *B. licheniformis*, *B. coagulans*, *B. amyloliquefaciens* proved the presence among them of bacteria polyresistant to fluoroquinolone, carbapenem, macrolide and glycopeptide antibiotics.

**Key words:** antibiotic resistance, antagonistic activity, probiotic strains, *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus coagulans*, *Bacillus amyloliquefaciens*



## Вплив німесулідів та нового похідного 4-тіазолідинону на гематологічні параметри в умовах експериментального запального процесу

Т. М. Руминська<sup>1,2</sup>  
tanityshka.r@ukr.net



<sup>1</sup>Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, вул. Пекарська 69, м. Львів, 79010, Україна

<sup>2</sup>Інститут біології тварин НААН, вул. Стуса 38, м. Львів, 79034, Україна

### ORCID:

T. M. Rumynska <https://orcid.org/0000-0002-0669-5865>

### Authors' Contributions:

RTM: Conceptualization; Data curation; Formal analysis; Investigation; Methodology; Project administration; Supervision; Writing — original draft, review & editing.

### Declaration of Conflict of Interests:

None to declare.

### Ethical approval:

A permission to conduct the research was obtained from the from the Committee on Ethics of scientific research, experimental developments and scientific works of Danylo Halytsky Lviv National Medical University (Protocol no. 10 from 20.12.2021, Lviv, Ukraine)

### Acknowledgements:

The author is grateful to the Armed Forces of Ukraine for a possibility to continue a scientific research during the war.

The research was supported by the Ministry of Health of Ukraine (grant no. 0123U100153).

Метою роботи було виявити протизапальний ефект нового похідного з групи 4-тіазолідинонів — *Les6490*, для чого проведено порівняльне дослідження впливу двох засобів: сполуки *Les6490* і німесулідів, який належить до групи нестероїдних протизапальних препаратів з вираженою протизапальною, анальгезивною та жарознижувальною дією. Німесулідів зараховують до високоселективних інгібіторів циклооксигенази та її ізоферментів (ЦОГ-2) і використовують за різних патологій опорно-рухового апарату. Новосинтезована сполука *Les6490* належить до групи похідних 4-тіазолідинонів. Тіазолідинонове кільце входить до складу багатьох наявних потенційних антибактеріальних та протизапальних засобів, може комбінуватись з піразоловими фрагментами, які є фармакоформами тієї ж структури, і здатне сприяти підвищенню терапевтичної ефективності. У роботі досліджено особливості змін гематологічних показників у щурів за експериментального відтворення асоційованого запального процесу за використання моделі ад'ювант Фрейнда (ПАФ). У результаті дослідження протизапальної активності за гематологічними показниками препаратів — *Les6490* та німесулідів — виявлено їхню протизапальну активність, яку можна вважати співставною з незначною перевагою сполуки *Les6490*. При цьому, не виявляючи впливу на кількісний рівень еритроцитів за ізольованого введення, в умовах запального процесу німесулідів та *Les6490* спричиняли вірогідне збільшення загальної кількості еритроцитів порівняно групою з модельованим запаленням. Не виявлено жодного впливу на кількість гемоглобіну. За аналізу показників лейкоцитарної формули активність сполуки *Les6490* є схожою до німесулідів. Найбільш виражені зміни лейкоцитарної формули за АФ-індукованого запалення спостерігали з боку нейтрофілів: дія досліджуваної речовини *Les6490* була вираженішою порівняно з дією німесулідів. Введення сполуки *Les6490* частково спричиняло нормалізацію моноцитів, а за умов АФ-асоційованого запального процесу вірогідних змін не спостерігали.

**Ключові слова:** німесулідів, *Les6490*, 4-тіазолідинони, нестероїдні протизапальні препарати, еритроцити, гемоглобін, лейкоцити



Attribution 4.0 International  
(CC BY 4.0)

## Вступ

Дослідження впливу хімічних речовин на гематологічні показники є важливим аспектом первинного оцінювання біологічної активності препаратів і дає змогу визначити індукцію запальної реакції, алергенного впливу, цитотоксичності. Нашу увагу привернули похідні тіазолідинонів, які є перспективною групою речовин з огляду на їхню високу афінність до біологічних мішеней, залучених у процеси, пов'язані з ростом пухлинних клітин, життєвого циклу мікроорганізмів, розвитку запальних реакцій, а також вплив цих сполук на розвиток діабету II типу. Тіазолідинонове кільце входить до складу багатьох наявних потенційних антибактеріальних та протизапальних засобів, може комбінуватись з піразоловими фрагментами, які є фармакоформами тієї ж структури, і сприяти підвищенню терапевтичної ефективності. За результатами експериментальних досліджень на щурах, за дії препаратів групи тіазолідинонів виявлено цитоморфологічні зміни проапоптичного характеру [4], показано здатність вказаних похідних поглинати вільні радикали *in vitro*. Водночас похідні 4-тіазолідинону проявляють дегенеративні зміни через здатність блокувати множинне руйнування хряща в умовах остеоартритичного процесу [7]. Тож препарати, які входять до групи 4-тіазолідинонів, є політаргентними сполуками і перспективними для подальших досліджень з метою одержання ефективних лікувальних засобів [5]. Нестероїдний протизапальний препарат (НПЗП) порівняння німесулід є селективним інгібітором циклооксигенази 2-го типу, широко застосовується як протизапальний засіб та, подібно до препаратів-похідних 4-тіазолідинонів, виявляє помірний хондропротекторний вплив [2, 10]. Встановлено також його вплив на гематологічні параметри, тренд змін яких є дозозалежним [9, 11]. Окрім лікувальної дії, НПЗП можуть провокувати багато побічних ефектів, переважно з боку шлунково-кишкового тракту або серцево-судинної системи [1]. Тому існує необхідність розробляти нові препарати, які були б відносно безпечними.

Для виявлення потенційних протизапальних ефектів у нового похідного з групи 4-тіазолідинонів ми провели порівняльне дослідження впливу *Les6490* і нестероїдного протизапального засобу німесулідів на моделі ад'ювант Фрейнда-асоційованого запального процесу в щурах.

## Матеріали і методи

Для первинного скринінгу біологічної активності сполуки *Les6490* (5-(Z)-((1,3-дифеніл-1H-піразол-4-іл)метил)-2,4-тіазолідинон), зокрема його протизапальної дії, досліджено гематологічні показники в умовах експериментального запального процесу, індукованого ад'ювантом Фрейнда (АФ). Індукцію запального процесу провели за стандартною методи-

кою [6] — введенням 0,1 мл повного АФ підшкірно у підшовну частину задньої кінцівки. Дослід проводили на статевозрілих нелінійних білих щурах обох статей з вихідною масою  $220 \pm 5,1$  г, отриманих з віварію Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького. Експеримент проводили відповідно до положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей» (Страсбург, 2005), Директиви Ради Європи №2010/63/ЄС та Закону України № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження» зі змінами 440-IX від 14.01.2020, згідно з протоколом №10 від 20.12.2021 р. засідання комісії з питань етики наукових досліджень, експериментальних розробок і наукових творів ЛНМУ імені Данила Галицького.

У дослідженні використано 60 щурів, розділених на 6 груп по 10 тварин: група 1 (К) — контроль (інтактні тварини); група 2 (А) — тваринам з метою індукування запального процесу вводили АФ; група 3 (*Les6490*) — тварини, які отримували новосинтезовану речовину *Les6490*; група 4 — тварини, яким вводили *Les6490* на тлі індукованого запалення; група 5 (N) — тварини, які отримували німесулід; група 6 — щури з індукованим запаленням, ліковані німесулідом. Досліджувані речовини розчиняли у *Twin 80* та вводили щурам внутрішньошлунково по 1 мл у дозі 15 мг/кг (німесулід, «Лекхім») і 10 мг/кг (*Les6490*) щодня вранці перед прийомом їжі протягом 14 днів. Зразки крові брали після декапітації щурів у пробірки з попередньо внесеним антикоагулянтом. У зразках крові визначали кількість еритроцитів, лейкоцитів, вміст гемоглобіну на гематологічному аналізаторі *Mythic18* (*Cormay Diagnostics*, Польща) та лейкограму методом мікроскопії, фарбування за Романовським-Гімзою [8].

Статистичну обробку одержаних результатів проводили методом варіаційної статистики з використанням *t*-критерію Стьюдента з допомогою прикладної програми для роботи з електронними таблицями *Microsoft Office Excel* (2003, 2013).

## Результати й обговорення

Як показали результати наших досліджень, наведені у табл. 1, очікуваним ефектом впливу АФ (дослідна група 2) на гематологічний профіль порівняно з контрольною групою 1 було зростання загальної кількості лейкоцитів в 1,7 раза, що свідчить про активний запальний процес [12], на тлі зниження кількості еритроцитів в 1,4 та гемоглобіну в 1,1 раза ( $P < 0,001$ ).

Введення сполуки *Les6490* і німесулідів окремо (групи 3 і 5) не спричиняло вірогідних змін з боку вказаних показників порівняно з контролем. Проте після введення тваринам зі спровокованим запальним процесом дія *Les6490* супроводжувалася вірогідним поверненням показника кількості лейкоцитів практично до контрольних цифр ( $P < 0,001$ ).

**Таблиця 1.** Гематологічні параметри крові щурів за умов АФ-асоційованого запалення і дії сполуки *Les6490* та німесуліді ( $M \pm m$ ,  $n=10$ )  
**Table 1.** Hematological indices of rat blood after FA-induced inflammation and action of *Les6490* and nimesulide ( $M \pm m$ ,  $n=10$ )

Показники Indices	група 1 group 1	група 2 group 2	група 3 group 3	група 4 group 4	група 5 group 5	група 6 group 6
	К	А	<i>Les6490</i>	<i>A+Les6490</i>	Nimesulide	<i>A+Nimesulide</i>
Лейкоцити, Г/л / Leucocytes, g/l	10,03±0,8	17,15±0,7*	9,55±2,5	11,4±1,4*	10,55±1,0	11,1±1,6*
Еритроцити, Т/л / Erythrocytes, t/l	8,7±0,32	6,11±0,3*	8,4±0,7	7,8±0,48*	8,6±0,42	7,12±0,67
Гемоглобін, г/л /Haemoglobin, g/l	137±1,75	127,3±2,4	138,3±5,2	127,3±5,6	138,6±2,4	132,7±3,7

Примітка. Тут і в наступній таблиці вірогідність \* —  $P \leq 0,001$ .  
Note. Here and in the following table the significance is \* —  $P \leq 0,001$ .

**Таблиця 2.** Лейкоцитарна формула крові щурів за умов АФ-асоційованого запалення і дії *Les6490* та німесуліді ( $M \pm m$ ,  $n=10$ )  
**Table 2.** Leukogram of rats' blood after FA-induced inflammation and action of *Les6490* and nimesulide ( $M \pm m$ ,  $n=10$ )

Показники, % Indices, %	група 1 group 1	група 2 group 2	група 3 group 3	група 4 group 4	група 5 group 5	група 6 group 6
	К	А	<i>Les6490</i>	<i>A+Les6490</i>	Nimesulide	<i>A+Nimesulide</i>
Базофіли / Basophils	0,5±0,54	0,3±0,51	0,33±0,5	0,33±0,5	0,5±0,54	0,5±0,54
Еозинофіли / Eosinophils	3,5±0,83	3,0±0,89	3,0±0,89	3,0±0,89	3,67±1,36	2,7±1,2
Нейтрофіли / Neutrophils	25±3,2	38,7±3,38	16,8±5,6	29,7±2,3*	17,5±2,6	32,3±6,1
Моноцити / Monocytes	6,8±0,31	10,5±2,7	8,3±1,2	9,8±1,83	9,2±0,76	10,8±2,7
Лімфоцити / Lymphocytes	64,2±1,9	47,5±2,1*	71,5±7,12	57,1±2,0*	69,2±2,3	53,7±4,2

Встановлено, що розвиток запалення у щурів (до-слідна група 2) супроводжується статистично вірогідним ( $P < 0,001$ ) зниженням кількості еритроцитів щодо контрольної групи на 29%. Це може свідчити про здатність прозапальних цитокинів порушувати утворення еритроцитів. Згідно з літературними даними, запалення може порушувати метаболізм заліза, що призводить до розвитку анемії [3]. Зі свого боку, введення німесуліді та новосинтезованої сполуки за умов моделювання запального процесу призвело до збільшення кількості еритроцитів (група 4 та 6) порівняно з групою 2. Вміст гемоглобіну залишається в межах норми, що може вказувати на підтримку сталості дихальної функції крові.

Зміни лейкоцитарної формули за АФ-індукованого запалення (табл. 2) очікувано полягали у зсуві показників вліво і супроводжувалися зростанням процентного вмісту нейтрофілів з різницею 35%.

За дії препаратів *Les6490* та німесуліді з боку морфологічного складу периферичної крові, навпаки, зафіксовано деякий зсув формули вправо, відносний моноцитоз, проте зміни не були вірогідно значимими порівняно з контролем.

За умов АФ-асоційованого запального процесу введення сполуки *Les6490* не спричиняло вірогідних змін з боку процентного вмісту моноцитів, але мало деякий тренд до нормалізації показників. Дія німесуліді менше впливала на загальну кількість нейтрофілів, оскільки за умов АФ-індукованого запалення їхня відносна кількість становила 38,7%, а за додаткового

введення німесуліді знизилася лише на 6,4%, а також закріплювався ефект зростання відносної кількості моноцитів.

За результатами дослідження протизапальної активності за гематологічними показниками похідної 4-тіазолідинонів та НПЗП німесуліді виявлено їхню протизапальну активність, яку можна вважати співставною з *Les6490*. Причому, не виявляючи впливу на кількісний рівень еритроцитів за ізольованого введення, виявлено пізвищення рівня еритроцитів в умовах запального процесу. Впливу сполуки *Les6490* на кількість гемоглобіну не виявлено.

За показниками лейкоцитарної формули новий похідний з групи 4-тіазолідинонів проявляє схожу активність, як і препарат німесуліді.

## Джерела

1. Araújo PHF, Ramos RS, da Cruz JN, Silva SG, Ferreira EFB, de Lima LR, Macêdo WJC, Espejo-Román JM, Campos JM, Santos CBR. Identification of potential COX-2 inhibitors for the treatment of inflammatory diseases using molecular modeling approaches. *Molecules*. 2020; 25(18): 4183. DOI: 10.3390/molecules25184183.
2. Caiazza E, Ialenti A, Cicala C. The relatively selective cyclooxygenase-2 inhibitor nimesulide: What's going on? *Eur. J. Pharmacol.* 2019; 848: 105–111. DOI: 10.1016/j.ejphar.2019.01.044.
3. Chen Y, Xu W, Yang H, Shao M, Xu S, Deng J, Gao X, Liu H, Shuai Z, Xu S, Pan F. Serum levels of hepcidin in rheumatoid arthritis and its correlation with disease activity and anemia:

- A meta-analysis. *Immunolog. Invest.* 2021; 50 (2–3): 243–258. DOI: 10.1080/08820139.2020.1742731.
- Kobylinska L, Klyuchivska O, Lesyk R, Stoika R. Targeting of the pro-oxidant/antioxidant balance *in vitro* and *in vivo* by 4-thiazolidinone-based chemotherapeutics with anticancer potential. *Ukr. Biochem. J.* 2019; 91 (2): 7–17. DOI: 10.15407/ubj91.02.007.
  - Manjal SK, Kaur R, Bhatia R, Kumar K, Singh V, Shankar R, Kaur R, Rawal RK. Synthetic and medicinal perspective of thiazolidinones: A review. *Bioorg. Chem.* 2017; 75: 406–423. DOI: 10.1016/j.bioorg.2017.10.014.
  - McCarson KE, Fehrenbacher JC. Models of inflammation: carrageenan- or complete Freund's adjuvant (CFA)-induced edema and hypersensitivity in the rat. *Curr. Prot.* 2021; 1 (7): e202. DOI: 10.1002/cpz1.202.
  - Panico A, Maccari R, Cardile V, Crasci L, Ronsisvalle S, Ottanà R. 5-arylidene-4-thiazolidinone derivatives active as antidegenerative agents on human chondrocyte cultures. *Med. Chem.* 2013; 9 (1): 84–90. DOI: 10.2174/157340613804488378.
  - Vlizlo V, Fedoruk R, Makar I. *Physiological and Biochemical Methods of Investigation in Biology, Livestock and Veterinary Medicine.* Lviv, 2004: 400 p. (in Ukrainian)
  - Wang Y, Liu Z, Li T, Chen L, Lyu J, Li C, Lin Y, Hao N, Zhou M, Zhong Z. Enhanced therapeutic effect of RGD-modified polymeric micelles loaded with low-dose methotrexate and nimesulide on rheumatoid arthritis. *Theranostics.* 2019; 9 (3): 708–720. DOI: 10.7150/thno.30418.
  - Wei W, Evseenko VI, Khvostov MV, Borisov SA, Tolstikova TG, Polyakov NE, Dushkin AV, Xu W, Min L, Su W. Solubility, permeability, anti-inflammatory action and *in vivo* pharmacokinetic properties of several mechanochemically obtained pharmaceutical solid dispersions of nimesulide. *Molecules.* 2021; 26 (6):1513. DOI: 10.3390/molecules26061513.
  - Wildfeuer A. Effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs on human leucocytes. *Z. Rheumatol.* 1983; 42 (1):16–20. PMID: 6845886.
  - Zalyubovska O, Zlenko V, Litvynova O. *The Effect of Drugs on Laboratory Indicators.* Kharkiv, 2014: 97 p. (in Ukrainian)

## The effect of the nimesulide and a new 4-thiazolidinone derivative on hematological parameters in the conditions of an experimental inflammatory process

T. M. Rumynska<sup>1,2</sup>  
tanityshka.r@ukr.net

<sup>1</sup>Danylo Halytsky Lviv National Medical University, 69 Pekarska str., Lviv, 79010, Ukraine

<sup>2</sup>Institute of Animal Biology NAAS, 38 V. Stusa str., Lviv, 79034, Ukraine

The aim of the work was to identify the anti-inflammatory effect of a newly synthesized drug from the group of 4-thiazolidinones. Thus, a comparative study of the effect of two agents was conducted: the drug *Les6490* and the non-steroidal anti-inflammatory drug nimesulide. This drug belongs to the group of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs), which have pronounced anti-inflammatory, analgesic and antipyretic effects. Nimesulide belongs to highly selective inhibitors of cyclooxygenase and its isoenzymes (COX-2) and is used for treatment in various pathologies of the musculoskeletal system. The newly synthesized compound *Les6490* belongs to the group of 4-thiazolidinone derivatives. The thiazolidinone ring is part of many existing potential antibacterial and anti-inflammatory agents, and can be combined with pyrazole fragments, which are pharmacophores of the same structure, and can contribute to increased therapeutic efficacy. The study of the peculiarities of hematological changes in rats during the experimental reproduction of the associated inflammatory process using the Freund's adjuvant model has been conducted. As a result of the study of anti-inflammatory activity based on hematological indicators of the drugs — a new synthesized derivative of 4-thiazolidinones and a nonsteroidal anti-inflammatory drug nimesulide — their anti-inflammatory activity was revealed, which can be considered comparable to the slight advantage of the drug *Les6490*. At the same time, without affecting the quantitative level of erythrocytes with isolated administration, under the conditions of the inflammatory process, nimesulide and *Les6490* caused a significant increase in the total number of erythrocytes. No effect on the amount of erythrocytes was found. The analysis of leukocyte formula suggests the evidence that the activity of *Les6490* from the group of 4-thiazolidinones is to some extent more pronounced than the activity of nimesulide. The most pronounced changes in the leukocyte formula during AF-induced inflammation were observed on the part of neutrophils: the effect of the studied substance *Les6490* was more pronounced compared to the effect of nimesulide. The introduction of the new compound *Les6490* partially caused the normalization of monocytes, and under the conditions of the AF-associated inflammatory process, no significant changes were observed.

**Key words:** nimesulide, *Les6490*, 4-thiazolidinones, non-steroidal anti-inflammatory drugs, erythrocytes, hemoglobin, leukocytes



## Стан глутатіонової системи головного мозку щурів за умов споживання енергетичного напою

Н. І. Литвинюк, А. М. Ерстенюк  
natallitvinyuk.ifnmu@gmail.com



Івано-Франківський національний медичний університет, вул. Галицька 2, м. Івано-Франківськ, 76018, Україна

### ORCID:

N. I. Lytvyniuk <https://orcid.org/0009-0009-0383-3722>  
A. M. Ersteniuk — <https://orcid.org/0000-0002-5291-5347>

### Authors' Contributions:

**LNI:** Investigation; Analysis; Supervision; Software; Writing — review & editing.

**EAM:** Conceptualization; Project administration; Methodology; Data checking.

### Declaration of Conflict of Interests:

None to declare.

### Ethical approval:

A permission to conduct the research was obtained from the from the Committee on Ethics of Ivano-Frankivsk National Medical University (Protocol no. 101/18 from 12.04.2018 on ethics compliance in planning a PhD thesis, Ivano-Frankivsk, Ukraine)

### Acknowledgements:

None.

У роботі досліджено вплив енергонапою на стан глутатіонової системи головного мозку щурів. Енерготоніки — напої, які містять велику кількість активних компонентів, здатних стимулювати центральну нервову систему людини та підвищувати фізичну працездатність, впливати на циркадні ритми, подовжуючи період неспання. Джерела вказують і на негативний вплив енергонапоїв на певні функціональні системи людського організму. Дослід проводили на білих щурах лінії Вістар масою 180–200 г, утримуваних на стандартному раціоні віварію за регламентованих параметрів мікроклімату (вологість, освітлення та температурний режим). Всі досліді проведено з дотриманням вимог Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин (Страсбург, 1986). Для забору необхідного матеріалу використовували неінгаляційний метод наркозу — внутрішньом'язове введення тіопенталнатрію в дозі 60 мг/кг. Піддослідних тварин розділили на 5 груп за логічним критерієм формування вибірки: 1-ша (контрольна група) — отримували питну воду; 2-га — енергонапій впродовж місяця, матеріал брали на 1-шу добу після завершення споживання енергонапою; 3-тя — енергонапій впродовж місяця, забір матеріалу на 10-ту добу; 4-та — енергонапій впродовж місяця, забір матеріалу на 20-ту добу; 5-та — енергонапій впродовж місяця, забір матеріалу на 30-ту добу після завершення випоювання. Активність ензимів глутатіонової системи (глутатіонредуктази, глутатіонпероксидази та глутатіонтрансферази) та ензиму пентозофосфатного шляху (глюкозо-6-фосфатдегідрогенази) визначали ензиматичним методом. Споживання енергетичного напою зумовлює зміни активності ензимів глутатіонової системи: збільшення активності глутатіонредуктази в 2-, 4-, 5-й групах зі зниженням активності цього ензиму у щурів 3-ї групи; активність глутатіонпероксидази зросла в 4- і 5-й та зменшилась в 2- і 3-й групах. Активність глутатіонтрансферази зросла у всіх дослідних тварин. Активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази зросла в 2- і 3-й та зменшилась в 4- і 5-й групах. Результати показали значний вплив енергонапою на стан антиоксидантного захисту тканин мозку щурів, зокрема на стан глутатіонової системи. Інтерпретація показників активності ензимів доводить, що напої енергетичних груп можуть провокувати подальші порушення сталості внутрішнього середовища організму.

**Ключові слова:** лабораторні щури, енергонапій, головний мозок, глутатіонова система, глутатіонпероксидаза, глутатіонтрансфераза, глутатіонредуктаза, глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа



Attribution 4.0 International  
(CC BY 4.0)

## Вступ

Енергетичні напої (енерготоніки) належать до групи напоїв, які містять велику кількість активних компонентів, здатних стимулювати центральну нервову систему людини та/або підвищувати фізичну працездатність, а також впливати на циркадні ритми, подовжуючи період неспанння [1]. Майже всі енергетичні напої містять основний інгредієнт — кофеїн, який і проявляє головні фізіологічні впливи на організм [2].

До допоміжних компонентів належать цукор, вітаміни групи В, похідні амінокислот (таурин і L-карнітин), екстракти трав (гуарана й женьшень), інколи використовують підсилювачі смаку та інші речовини [7]. На сьогодні доведено, що енергетичні напої можуть зменшити розумову втому та покращити показники функцій мозку — такі, як пам'ять і концентрація уваги [10]. Однак споживання енергетичних напоїв, особливо у великих кількостях, пов'язане з виникненням різноманітних серцево-судинних захворювань та розладів, зокрема аритмії, стенокардії, артеріальної гіпертензії й навіть раптової серцевої смерті [11, 12].

Немодифікований кофеїн має здатність пригнічувати передачу сигналів mTOR (*mammalian target of rapamycin*) — протеїнкіназа, яка входить до складу мультиферментних сигнальних комплексів, здійснює регуляцію клітинного росту та проліферації клітин), зумовлюючи пригнічення вивільнення прозапальних/проангіогенних цитокінів, а також інших медіаторів запалення [5].

Таурин — непрямий регулятор окисного стресу в міокарді; стабілізуючи клітинні мембрани, безпосередньо взаємодіючи з фосфоліпідами, він проявляє різноманітну біологічну активність: наприклад, позитивно впливає на кінетику кальцію, а також на захист серцевої функції та є модулятором протеїнкінази і фосфатаз в кардіоміоцитах [11].

Ніацин має позитивний ефект у відновленні здорового ліпідного профілю та затримці прогресування атеросклерозу [12]. Кофеїн зв'язується з рецепторами, пов'язаними з G-білком класу аденозину, на поверхні клітин серцевого м'яза, що створює другу месенджерну систему з циклічним аденозинмонофосфатом всередині клітин та імітує ефекти адреналіну [9].

Женьшень є природнім адаптогеном, який має здатність стимулювати гіпоталамо-гіпофізарну секрецію кортикотропіну. Тому у великих концентраціях, як й інші компоненти енерготоніків, може спричинити негативний ефект [6].

У підтриманні гомеостазу організму важливу роль відіграють системи антиоксидантного захисту. Основу його становить глутатіонова система, що складається з глутатіону та ензимів, які каталізують реакції відновлення та окиснення глутатіону: глутіонпероксидаза, глутатіонредуктаза, глутатіонтрансфераза та НАДФН•Н [8]. Відомо, що глутатіон відіграє важливу роль у забезпеченні антиоксидантного захисту нейронів, бере участь в убіквітинуванні клітин, які дегенеру-

ють, та інактивації цитотоксичних карбонільних дериватів. Крім того, глутатіон проявляє антиапоптичну дію [4, 8]. Оскільки енергетичні напої здатні впливати на зміну ферментативної активності різних шляхів метаболізму, порівняння біохімічних змін активності ензимів глутатіонової системи, особливо головного мозку, через відсутність достатньої інформації у цьому аспекті можуть створити основу для розуміння їх фізіологічних впливів на організм, способів підсилення певних корисних ефектів, а також заходів щодо зменшення їх негативних впливів з використанням різних модифікаційних й кількісних змін активних компонентів.

Мета роботи — дослідити вплив енергонапою на стан глутатіонової системи головного мозку щурів з подальшою інтерпретацією результатів.

## Матеріали і методи

Дослідження проводили на білих щурах лінії Вістар масою 180–200 г, які перебували на стандартному раціоні віварію в умовах регламентованих параметрів мікроклімату (вологість, освітлення та температурний режим). Всі піддослідні тварини мали вільний доступ до комбінованого корму відповідно до добової потреби та води — 20 мл/тварину. Кількісні зміни (зріст та масу) щурів контролювали на початку та наприкінці дослідів, оцінюючи також і якісний розвиток. Всі досліди на тваринах проведені із дотриманням вимог Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, яких використовують з експериментальною та науковою метою (Страсбург, 1986), рекомендацій Першого національного конгресу України з біоетики (Київ, Україна, 2001), Закону України №3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження», прийнятого парламентом 21 лютого 2006 р. у новій редакції, відповідно до статті 26 «Правил поводження з тваринами, що використовуються в наукових експериментах, тестуванні, навчальному процесі, виробництві біологічних препаратів», Протоколу №101/18 від 12.04.2018 комісії з питань етики ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет» щодо дотримання етики при плануванні кандидатської дисертації.

Тварини дослідних груп впродовж місяця споживали енергонапій в розрахунку 10 мл/1000 г маси тварини. Добову дозу напою розраховували на кожну тварину відносно дози, рекомендованої виробником — рекомендована доза для дорослої людини становить 2 банки напою по 250 мл. Піддослідних щурів розділили на 5 груп по 7 тварин в кожній групі: 1-ша (контрольна група) — щури отримували питну воду; 2-га — тварини одержували енергонапій впродовж місяця, забір матеріалу провели на 1-шу добу після завершення споживання енергонапою; 3-тя — тварини отримували енергонапій впродовж місяця, забір матеріалу провели на 10-ту добу після завершення споживання енергонапою; 4-та — тварини одержували

енергонапій впродовж місяця, забір матеріалу провели на 20-ту добу після завершення споживання енергонапою; 5-та — шури отримували енергонапій впродовж місяця, забір матеріалу провели на 30-ту добу після завершення споживання енергонапою. Для забору необхідного матеріалу використовували неінгаляційний метод наркозу, а саме внутрішньом'язове введення тіопентал-натрію із розрахунку 60 мг/кг. Проводили забір головного мозку з подальшою гомогенізацією. Для отримання гомогенату головного мозку наважку тканини подрібнювали на холоді та гомогенізували в охолодженому середовищі виділення. Співвідношення тканини до середовища виділення складало 1/9. Як середовище виділення використовували буфер для гомогенізації 2.0 мл (0,175M KCl, 0,025M трис HCl, pH=7,4).

В отриманому охолодженому гомогенаті головного мозку визначали активність ензимів глутатіонової системи та глюкозо-6-фосфатдегідрогензи — ензиму пентозофосфатного шляху (ПФШ) із використанням ензиматичного методу. Кількість протеїну визначали за методом Лоурі. Одержані цифрові дані статистично обраховували з використанням *t*-критерію Стьюдента за допомогою програми *Statistica 8*, пакету статистичних функцій програми *Microsoft Office Excel* та класичних методів варіаційної статистики.

## Результати й обговорення

У результаті проведених досліджень встановлено зміни активності глутатіонзалежних ензимів (табл.), зокрема підвищення рівня активності глутатіонпероксидази [КФ 1.11.1.9] у віддалені періоди спостереження: на 20-ту і 30-ту доби на 38,4% ( $P<0,001$ ) та 21% ( $P<0,001$ ) відповідно. Активність цього ензиму знижувалась впродовж 10-ти діб після завершення прийому напою на 26,9% ( $P<0,001$ ) і 36,5% ( $P<0,001$ ) порівня-

но з контрольною групою тварин (рис. 1). Найбільше значення, знову ж таки, спостерігали на 20-ту добу проведення дослідження порівняно з іншими групами тварин. Відомо, що глутатіонпероксидаза — селеновмісний ензим, який відновлює пероксид водню до води і кисню, а органічні гідропероксиди жирних кислот — до гідросполук [8]. Антиоксидантні функції глутатіонпероксидази забезпечуються за рахунок вмісту селену. Під впливом глутатіонпероксидази за наявності активних форм кисню та продуктів вільнорадикального окиснення відновлена форма глутатіону переходить в окиснювальну [8].

Глутатіонтрансфераза [КФ 2.5.1.18] здатна каталізувати перетворення органічних гідроперексидів у відповідні спирти; у клітинах міститься у високих концентраціях. Деякі ізоформи ензиму забезпечують реакції знешкодження сторонніх речовин кон'югацією з глутатіоном [8]. Вивчення активності глутатіонтрансферази засвідчує зростання цього показника впродовж усього періоду спостереження, зокрема у 2-й групі — на 12% ( $P<0,001$ ), 3-й — на 52% ( $P<0,001$ ), 4-й — на 53% ( $P<0,001$ ) і в 5-й — на 39% ( $P<0,001$ ) порівняно з контролем (рис. 2). Найбільше значення спостерігали на 20-ту добу проведення дослідження порівняно з іншими групами тварин, що може свідчити про схожий механізм впливу на ці ферменти і дозволяє висловити припущення про адаптивний механізм активації цих ензимів у відповідь на накопичення продуктів пероксидації ліпідів і протеїнів у процесі споживання енергонапою [8].

Глутатіонредуктаза [КФ 1.6.4.2] каталізує реакцію відновлення окисненої форми глутатіону за участю НАДФН•Н у відновлену, яка необхідна для функціонування глутатіонпероксидази [8]. Дослідження активності глутатіонредуктази показало зростання цього показника у 2-й групі на 11% ( $P<0,001$ ), 4-й — на 73,2% ( $P<0,001$ ) та у 5-й — на 57,5%. На 10-ту добу активність цього ензиму зменшилась на 11% ( $P<0,001$ ) порівняно з 1-шою (контрольною) групою

**Таблиця.** Показники активності ензимів глутатіонової системи та пентозо-фосфатного шляху ( $M\pm m$ ,  $n=7$ )

**Table.** Indicators of the activity of enzymes of the glutathione system and the pentose-phosphate pathway ( $M\pm m$ ,  $n=7$ )

Показники Indexes	Групи тварин / Animals groups				
	1-ша контрольна 1 <sup>st</sup> control	2-1-а доба 2 <sup>nd</sup> -1 <sup>st</sup> day	3-10-а доба 3 <sup>rd</sup> -10 <sup>th</sup> day	4-20-а доба 4 <sup>th</sup> -20 <sup>th</sup> day	5-30-а доба 5 <sup>th</sup> -30 <sup>th</sup> day
Глутатіонпероксидаза, нмоль глутатіону/хв*мг протеїну Glutathione peroxidase, Nmol of glutathione/min*mg of protein	0,52±0,07	0,38±0,12*	0,33±0,08#	0,72±0,09**	0,63±0,10**
Глутатіонтрансфераза, нмоль/хв*мг протеїну Glutathione transferase, nmol/min*mg protein	3,2±0,26	3,64±0,29*	6,67±0,20#	6,86±0,30**	5,32±0,36**
Глутатіонредуктаза, нмоль NADPH/хв мг протеїну Glutathione reductase, nmol NADPH/min mg protein	0,31±0,02	0,35±0,06*	0,28±0,03#	1,16±0,08**	0,73±0,06**
Глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа, мкмоль НАДФ/хв*мг протеїну Glucose-6-phosphate dehydrogenase, μmol NADP/min*mg protein	0,57±0,04	0,98±0,09*	0,71±0,03#	0,40±0,09**	0,48±0,02**

*Примітка.* Тут і далі: \* — вірогідність порівняно з показниками 1-ої (контрольної) групи тварин ( $P<0,001$ );

# — вірогідність порівняно з показниками 2-ої групи тварин ( $P<0,001$ ).

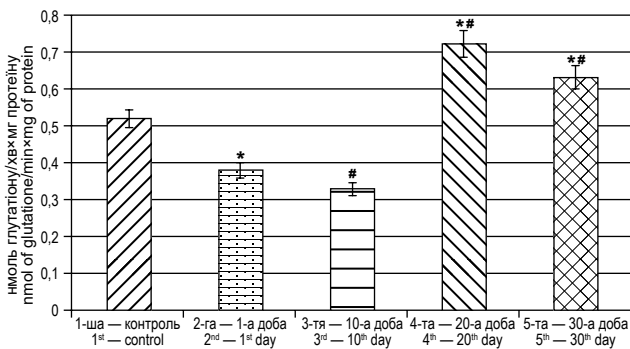
*Note.* Here and further: \* — significance compared to the indicators of the 1<sup>st</sup> (control) group of animals ( $P<0.001$ );

# — significance compared to the indicators of the 2<sup>nd</sup> group of animals ( $P<0.001$ ).



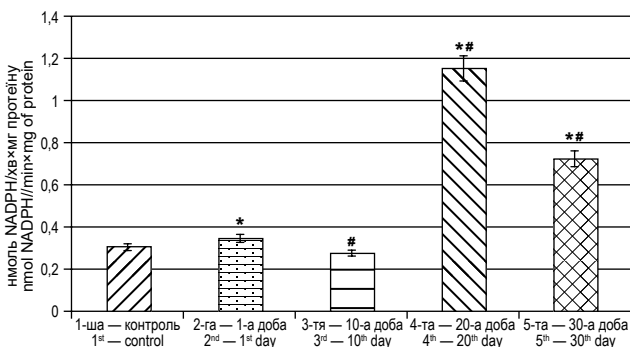
тварин (рис. 3). Диференційний аналіз показників активності глутатіонредуктази дозволив встановити, що найбільше значення цього показника спостерігали на 20-ту добу проведення дослідження порівняно з іншими групами тварин.

Повноцінне функціонування системи глутатіону забезпечується достатнім рівнем НАДФН, який утворюється в пентозофосфатному циклі завдяки активності глюкозо-6-фосфатдегідрогенази [КФ1.1.1.49] [8]. Дослідження цього ферменту в мозку тварин, які споживали енергонапій, показало максимальне підвищення активності на 1-шу добу на 41% ( $P < 0,001$ ) порівняно з контрольною групою тварин (рис. 4). У наступні періоди експерименту спостерігали зниження цього показника, найбільш істотне, на 29,8% — на 20-ту добу після завершення прийому енергонапою. Зниження активності глюкозо-6-фосфатдегідрогенази може призводити до дефіциту відновленого глутатіону в мітохондріях, внаслідок чого посилено утворюються активні форми кисню та нітрогену — пероксинітрит та іон нітронія [3, 4]. Нагромадження активних форм кисню сприяє окисненню цистеїнозалежних ділянок протеїнів, переокисненню ліпідів та активації вільнорадикальних реакцій мітохондріальної мембрани і формуванню мітохондріальної дисфункції, що ініціює апоптичну загибель цілої нейрональної клітини [8, 9].



**Рис. 1.** Активність глутатіонпероксидази головного мозку щурів під впливом енергонапою ( $M \pm m$ ,  $n=7$ )

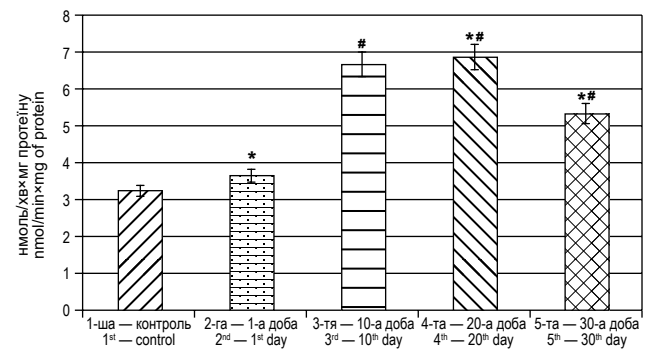
**Fig. 1.** Activity of glutathione peroxidase in the brain of rats under the influence of an energy drink ( $M \pm m$ ,  $n=7$ )



**Рис. 3.** Активність ферменту глутатіонредуктази головного мозку щурів під впливом енергонапою ( $M \pm m$ ,  $n=7$ )

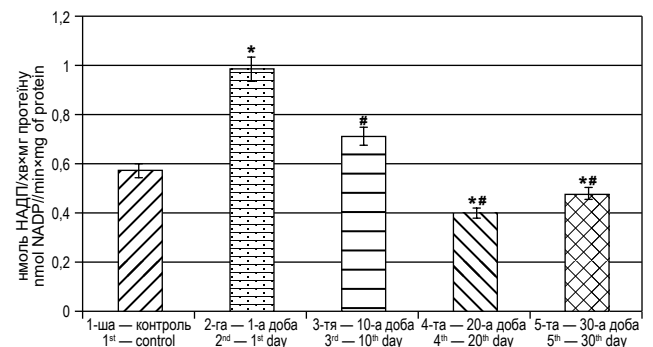
**Fig. 3.** Activity of the glutathione reductase enzyme in the brain of rats under the influence of an energy drink ( $M \pm m$ ,  $n=7$ )

Як видно з результатів табл., внаслідок споживання енергетичних напоїв тваринами в 2-й групі спостерігали різнонапрямлений характер змін: незначне підвищення активності більшості глутатіонзалежних ( $P < 0,001$ ) ферментів нейрональних клітин та зниження активності глутатіонпероксидази. Це може свідчити про пригнічення функціонування даного ферменту і як наслідок — накопичення продуктів пероксидації ліпідів та активних форм кисню. Проте в щурів 4-ї групи на 20-ту добу після припинення споживання енергонапою активність усіх ферментів, а саме глутатіонпероксидази, глутатіонредуктази та глутатіонтрансферази досягає максимальних значень ( $P < 0,001$ ). Такі зміни можуть бути в результаті впливу енергетичних напоїв або їхніх складових компонентів на структуру ферментів чи біодоступність активаторів, необхідних для ферментативного процесу. За результатами діаграм можна побачити, що внаслідок відміни енергонапою відновлюється вихідна здатність активності ферментів глутатіонової системи. Абсолютно інші зміни стосуються глюкозо-6-фосфатдегідрогенази — регуляторного ферменту ПФШ, активність якого на першу добу відміни стрімко зростає ( $P < 0,001$ ) та зумовлює інтенсивне використання глюкози нейронами для утворення НАДФН+Н<sup>+</sup>, а вже на 20-ту добу — знижується ( $P < 0,001$ ).



**Рис. 2.** Активність глутатіонтрансферази головного мозку щурів під впливом енергонапою ( $M \pm m$ ,  $n=7$ )

**Fig. 2.** Activity of glutathione transferase in the brain of rats under the influence of an energy drink ( $M \pm m$ ,  $n=7$ )



**Рис. 4.** Активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази головного мозку щурів під впливом енергонапою ( $M \pm m$ ,  $n=7$ )

**Fig. 4.** Activity of glucose-6-phosphate dehydrogenase in the brain of rats under the influence of an energy drink ( $M \pm m$ ,  $n=7$ )

Отже, за умов споживання енергонапою знижується активність глутатіонпероксидази, що засвідчує послаблення антиоксидантної системи. Після відміни енергонапою підвищується активність всіх глутатіонзалежних ферментів, проте знижується активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази, що може призводити до порушення функціональної стійкості нейронів. Отримані дані дозволяють стверджувати, що споживання енергетичних напоїв зумовлює значні зміни в функціонуванні системи антиоксидантного захисту, а саме активності глутатіонової системи головного мозку, що може спричинити розлади в фізіологічній діяльності живого організму.

## Джерела

1. Ali F, Rehman H, Babayan Z, Stapleton D, Joshi DD. Energy drinks and their adverse health effects: a systematic review of the current evidence. *Postgrad. Med.* 2015; 127 (3): 308–322. DOI: 10.1080/00325481.2015.1001712.
2. Azagba S, Langille D, Asbridge M. An emerging adolescent health risk: caffeinated energy drink consumption patterns among high school students. *Prevent. Med.* 2014; 62: 54–59. DOI: 10.1016/j.ypmed.2014.01.019.
3. Anistratenko TI, Bilko TM, Blagodarova OV. *Food Hygiene with the Basics of Nutritiology*. In 2 parts. Part 1. A textbook; ed. by VI Tsypryan. Kyiv, Medicine. 2016: 528 p. ISBN 966-8144-52-X. (in Ukrainian)
4. Bunting H, Baggett A, Grigor J. Adolescent and young adult perceptions of caffeinated energy drinks. A qualitative approach. *Appetite.* 2013; 65: 132–138. DOI: 10.1016/j.appet.2013.02.011.
5. Costa BM, Hayley A, Miller P. Young adolescents' perceptions, patterns, and contexts of energy drink use. A focus group study. *Appetite.* 2014; 80: 183–189. DOI: 10.1016/j.appet.2014.05.013.
6. Desbrow B, Leveritt M. Well-trained endurance athletes' knowledge, insight, and experience of caffeine use. *Int. J. Sport Nutr. Exercise Metab.* 2007; 17 (4): 328–339. DOI: 10.1123/ijnsnem.17.4.328.
7. Larson N, Laska MN, Story M, Neumark-Sztainer D. Sports and energy drink consumption are linked to health-risk behaviors among young adults. *Public Health Nutr.* 2015; 18 (15): 2794–2803. DOI: 10.1017/S1368980015000191.
8. Partsei KY, Ersteniuk HM. Activity of glutathione system of erythrocytes under consumption of energy drink. *Sci. Europe.* 2022; 92 (92): 3–7. DOI: 10.5281/zenodo.6532820.
9. Reissig CJ, Strain EC, Griffiths RR. Caffeinated energy drinks — a growing problem. *Drug Alc. Depend.* 2009; 99 (1–3): 1–10. DOI: 10.1016/j.drugalcdep.2008.08.001.
10. Reid JL, Hammond D, McCrory C, Dubin JA, Leatherdale ST. Use of caffeinated energy drinks among secondary school students in Ontario: Prevalence and correlates of using energy drinks and mixing with alcohol. *Canad. J. Publ. Health.* 2015; 106: 101–108. DOI: 10.17269/CJPH.106.4684.
11. Seifert SM, Schaechter JL, Hershorin ER, Lipshultz SE. Health effects of energy drinks on children, adolescents, and young adults. *Pediatr.* 2011; 127 (3): 511–528. DOI: 10.1542/peds.2009-3592.
12. Seifert SM, Seifert SA, Schaechter JL, Bronstein AC, Benson BE, Hershorin ER, Arheart KL, Franco VI, Lipshultz SE. An analysis of energy-drink toxicity in the National Poison Data System. *Clin. Toxicol.* 2013; 51 (7): 566–574. DOI: 10.3109/15563650.2013.820310.

## The state of the glutathione system of the cerebral of rats under the conditions of energy drink consumption

N. I. Lytvyniuk, A. M. Ersteniuk  
natallitvyniuk.ifnmu@gmail.com

Ivano-Frankivsk National Medical University, 2 Halytska str., Ivano-Frankivsk, 76018, Ukraine

The paper presents the results of studies of the energy drink influence on the state of the glutathione system of the rat brain. Energy tonics belong to a group of drinks containing a large number of active components that are able to stimulate the central nervous system of a person and to increase physical performance, as well as to affect circadian rhythms, extending the period of wakefulness. Literary sources also indicate the negative impact of energy drinks on certain functional systems of the human body. The study was carried out on white rats of the *Wistar* line weighing 180–200 g, which were on a standard vivarium diet under regulated microclimate parameters (humidity, lighting and temperature regime). All experiments on animals were conducted in compliance with the requirements of the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Scientific Purposes (Strasbourg, 1986). A non-inhalation method of anesthesia was used to collect the necessary material, namely intramuscular injection of sodium thiopental at the rate of 60 mg/kg. The experimental animals were divided into 5 groups according to the logical criterion of sample formation: 1<sup>st</sup> (control group) — rats received drinking water; 2<sup>nd</sup> — the animals received an energy drink for a month, the material was collected on the 1<sup>st</sup> day after the end of energy drink consumption; 3<sup>rd</sup> — animals that received an energy drink for a month, the material was collected on the 10<sup>th</sup> day after the end of the experiment; 4<sup>th</sup> — the animals received an energy drink for a month, the material was collected on the 20<sup>th</sup> day after the end of the experiment; 5<sup>th</sup> — the rats received an energy drink for a month, the material was collected on the 30<sup>th</sup> day after the end of the experiment. Determination of the activity of enzymes of the glutathione system (glutathione reductase, glutathione peroxidase and glutathione transferase) and the enzyme of the pentose phosphate pathway (glucose-6-phosphate dehydrogenase) was performed using the enzymatic method. The consumption of an energy drink by experimental groups of animals leads to changes in the activity of enzymes of the glutathione system: an increase in the activity of glutathione reductase in the 2<sup>nd</sup>, 4<sup>th</sup>, 5<sup>th</sup> groups, at the same time as a decrease in the activity of this enzyme in representatives of the 3<sup>rd</sup> group of animals, the activity of glutathione peroxidase increased in the 4<sup>th</sup>, 5<sup>th</sup> and decreased in 2<sup>nd</sup> and 3<sup>rd</sup> groups, an increase in glutathione transferase activity was observed in all experimental animals. The activity of the enzyme glucose-6-phosphate dehydrogenase increased in 2.3 and decreased in 4.5 studied groups. The obtained results demonstrated a significant influence of the energy drink on the state of antioxidant protection of the brain tissues of experimental animals, in particular on the state of the glutathione system. The interpretation of enzyme activity indicators proves that energy group drinks can lead to further violations of the ability to maintain the stability of the body's internal environment.

**Key words:** laboratory rats, energy drink, brain, glutathione system, glutathione peroxidase, glutathione transferase, glutathione reductase, glucose-6-phosphate dehydrogenase



## Імунобіологічна реактивність організму корів за дисфункції яєчників

О. О. Боднар  
bodnar.vetdoc@gmail.com



Подільський державний університет, вул. Шевченка, 13, м. Кам'янець-Подільський, Хмельницька обл., 32316, Україна

### ORCID:

О. О. Bodnar <https://orcid.org/0000-0001-6161-6835>

### Authors' Contributions:

BOO: Conceptualization; Data curation; Formal analysis; Investigation; Methodology; Project administration; Supervision; Writing — original draft, review & editing.

### Declaration of Conflict of Interests:

None to declare.

### Ethical approval:

Not applicable.

### Acknowledgements:

None.



Attribution 4.0 International  
(CC BY 4.0)

Відомо, що імунний статус організму самки динамічно змінюється на усіх етапах як фізіологічного, так і патологічного стану репродуктивної системи. У роботі наведені результати наукового пошуку та аналізу імунологічних досліджень організму корів за дисфункції яєчників. Вивчено характер та особливості взаємозв'язків між показниками імунітету і статеві функції неплідних корів до і після лікування. Метою досліджень було вивчити динаміку деяких морфологічних і біохімічних показників крові та імунного статусу організму корів з функціональними розладами яєчників. Установлені певні особливості імунного захисту організму корів з персистентним жовтим тілом яєчника та з гіпофункцією яєчників. Результати наших досліджень підтвердили та доповнили встановлені раніше дані про зміни гематологічних та імунологічних показників організму корів з патологією яєчників. Установлено, що розвиток цієї патології супроводжувався імунодефіцитним станом організму, розладами клітинної і гуморальної ланок імунітету, зниженням показників неспецифічного захисту. Оваріальна дисфункція у корів переважно розвивається на тлі імуносупресії та дефіциту показників клітинного захисту організму, що доповнювався зниженням вмісту в крові еритроцитів, гемоглобіну та загального білка. Суттєве зростання вмісту в крові хворих корів "0"-мононуклеарів свідчить про порушення механізму диференціації лімфоцитів, що негативно відображається на формуванні імунної відповіді організму. Дисбаланс вмісту окремих популяцій лімфоцитів вказує на необхідність імунокорекції з метою підвищення вмісту В- та Т-клітин, що, відповідно, призведе до зменшення частки малоактивних "0"-лімфоцитів, сприятиме відновленню механізмів імунного захисту організму корів. Зниження показників окремих факторів імунобіологічної реактивності організму корів з патологією гонад обґрунтовує необхідність застосування загальностимулювальних препаратів з імуномодельовальним ефектом.

**Ключові слова:** імунітет, лімфоцити, анафродизія, гіпофункція, імунодефіцит, жовте тіло, гомеостаз, неплідність, фертильність

### Вступ

Однією з актуальних проблем відтворення молочного стада є анафродизія. За даними літератури, частота порушень статевої циклічності або неповноцінного

прояву феноменів стадії збудження статевого циклу в корів становить від 5 до 76% [11, 13, 7]. За даними багатьох дослідників, однією з основних безпосередніх причин неплідності корів є морфофункціональні розлади статевої системи, з яких на перше місце

ставляють гіпофункцію яєчників та персистенцію жовтого тіла. Оваріопатії корів, які супроводжуються анафродизією, зумовлюють значні економічні збитки у тваринництві через подовження терміну між отеленням і осіменіннями, зниженням заплідненості, збільшенням розмірів неплідності для стада. Усе це призводить до підвищення собівартості продукції та зменшення рентабельності виробництва молока. Саме тому ця патологія становить актуальну проблему ветеринарної репродуктології та потребує подальшого ґрунтовного вивчення [11, 3, 4, 1, 6].

На думку більшості авторів, хвороби органів відтворення у корів та телиць треба розглядати як прояв загального захворювання організму. Тому в основі ранньої діагностики та профілактики гінекологічних хвороб має лежати принцип моніторингу показників — імунологічних, гематологічних, біохімічних, а також гомеостазу організму, який, поряд з клінічними дослідженнями, дозволить виявити дисфункцію репродуктивних органів на ранніх стадіях патогенезу [9, 10, 14]. Відомо, що репродуктивна функція самок суттєво пов'язана з системою імунного захисту організму. Численні дослідження доводять, що розвиток більшості патологій в статевій системі самок супроводжується імунодефіцитом, дисбалансом клітинної і гуморальної ланок імунітету, зниженням показників неспецифічного захисту організму [7, 8, 13]. Сучасна клінічна імунологія має в арсеналі велику кількість лабораторних методів, які дозволяють з високою точністю встановити порушення імунного гомеостазу та виявити дефекти в усіх її ланках. Для діагностики імунної недостатності в людей і тварин в практичних умовах застосовують поетапну (два чи три етапи) схему оцінки імунного статусу [2, 5, 12].

**Метою дослідження було** визначити та проаналізувати показники крові та імунного статусу організму неплідних корів за функціональних розладів яєчників.

## Матеріали і методи

Матеріалом для досліджень були корови української молочної чорно-рябої породи віком 5–6 років з надоем молока за попередню лактацію 5–6 тис. кг. Усі досліді проведені на коровах-аналогах із врахуванням їхнього віку, маси тіла та продуктивності, фізіологічного стану тощо. Тварин утримували в типових приміщеннях із задовільними параметрами мікроклімату, годівля переважно відповідає їхньому фізіологічному стану та продуктивності. За піддослідними тваринами тривав постійний ветеринарний нагляд, проводили біохімічні та гематологічні дослідження крові, аналіз раціонів, моніторинг молочної продуктивності тощо.

Під час проведення досліджень для виявлення корів з функціональними захворюваннями яєч-

ників враховували анамнез, дані щодо характеру їхньої статевої циклічності та результати трансректального обстеження гонад. Реакцію-відповідь корів на проведені лікування визначали за появою в яєчниках функціональних утворень та відновленням статевої циклічності з подальшою овуляцією і утворенням жовтого тіла статевого циклу.

За періодами дослідів у корів брали кров з яремної та молочної вени з подальшим визначенням низки гематологічних, біохімічних та імунологічних показників. У досліді використовували як цільну кров, так і її сироватку. У фізіологічно здорових корів контрольної групи забір крові проводили одноразово, у хворих корів — двічі: перед початком лікування та після клінічного одужання.

Лабораторні дослідження проводили за розробленою імунологічною тест-картою [12]. Тестування факторів імунобіологічної резистентності та імунного статусу організму охоплювали визначення:

— вмісту Т-, В-, «0»-лімфоцитів у реакціях розеткоутворення клітин з еритроцитами барана в різних модифікаціях;

— вмісту циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) в реакції преципітації з поліетиленгліколом (ПЕГ-6000);

— бактерицидної активності сироватки крові (БАСК);

— лізоцимної активності сироватки крові (ЛАСК).

Досить інформативним та зручним критерієм оцінки стану імунного гомеостазу, на наш розсуд, виявився показник, який виражає рівень дисфункції (глибину) імунних розладів (Д), який вираховується за формулою:

$$D = \left( \frac{ПХ}{СПН} - 1 \right) \times 100,$$

де ПХ — показник хворого;

СПН — середній показник в нормі.

Якщо отриманий результат має негативне значення, то це свідчить про імунодефіцит; результат зі знаком «плюс» — навпаки, про гіперфункцію цього імунного показника. Виділяють три ступені дисфункції імунітету: за першого показник Д коливається в межах 1–33%, за другого — 34–66%, а за третього сягає 67% і вище. Вважається, що перший ступінь імунної дисфункції буває у здорових тварин і не потребує імунокорекції. Другий ступінь свідчить про суттєві порушення в системі імунітету, а тварини з третім ступенем вимагають невідкладної імунотерапії [12, 13].

## Результати й обговорення

Проведені клініко-експериментальні дослідження є одним із етапів науково-дослідної роботи кафедри ветеринарного акушерства, внутрішньої патології та хірургії Подільського державного університету з розробки та впровадженню ефективних лікувальних

профілактичних заходів для боротьби з анафродизією корів, методів відновлення та підвищення відтворної здатності тварин, імунодіагностики та імунокорекції їхнього організму.

За проведення імунологічних досліджень ми строго дотримувалися методики дослідження на всіх етапах, створювали стандартні умови від початку приготування реактивів та виділення біоматеріалу (клітин та сироватки крові) до підрахунку та встановлення результатів тестування. Цих вимог та правил щодо проведення імунологічних тестувань ми дотрималися, що підтвердили стабільність результатів реакції РУК і незначна похибка отриманих показників.

Аналіз динаміки показників імунокомпетентних клітин дослідних (хворих) та контрольних (клінічно здорових, КЗ) корів свідчить про певні закономірності клітинного імунітету організму самок з персистентним жовтим тілом яєчника (ПЖТ) та гіпофункцією яєчників (ГЯ) (табл. 1).

**Таблиця 1.** Показники імунокомпетентних клітин у піддослідних корів (M±m, n=10)  
**Table 1.** Indicators of immunocompetent cells in experimental cows (M±m, n=10)

Показник Indicator	Групи корів / Groups of cows		
	ПЖТ / РУВ	ГЯ / ОН	КЗ / СН
Лімфоцити, % Lymphocytes, %	63,42±2,43	61,76±1,46	65,80±2,33
Т-лімфоцити, % T-lymphocytes, %	42,06±1,89	39,04±1,54*	44,20±1,59
В-лімфоцити, % B-lymphocytes, %	19,12±0,80	20,34±1,02	18,02±1,00
«0»-лімфоцити, % "0"-lymphocytes, %	38,80±1,08	40,62±1,44	37,0±1,82
Т : В	2,21±0,19*	1,92±0,16**	2,43±0,20
Т-індекс / T-index	0,87±0,03*	0,84±0,04*	0,92±0,01

*Примітка.* \* — P<0,05; \*\* — P<0,01 — стосовно групи КЗ.  
*Note.* \* — P<0,05; \*\* — P<0,01 — relative to group СН.

Встановлено, що вміст у венозній крові корів за цих оваріопатій загальної популяції лімфоцитів був нижчим за контрольні показники, проте така різниця була невірогідною і в середньому не перевищувала 3,5%. Результати досліджень клітинних і гуморальних факторів резистентності показали, що у крові корів усіх груп найменш лабільною виявилася В-ланка імунного захисту: у самиць з персистентним жовтим тілом яєчника та з гіпофункцією яєчників не було вірогідної різниці між показниками вмісту В-клітин порівняно зі здоровими тваринами. Це можна пояснити відсутністю гострих запальних процесів в яєчниках корів за цих оваріопатій, а також їх хронічним перебігом.

У наших дослідженнях встановлено, що перебіг персистенції жовтого тіла яєчника та гіпофункції яєчників у корів супроводжувався певною перебувальною Т-системи імунітету. У корів з гіпофункцією яєчників, порівняно зі здоровими, встановлено вірогідне зниження вмісту Т-клітин на 5,1% (P<0,05),

у корів з персистентним жовтим тілом яєчника ця різниця сягала 2,1%. Варто вказати, що вміст Т-клітин у крові корів у всіх групах був вірогідно нижчим від їх середньостатистичного фізіологічного показника (Тн. = 55%), а D-клітин — навпаки, дещо його перевищував (Вн. = 17%). Таке зниження вмісту Т-лімфоцитів у крові хворих корів (групи ПЖТ і ГЯ) спричинило вірогідне падіння відносних показників імунного статусу їх організму. Установлено, що співвідношення Т- і В-лімфоцитів корів з гіпофункцією яєчників було на 26,1% нижчим (P<0,01) порівняно зі здоровими тваринами, а в корів з персистентним жовтим тілом яєчника — на 10,1% (P<0,05). Це ж стосується і показника Т-індексу: у групі ГЯ він був нижчим на 8,6% порівняно з клінічно здоровими тваринами (P<0,01), у групі ПЖТ — відповідно, на 5,4% (P<0,05).

На підставі проведених досліджень можна стверджувати, що таке зниження показників Т-індексу та співвідношення Т- і В-лімфоцитів свідчить про суттєвий дисбаланс клітинного імунітету організму корів з персистентним жовтим тілом та гіпофункцією яєчників. Це можна пояснити тим, що навіть після нормального отелення організм самки підвищено чутливий до несприятливого впливу довкілля, внутрішніх змін гомеостазу організму, пов'язаного з особливостями його перебудови у післятотельний період, а також за розвитку дисфункції в ендокринній та статевій системі самок.

Аналіз значень дисфункції показників імунокомпетентних клітин дає чіткішу картину імунного дисбалансу в організмі корів із захворюваннями яєчників (табл. 2).

**Таблиця 2.** Показники ступеня дисфункції імунокомпетентних клітин у піддослідних корів, %  
**Table 2.** Indicators of the degree of immunocompetent cells dysfunction in experimental cows, %

Показник Indicator	Групи корів / Groups of cows		
	ПЖТ / РУВ	ГЯ / ОН	КЗ / СН
Т-лімфоцити, % / T-lymphocytes, %	-24,36 (I)	-29,16 (I)	-16,91 (I)
В-лімфоцити, % / B-lymphocytes, %	10,26 (I)	18,24 (I)	5,88 (I)
«0»-лімфоцити, % / "0"-lymphocytes, %	35,50 (II)	40,36 (II)	30,08 (I)
Т-індекс / T-index	-15,40 (I)	-27,02 (I)	2,22 (I)

*Примітка.* Ступінь дисфункції вказано в дужках.  
*Note.* The degree of dysfunction is indicated in parentheses.

Результати проведених досліджень свідчать, що рівень дисфункції останніх в усіх групах корів не перевищував I ступеня, причому було встановлено як гіпофункцію, так і гіперфункцію тестованих показників. Це свідчить про необхідність імунокорекційної терапії хворих корів з метою нейтралізації імуносупресорних механізмів, які активуються після отелення та супроводжують розвиток гіпофункції і персистенції жовтого тіла залози.

Варто зауважити, що абсолютне зростання вмісту В-клітин в крові хворих корів спричинило помірну гіперфункцію В-ланки імунітету, а супресія показників Т-клітин свідчить про її гіпофункцію, що у дослідних групах переважно впритул наблизилися до II ступеня дисфункції. Особливо це стосується показників Т-лімфоцитів і Т-індексу в корів з гіпофункцією яєчників, що свідчить про критичний дефіцит клітинної ланки імунітету. Ще суттєвіші відхилення, але в напрямку гіперфункції, були виявлені щодо показників «0»-лімфоцитів: рівень їхньої дисфункції (групи ПЖТ та ГЯ) сягав II ступеня, що в середньому на 12% перевищувало фізіологічні показники. Це свідчить про дисбаланс клітинного захисту організму, що, ймовірно, пов'язано з тривалим антигенним впливом під час тільності та ендокринними зрушеннями в післяотельний період, які негативно впливають на процеси диференціації лімфоцитів та індукують суттєве зростання рівня «нульових» мононуклеарів. Виявлений дисбаланс популяції лімфоцитів вказує на необхідність імунокорекції з метою збільшення вмісту в крові В- і особливо Т-клітин, що, відповідно, призведе до зменшення частки низькодиференційованих та малоактивних «0»-лімфоцитів та сприятиме відновленню клітинної ланки імунного захисту організму корів.

Як видно з табл. 3, перебіг патологічних процесів в яєчниках корів з боку факторів неспецифічного захисту організму характеризувався незначними коливаннями їхніх показників.

**Таблиця 3.** Показники неспецифічного захисту піддослідних корів ( $M \pm m$ ,  $n=10$ )

**Table 3.** Indicators of non-specific protection of experimental cows ( $M \pm m$ ,  $n=10$ )

Показники Indicators	Групи корів / Groups of cows		
	ПЖТ / РҮВ	ГЯ / ОН	КЗ / СН
БАСК, % / BABS, %	58,60±4,52	60,68±3,52	64,60±2,42
ЛАСК, % / LABS, %	23,26±2,04	22,03±3,52	20,18±1,66
ЦІК, од. опт. щільн. CIC, un. opt. density	103,36±6,70	115,84±2,10	108,56±8,40

Аналіз їх у всіх групах корів не виявив певних закономірностей та суттєвих розбіжностей (різниця невірїодна), що свідчить про відсутність тісного взаємозв'язку між рівнем неспецифічного захисту організму і перебігом персистенції жовтого тіла та гіпофункції яєчників. Установлено, що рівень БАСК у корів з оваріопатіями не перевищував 6,0%, а ЛАСК — відповідно, 2,1% порівняно з КЗ, дослідження в сироватці крові хворих та клінічно здорових корів вмісту ЦІК також не виявили вірогідної різниці. Водночас спостерігали зниження на 5,5% рівня ЦІК у крові корів з персистентним жовтим тілом яєчника щодо контролю, тоді як у корів з гіпофункцією яєчників їхній рівень, відповідно, зріс на 6,2%.

Результати проведених досліджень підтвердили та доповнили встановлені раніше дані про зміни

гематологічних та імунологічних показників організму корів з патологією яєчників. Моніторинг лімфоцитарного профілю крові та інтегральних показників імунного статусу організму свідчить про дисфункцію механізмів природнього захисту за гіпофункції яєчників, які суттєво різняться як від фізіологічних, так і середньостатистичних величин, що відповідає даним інших дослідників [7, 13]. Встановлено, що дистрофічні та морфологічні зміни в яєчниках корів, які виникають на фоні нейро-ендокринних розладів, супроводжуються порушеннями функціонального стану системи імунобіологічного захисту організму. Наші дослідження підтверджують, що певне значення у розвитку персистенції жовтого тіла та гіпофункції яєчників корів має дисфункція показників як природньої резистентності, так і дисбаланс основних показників імунного статусу організму. Тому для досягнення оптимальних результатів лікування корів з такими оваріопатіями необхідно врахувати стан імунобіологічних механізмів захисту організму, проводити їх моніторинг під час лікування, в період ремісії та після одужання тварин [2, 5, 8].

Результати проведених імунобіологічних досліджень свідчать, що перебіг персистенції жовтого тіла та гіпофункції яєчників у корів відбувається на фоні дисфункції, переважно у бік пригнічення імунобіологічного захисту їх організму, що обґрунтовує доцільність застосування стимулювальної терапії з метою нормалізації імунного статусу та відновлення стаєвої циклічності.

## Джерела

- Bodnar O. Complex use of biostimulants in anaphrodisiacs in cows. *Agr. Bull. Black Sea Littoral*. Odesa. 2022; 102–103: 60–64. DOI: 10.37000/absl.2022.102.11. (in Ukrainian)
- Chapel H, Haeney M, Misbah S, Snowden N. *Clinical Immunology*. Oxford, Blackwell Science Ltd. 2009: 352 p.
- Ferguson J. Ovarian Dysfunction in Dairy Cows. *WCDS Advances in Dairy Technology*. 2017; 29: 173–181. Available at: <https://wcds.ualberta.ca/wcds/wp-content/uploads/sites/57/2018/05/p-173-184-Ferguson.pdf>
- Kumar P, Singh M. Prevalence of various etiological factors responsible for causing infertility in cows of Himachal Pradesh, India. *Explor. Anim. Med. Res.* 2018; 8 (2): 164–167. Available at: <https://www.researchgate.net/publication/330712191>
- Kuznetsova LV, Babajan VD, Frolov VM, Kravchun PH (eds.). *Clinical and laboratory immunology. A textbook*. Kyiv, Poligraph Plus, 2012: 922 p. ISBN 978-966-8977-08-4. Available at: <https://repo.knmu.edu.ua/handle/123456789/1291> (in Ukrainian)
- Long ST, Gioi PV, Suong NT. Some factors associated with ovarian disorders of dairy cattle in Northern Vietnam. *Trop. Anim. Sci. J.* 2021; 44 (2): 240–247. DOI: 10.5398/tasj.2021.44.2.240.
- Mezhenska NA. *Immunostimulating and replacement therapy for ovarian hypofunction in cows*. A Monograph. Kyiv, 2013: 179 p. (in Ukrainian)
- Skivka LM. *Immunology of Reproduction*. Kyiv, 2009: 152 p. (in Ukrainian)
- Song Y, Cheng J, Yu H, Wang Z, Bai Y, Xia C, Xu C. Early warning for ovarian diseases based on plasma non-esterified fatty acid and calcium concentrations in dairy cows. *Front. Vet. Sci.* 2021; 8: 792498. DOI: 10.3389/fvets.2021.792498.

10. Vlasova AN, Saif LJ. Bovine immunology: implications for dairy cattle. *Front. Immunol.* 2021; 12: 643206. DOI: 10.3389/fimmu.2021.643206.
11. Yablonsky VA. The problem of animal reproduction: status and prospects. *NAU Bulletin.* 2008; 57: 169–173. (in Ukrainian)
12. Yablonskyi V, Bodnar O, Zhelavskyi M. Regarding the method of immunological examinations. *Vet. Med. Ukr.* 2001; 6: 46. (in Ukrainian)
13. Zakharova TV. Etiopathogenetic connection of ovarian pathology in cows with dysfunction of the immune system and methods of their biocorrection. Diss. PhD Vet. Sci. 16.00.07. *Vet. obstetrics.* Lviv, LNUVMBT named after S. Z. Gzhytskyj, 2013: 155 p. (in Ukrainian)
14. Zobel R, Pipal I, Buić V. Anovulatory estrus in dairy cows: treatment options and the influence of breed, parity, heredity and season on its incidence. *Vet. Archiv.* 2012; 82 (3): 239–249. Available at: <http://vetarhiv.vet.unizg.hr/papers/2012-82-3-2.pdf?ci=sdgnsidjegcgmchsomilncd>

## Immunobiological reactivity of the body in cows with ovarian dysfunction

O. O. Bodnar  
bodnar.vetdoc@gmail

Podillia State University, 13 Shevchenko str., Kamianets-Podilskyi, Khmelnytsky region, 32316, Ukraine

It is known that the immune status of the female organism changes dynamically at all stages of both the physiological and pathological state of the reproductive system. The work presents the results of scientific research and analysis of immunological studies in cows with ovarian dysfunction. We studied the nature and peculiarities of the relationships between the indicators of immunity and sexual function of infertile cows before and after treatment. The purpose of the research was to find out the dynamics of some morphological and biochemical blood indicators and the immune status of the body in cows with functional disorders of the ovaries. Certain regularities of the immune status in cows with persistent *corpus luteum* of the ovary and hypofunction of the ovaries have been established. The results of our research confirmed and supplemented previously established data on changes in hematological and immunological indicators in cows with ovarian pathology. It was established that the development of this pathology was accompanied by an immunodeficient state of the body, disorders of the cellular and humoral links of immunity, and a decrease in indicators of non-specific protection. Ovarian dysfunction in cows mainly develops against the background of immunosuppression and deficiency of indicators of cellular protection of the body, which was supplemented by a decrease in the content of erythrocytes, hemoglobin and total protein in the blood. A significant increase in the content of "0" mononuclear cells in the blood of sick cows indicates a violation of the mechanisms of lymphocyte differentiation, which negatively affects the formation of the body's immune response. The imbalance of individual lymphocyte populations indicates the need for immunocorrection in order to increase the content of B and T cells, which will, accordingly, lead to a decrease in the share of low-active "0"-lymphocytes, and will contribute to the restoration of the immune defense mechanisms of the cows' body. The decrease in indicators of individual factors of immunobiological reactivity of the body of cows with gonadal pathology substantiates the need for the use of general stimulating drugs with an immunomodulating effect.

**Key words:** immunity, lymphocyte, anaphrodisia, hypofunction, immunodeficiency, lymphocyte, *corpus luteum*, homeostasis, infertility, hypofunction, fertility

# Тези доповідей

## XXI Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих вчених,

присвяченої 100-річчю від дня народження  
доктора біологічних наук, професора  
**Василя Юхимовича Шавкуна**

*18–19 травня 2023 року, м. Львів, Україна*



## Abstracts of reports

## XXI All-Ukrainian Scientific and Practical Conferention of Young Scientists,

dedicated to the 100<sup>th</sup> anniversary of birth  
of Doctor of biological sciences, professor  
**Vasyl SHAVKUN**

*May 18<sup>th</sup>–19<sup>th</sup>, 2023, Lviv, Ukraine*



## Особливості утримання та розведення аксолотля *Ambystoma mexicanum* (Shaw & Nodder, 1789) як модельного об'єкта біологічних досліджень

Б. Андрішун

bohdanoksalat@gmail.com

Національний науково-дослідний реставраційний центр України, Львівська філія, м. Львів, Україна

На сьогодні в Україні зокрема амфібії не є дуже популярними як лабораторні та модельні тварини і значно поступаються дрібним ссавцям. Проте вони є хорошими об'єктами як у лабораторних, так і в навчальних цілях [Voss S. et al., 2009]. Останнє стосується насамперед університетів та шкіл, де учні та студенти могли б отримувати досвід спостереження за поведінкою, живленням, розмноженням та етапами розвитку потомства. Наголошуємо, що мова в конкретному випадку не йде про розтини, забір крові та обтинання частин тіла тварин. Тому метою нашої роботи є апробувати класичні методики утримання в неволі аксолотля мексиканського *Ambystoma mexicanum*, відслідкувати основні труднощі у стимуляції нересту та забезпеченні оптимального розвитку цієї тварини.

За об'єкт дослідження ми взяли личинку амбістоми мексиканської — аксолотля *Ambystoma mexicanum* (Shaw & Nodder, 1789). У наших акваріумах ми утримували та розводили альбіносну форму аксолотля. Наголошуємо на неприпустимості спільного утримання різних видів амфібій, риб та членистоногих в одному акваріумі через різні розміри та різну комфортну температуру, а також територіальність і сприймання більшими особинами менших за їжу. Оптимальна температура для аксолотля — 18–20°C. Об'єм акваріума підбирали з розрахунку приблизно 40 л на одного дорослого аксолотля: таким чином, три аксолотлі (два самці та одну самицю) помістили в акваріум об'ємом 120 л, також підготували додаткові допоміжні посудини невеликого об'єму (8–18 л) на випадок відкладання ікри та імовірних сутичок між особинами. Корм для тварин містив подовгасті шматочки знежирених курячих сердець, біле філе тріски, заморожені неварені креветки. Варто зауважити, що часто аксолотлі погано беруть нерухому їжу з дна і їх потрібно годувати з пінцета, рухаючи шматком біля голови тварини. Важливо зазначити про необхідність постійної фільтрації води з уникненням потужної течії, яка негативно впливає на всіх водних амфібій. Для стимуляції нересту використовували класичні методи — короткочасне підвищення температури, а потім її зниження, інтенсивну годівлю виробників та невеликі підміни води.

Взявши до уваги загальні рекомендації та наш попередній досвід, маємо підстави представити такі результати. Під час утримання та розведення *A. mexicanum* ми прослідкували особливості: влітку складно підтримати стабільну температуру води 18–20°C; також доводиться відмовитися від дрібних каменів, оскільки тварини проковтують їх, а також вони накопичують органіку в акваріумі, що призводить до підвищення рівня нітритів, нітратів і фосфатів у воді. Тому просторий акваріум з чистим дном, слабким освітленням та рівномірною годівлею потребує щонайменше втричі менше підмін і чистки і, як результат, ми менше стресуємо тварин і створюємо їм кращі умови для проявів шлюбної поведінки. Під час шлюбних ігор самець *A. mexicanum* наздоганяє самицю, при цьому намагається тримати голову якнайближче до її клоаки. Такі маневри можуть тривати до кількох місяців, відтак самиця починає відкладати ікру. В нашій практиці самиця відкладала невеликі порції по 10–20 ікринок з інтервалами протягом трьох днів. На третій день ми вилучили ікру з акваріуму, помістили її в ємкість 18 л з аерліфтным фільтром та інкубували при кімнатній температурі (17–19°C). Відкладання ікри почалося 3 березня 2023 р., через 3 дні ембріони почали змінювати форму з кулеподібної на бананоподібну, набувши майже чорного кольору. На 9-й день після початку відкладання половина ікри осіла на дно через періодичний рух ембріонів всередині ікринок. На 12-й день ми зафіксували вилуплення 90% потомства, наступного дня з'явилися решта. Варто зазначити, що ікра розвивалася успішно і, на наше здивування, ми виявили всього 5 нерозвинутих ікринок з орієнтовно 70 відкладених. Молодняку годували класичний корм — живі наупліуси артемії (*Artemia sp.*). Категорично не рекомендуємо годувати замороженими, пластинчастими чи гранульованими кормами, після вживання яких молодняк переважно має отруєння. За частотою годівлі і вчасних чисток акваріумів молодняк росте добре і вже на 40-й день з початку кладки найбільші особини досягають 4–4,5 см. Але молодняк росте нерівномірно, тому рекомендуємо проводити сортування. На 35-й день ми почали пропонувати личинкам замороженого мотіля, але від наупліусів артемії не відмовлялися з огляду на різні розміри молодняку. На 40-й день личинки мали вже сформовані передні і частково сформовані задні кінцівки, їхня поведінка була вже схожою до поведінки крупних аксолотлів.

Сподіваємось, одержані нами результати спонукають дослідників зосередити увагу на аксолотля *A. mexicanum* як на цікаві та оригінальні модельні об'єкти досліджень в біології.

**Ключові слова:** лабораторні тварини, амфібії, аксолотль, *Ambystoma mexicanum*, розмноження

## Активність каталази тканин організму та фракційний склад розчинних білків гемолімфи бджіл за умов підгодівлі з цукровим сиропом пробіотиків B-7280 і B-7679

Р. Л. Андрошулік

androshulikruslan@gmail.com

Інститут біології тварин НААН, м. Львів, Україна

Один із чинників, який негативно впливає на здоров'я бджіл і розвиток колоній та провокує їхню загибель, — це погіршення кормової бази. Незначне порушення компонентного складу або дефіцит їжі може ослаблювати імунну систему бджіл, робити їх вразливими до застосування хімічних препаратів та захворювань різного походження. Для боротьби з хворобами медоносних бджіл використовують різні фунгіциди, антибіотики, гетероциклічні органічні сполуки (індоли) та бактеріофаги, які є перспективними для контролю росту патогенів як *in vitro*, так і *in vivo*. Окрім того, в багатьох країнах ЄС законодавчо заборонене використання антибіотиків у бджільництві через ризики поширення антимікробних генів для здоров'я людей і медоносних бджіл. Тому спостерігається тенденція до використання нових ефективних засобів боротьби з хворобами та покращення здоров'я медоносних бджіл натурального походження, які допомагають уникнути багатьох побічних ефектів, оскільки механізми їх дії відрізняються від синтетичних за рахунок активації захисних реакцій організму на фізіологічному рівні.

Відомо, що добре збалансована структура кишкової бактеріальної мікрофлори медоносних бджіл є основою для їх росту, розвитку, підсилення імунної відповіді та опірності від патогенів. Штам кисломолочних бактерій *Lactobacillus casei* B-7280, який має антибактеріальні, протизапальні та імуномодулюючі властивості, є перспективним для розробки пробіотиком. *Lactobacillus plantarum* володіє антагоністичною активністю проти широкого спектру мікроорганізмів. У зв'язку з вищевикладеним, метою було визначити вплив пробіотичних препаратів класу *L. casei* B-7280 і *L. plantarum* B-7679 на активності каталази, вмісту білка та білковий профіль гемолімфи організму бджіл.

Дослідження проводили на медоносних бджолах карпатської породи з лабораторної пасіки-віварію Інституту біології тварин НААН. У дослідженнях використано ліофілізовані пробіотичні штами *L. casei* IMV B-7280 та *L. plantarum* IMV B-7976. Для проведення дослідження сформували контрольну та дві дослідні групи по 60–90 бджіл-аналогів за масою та віком у кожній. Бджоли контрольної (К) групи у літньо-осінній період отримували підгодівлю з 60% цукрового сиропу (ЦС) + 1 мл дистильованої H<sub>2</sub>O в кількості 1 мл/групу/добу. Дослідна 1 група бджіл (Д1) щодня отримувала 1 мл 60% ЦС + 1 мл розчину імунобіотика *L. casei* B-7280 у концентрації 1×10<sup>6</sup> КУО/мл; дослідна 2 група бджіл (Д2) додатково до 1 мл 60 % ЦС отримувала розчин пробіотика *L. plantarum* B-7976 у концентрації 1×10<sup>4</sup> КУО/мл. Бджіл контрольної та дослідних груп утримували в садках за аналогічних умов лабораторного термостата ТС-80М-3 впродовж 28 днів дослідження. Після завершення досліду з кожної групи брали по 25 бджіл; визначали каталазну активність та вміст загального білка у тканинах їх організму, фракційний склад розчинних білків гемолімфи. Отримані цифрові дані за етапами досліджень статистично опрацьовували за допомогою стандартного пакету статистичних програм *Microsoft Excel* з використанням коефіцієнта Стьюдента (Р).

Встановлено тенденцію до підвищення каталазної активності тканин бджіл за тривалішого застосування *L. casei* і стабільно вищої активності цього ензиму впродовж всього дослідного періоду за дії *L. plantarum*. У бджіл контрольної групи, які протягом усього досліду отримували розчин цукру, активність каталази залишалася на сталому рівні. Показано, що на 14-у та 28-у добу вірогідно збільшувався вміст загального протеїну в організмі бджіл, яким згодовували цукровий сироп і пробіотик *L. casei* B-7280. У бджіл, яким згодовували цукровий сироп і пробіотик *L. plantarum* B-7679, також збільшувався вміст загального білка, але ці різниці не були вірогідними. Виявлено водорозчинні фракції білків гемолімфи: γ-глобуліни, β-глобуліни, α2-глобуліни, α1-глобуліни. Варто зазначити, що фракції альбумінів не виявили. З огляду на отримані результати, застосування пробіотиків *L. casei* B-7280 і *L. plantarum* B-7679 у підгодівлі бджіл за умов лабораторного термостату стимулювало каталазну активність тканин їх організму та підвищення загального білку та суттєво не впливало на співвідношення білкових фракцій гемолімфи.

Отже, порівняльне застосування пробіотиків *L. casei* B-7280 і *L. plantarum* B-7679 у підгодівлі бджіл за умов лабораторного термостату стимулювало каталазну активність тканин їх організму в обох групах (P<0,05, P<0,01) як на 14-у, так і 28-у доби досліджень порівняно з контролем. Вміст загального білка у тканинах організму бджіл групи Д1 вірогідно підвищувався порівняно з контрольною групою на 13,9 і 11,4% на 14-у і 28-у доби дослідного періоду.

**Ключові слова:** *Apis mellifera*, пробіотик, каталаза, протеїн організму, гемолімфа, фракції протеїнів

## Розробка мишачої моделі для дослідження посттравматичного стресового розладу

*В. Балацький, В. Луцак, М. Байляк*

vitalii.balatskyi@pnu.edu.ua

Прикарпатський національний університет імені Василя Стефаника, кафедра біохімії та біотехнології, м. Івано-Франківськ, Україна

Посттравматичний стресовий розлад (ПТСР) — це психічний і поведінковий розлад, який може розвинутися через вплив травматичної події: у жертв сексуального насильства, очевидців загибелі людей у війні та у дорожніх зіткненнях, внаслідок жорстокого поводження та домашнього насильства, інших загроз здоров'ю і життю. Цей розлад набув офіційного статусу психіатричного діагнозу після публікації американського діагностичного та статистичного посібника з психічних розладів (DSM-III) у 1980 р. У хворих на ПТСР виникають проблеми зі сном, тривожні думки або відчуття, психічне чи фізичне страждання до травми, сигнали, пов'язані з травмою, проблеми з соціалізацією. На сьогодні проблема ПТСР актуальна й для нашої країни, оскільки із 2014 р. в Україні триває війна, яка з 24 лютого 2023 р. набула загрозливих масштабів у зв'язку з повномасштабним вторгненням російської федерації. Під ризик розвитку ПТСР потрапляють не лише військовослужбовці, а й цивільні люди. Для дослідження механізмів та маркерів ПТСР в останні роки активно апробуються модельні ссавці, зокрема триває пошук стабільних та відтворюваних методів моделювання ПТСР на тваринних моделях. Темою нашої роботи було порівняти три різні підходи до моделювання ПТСР у мишей.

У дослідженні використовували 6-місячних самців лінії C57BL/6J. Мишей розділяли на 4 групи — контрольну та три експериментальні по 6–8 мишей в групі. Контрольна група не зазнавала стресових чинників. Першу експериментальну групу знерухомлювали (імобілізували) на 2 год. у пластиковому флаконі з отворами для повітря. Другій групі для імітації присутності хижака на 15 хв. вмикали звук нявчання kota. Після припинення дії стресора мишей у цих дослідних групах повертали у звичні умови. У третій експериментальній групі створили умови соціальної ізоляції, для чого мишей розподілили по одній на клітку. Через 10 днів для мишей, які зазнавали імобілізації та впливу звуків kota, і через 28 днів для соціально ізольованих мишей проводили поведінковий тест у відкритому полі для перевірки емоційно-психологічного стану. Тест у відкритому полі повторювали через 58 днів.

Середня швидкість руху та загальна пройдена відстань за 10 хв. у всіх експериментальних групах мишей не відрізнялися від контролю. Миші, які зазнавали імобілізації, та соціально ізольовані миші, відповідно, на 46% та 49% менше часу проводили в центральній зоні арени порівняно з контрольною групою. Натомість у мишей, які слухали звуки kota, час перебування у внутрішній та зовнішній зонах арени від контролю вірогідно не відрізнявся. Це свідчить про те, що імобілізовані та соціально ізольовані миші проявляли підвищену тривожність. Кількість актів дефекації як показника тривожності у мишей, яких знерухомлювали та які перебували у соціальній ізоляції, лише мала тенденцію до збільшення; натомість миші, які слухали звуки kota, мали на 258% більшу кількість актів дефекації порівняно з контрольною групою.

За повторного проведення тесту «відкрите поле» через два місяці результати всіх експериментальних груп мишей не відрізнялися від контролю. Також контрольна група мишей мала меншу досліджувану активність, ніж у першому тестуванні.

Отже, всі три використанні стресові чинники — тривала імобілізація, соціальна ізоляція та імітація присутності хижака — провокували тривожну поведінку у мишей, з яскравіше вираженими ознаками тривожності у мишей після імобілізації та з соціальною ізоляцією. Використані стресові чинники не впливали на досліджувану поведінку мишей. Повторне використання тесту «відкрите поле» не є доцільним для оцінки досліджуваної та тривожної поведінки у мишей.

**Ключові слова:** посттравматичний стресовий розлад, миші, стрес, тест «відкрите поле»

## Білок як необхідний компонент в годівлі креветки

Л. Бондаренко

lvbondarenko@ukr.net

Білоцерківський національний аграрний університет, м. Біла Церква, Київська обл., Україна

Щороку споживання креветки в Україні зростає. Український ринок креветок розширюється, проте переважну його частину становить імпорт. Саме тому існують великі можливості для внутрішніх виробників. У зв'язку з цим будівництво креветкових ферм є перспективним напрямом промисловості. Результати вирощування креветок суттєво залежать від якості кормів. Креветкам необхідні корми з вмістом близько 40–60% білка в кормовій суміші, молодняку на стадії розвитку — іноді навіть трохи більше. Самки, які відкладають яйця, також залежать від достатнього надходження амінокислот. Джерелами білка слугують м'ясо кальмара, соєве, креветкове і деякі види рибного. Склад білків корму повинен задовольняти потреби креветок в незамінних амінокислотах — фенілаланіні, лізині, гістидині, аспарагіновій кислоті, тріоніні, валіні, метіоніні, ізолейцині, лейцині і триптофані.

Креветкам необхідна наявність в кормах незамінних жирних кислот. Жирні кислоти, переважно з тваринних або мікробних джерел, забезпечують креветок енергією і повинні становити приблизно 10–20% їжі. Дуже важлива наявність кислот ліноленового ряду. Ефективність використання вуглеводів залежить від їх джерела: наприклад, крохмаль засвоюється набагато краще, ніж прості цукри. Кормова суміш обов'язково має містити близько 0,5% стеролів, оскільки креветки їх не синтезують. Обов'язкова наявність в кормах вітамінів, мінеральних компонентів і мікроелементів. Як живий корм для креветок на ранніх стадіях розвитку за відсутності артемії можна використовувати морських коловерток [Кононенко Р. В., 2016].

Альтернативними джерелами білка можуть стати личинки комах — наприклад, мухи чорної львинки (*Hermetia illucens*). Личинка чорної львинки становить великий інтерес насамперед завдяки своїй поживності: її личинки містять більше білка (до 42%) і менше жиру (до 18%), а сам жир містить до 53% лауринової кислоти. Крім цього, личинки містять корисні органічні елементи: близько 7,0% сирої клітковини, 7,9% вологи, 1,4% вільного екстракту азоту, 14,6% золи, 5,0% кальцію, 1,5% фосфору [Лихота В. Ю., 2022].

З огляду на вищеперелічені позитивні якості личинки чорної львинки, ми розглянули можливість використання її біомаси в годівлі гігантської прісноводної креветки *Macrobrachium rosenbergii*.

Було відібрано 200 штук 10-добових креветок *M. rosenbergii*, яких розділили за принципом аналогів на дві групи — контрольну і дослідну по 100 особин у кожній. Дослідній групі додатково до основного раціону з 10- до 120-добового віку щоденно згодовували личинок чорної львинки, починаючи з кількості 10,0 г на 100 особин малька креветки і поступово збільшуючи цю кількість до 90-денного віку креветки у 7 разів, тобто до 70 г. Контрольній групі креветок *M. rosenbergii* личинок чорної львинки не згодовували. Дослідні показники (збереженість, живу масу) визначали на 45-, 60-, 75- і 90-у добу.

Встановлено, що маса креветок *M. rosenbergii* змінювалася в дослідній групі порівняно з контрольною залежно від згодовування комбікорму з додатковим застосуванням личинок чорної львинки. Показники живої маси креветок дослідної групи були вищими порівняно з контролем на 90-у добу в 1,11 раза, на 105-у добу — в 1,18 раза, на 120-у добу — в 1,22 раза.

Таким чином, додаткове додавання до основного раціону креветки *M. rosenbergii* личинки мухи чорної львинки сприяло підвищенню їх живої маси.

**Ключові слова:** креветка прісноводна, *Macrobrachium rosenbergii*, годівля креветки

## Деякі морфометричні показники ентерохромафінних клітин слизової оболонки дванадцятипалої кишки поросят за впливу кормової добавки «Глобіген Джамп Старт»

Н. Бонюк

nataliiboniuk@gmail.com

Інститут біології тварин НААН, м. Львів, Україна

В умовах сучасного інтенсивного тваринництва екологічні навантаження, стресові фактори, одно-сторонньо орієнтована лише на продуктивні показники годівля та безконтрольне застосування хіміотерапевтичних засобів призводять до порушення кількісного і якісного складу мікробіоценозу інтестинального тракту і, як наслідок, виникнення бактеріального дисбалансу в поросят. Водночас є дані про здатність мікробіоти кишечника впливати на синтез серотоніну (5-НТ)-біогенного аміну, одного з найважливіших сигнальних молекул в кишечнику, який бере участь у розширенні судин, стимуляції сегментарних та пропульсивних скорочень, а також епітеліальній секреції, виконує роль прозапальної сигнальної молекули та трофічного фактору для росту і розвитку нейронів й деяких інтерстиціальних клітин, впливає на активацію рецепторів зовнішніх аферентних волокон [Мейв і Гофман, 2013]. Основним місцем продукції серотоніну є ентерохромафінні клітини (ЕС-клітини), які локалізуються в слизовій оболонці шлунково-кишкового тракту. Саме ці клітини є посередниками між організмом та зовнішнім середовищем, оскільки ініціюють каскад реакцій у відповідь на дію подразників.

Для проведення дослідження обрали кормову добавку «Глобіген Джамп Старт» (*EW Nutrition GmbH*, Німеччина), яка містила сухі дріжджі та яечний порошок, збагачений імуноглобулінами. Ми припустили, що використання кормової добавки «Глобіген Джамп Старт» стимулюватиме синтез 5-НТ і таким чином впливатиме на процеси біотрансформації поживних речовин корму, що сприятиме підвищенню імунного потенціалу й адаптаційної здатності поросят у критичні періоди вирощування та відлучення. З огляду на це, метою наших досліджень було з'ясувати морфофункціональні особливості кишечника поросят у різні періоди постнатального розвитку і за впливу аліментарних факторів.

Дослідження проводили в господарстві ТзОВ «Барком» Львівської обл. на двох групах (контрольна і дослідна) поросят-сисунів породи велика біла по 10 тварин у кожній групі. Поросят обох груп від 3-добового віку догодовували предстартерним комбікормом. Поросята дослідної групи додатково отримували кормову добавку «Глобіген Джамп Старт» у кількості 2 кг/т корму. На 7-у, 14-у та 21-у добу по три поросятка з кожної групи підлягали евтаназії з відбором матеріалу для гістологічного дослідження. Фрагменти слизової оболонки дванадцятипалої кишки поросят фіксували у 10% водному розчині нейтрального формаліну, рідині Карнуа та Буена. Після фіксації тканини промивали та зневоднювали у висхідному ряді спиртів із подальшою заливкою у парафінові блоки за загальноприйнятими методиками. З парафінових блоків виготовляли гістозрізи товщиною 7 мкм на санному мікроскопі MC-2. Для виявлення гранул аргентафінних клітин гістозрізи депарафінували, доводили їх до води, наносили на 30 с розведений розчин (1 мг/мл) стабілізованого діазотату 5-нітроазидину в 0,1 М веронал-ацетатному буфері (рН 9,2). Ретельно промивали у проточній воді. Ядра клітин зафарбовували гематоксиліном Майєра упродовж 2 хв. З подальшим промиванням у проточній воді. Гранули аргентафінних клітин забарвлювались у помаранчево-червоний колір. Гістологічні, гістохімічні та морфометричні дослідження проводили в навчально-дослідній лабораторії кафедри нормальної та патологічної морфології і судової ветеринарії ЛНУВМБ імені С. З. Гжицького. Визначення морфометричних параметрів мікроструктур слизової оболонки дванадцятипалої кишки, а саме кількість ентерохромафінних клітин на 0,45 мм<sup>2</sup> (5 полів зору) площі, розміри ядер визначали за допомогою спеціально адаптованої морфометричної програми *Aperio Image Scope* до мікроскопа *Leica DM-2500* та фотокамери *Leica DFC 450C*. Одержані цифрові дані морфометричних показників обробляли методом варіаційної статистики.

За результатами дослідження встановлено, що на 7-у добу дослідую поросят контрольної групи на 0,45 мм<sup>2</sup> слизової оболонки дванадцятипалої кишки виявляли в середньому 7,8 ентерохромафінних клітин в одному полі зору, на 14-у добу — 8 клітин, тоді як на 21-у добу їхня кількість збільшилась до 9,8 клітин. У поросят дослідної групи, які отримували з кормом добавку «Глобіген Джамп Старт», на 7-у добу виявлено в середньому 8 ЕС-клітин в одному полі зору, на 14-у добу їхня кількість збільшилась і становила вже 8,4 клітини, тоді як на 21-у добу — 10,6 клітин. Поросята, які споживали кормову добавку «Глобіген Джамп Старт», випереджали аналогів контрольної групи за кількістю ЕС-клітин на 2,5; 5 і 8,1% на 7-у, 14-у і 21-у добу відповідно. Вірогідної різниці в розмірах ядер ентерохромафінних клітин не було встановлено, а їхній показник в середньому становив 5,94 мкм.

Підсумовуючи проведені морфометричні дослідження, можна зробити висновок про позитивний вплив кормової добавки «Глобіген Джамп Старт» на стан слизової оболонки дванадцятипалої кишки поросят, а також на збільшення кількості ентерохромафінних клітин, здатних позитивно впливати на процеси біотрансформації поживних речовин корму через підвищення імунітету та адаптаційної здатності поросят в критичні періоди вирощування.

**Ключові слова:** ентерохромафінні клітини, серотонін, пробіотик

## Вплив параметрів мікроклімату приміщень на продуктивні та відтворювальні якості кролів в умовах господарств різних форм власності

О. Вінтонів<sup>1</sup>, О. Гавриш<sup>2</sup>, Т. Осокіна<sup>2</sup>

vintoniv\_olya@ukr.net

<sup>1</sup>Інститут розведення і генетики тварин імені М. В. Зубця НААН, с. Чубинське, Бориспільський р-н, Київська обл., Україна

<sup>2</sup>Черкаська дослідна станція біоресурсів НААН, м. Черкаси, Україна

Однією із проблем кролівництва за утримання в різних умовах є вплив сезонності на відтворювальні функції тварин. Вочевидь, це зумовлено тим, що зі зміною пори року змінюються і фактори зовнішнього середовища, серед яких найбільше значення мають вологість повітря, температура навколишнього середовища, періоди линяння кролів тощо.

Дослідження проведені на поголів'ї кролів породи полтавське срібло Черкаського регіону на базі експериментальної кролеферми Черкаської дослідної станції біоресурсів НААН та кролеферми СГ ПП «Рокітченков А. М.». На обох дослідних фермах тварин утримують у двоярусних сітчастих клітках. Годують кролів гранульованим кормом, який насипають у годівниці, воду для пиття подають через ніпельні напувалки. Гній прибирають вручну.

Параметри мікроклімату визначали згідно із загальноприйнятою методикою. Для вимірювання показників мікроклімату використовували електронний аналізатор мікроклімату ЕАМ-5, розроблений співробітниками Черкаської дослідної станції біоресурсів (патент на корисну модель №99874). Електронний аналізатор мікроклімату вимірює температуру, вологість, атмосферний тиск, освітленість, газовий склад — концентрацію вуглекислого газу і аміаку. Вимірювання відбувається в автоматизованому режимі впродовж доби кожні 10 хв. за допомогою трьох вимірювальних блоків, розміщених на висоті 0,5–1,0 м по діагоналі. Для розміщення блоків приміщення умовно розділяють на три частини і в центрі кожної частини на відстані 3–5 м від поздовжньої стіни розміщують блок. Водночас було визначено параметри зовнішньої температури, вологості і освітленості за допомогою четвертого вимірювального блоку, який розміщували в середній частині зовні приміщення на відстані 0,5–0,6 м від стіни, в затінку на висоті 1 м. Отримані показники мікроклімату порівнювали до нормативів та гігієнічних вимог, передбачених відомчими нормами технологічного проектування (ВНТП — АПК 05.07. Підприємства звірівництва та кролівництва).

Параметри мікроклімату та відтворювальної здатності кролів за показниками плодючості та збереженості досліджували в зимово-весняний, весняно-літній та літньо-осінній періоди. Встановлено, що в приміщенні полегшеного типу відсоток заплідненості кролиць взимку був більшим на 7% і навесні — на 3,5% порівняно з кролицями, яких утримували у приміщенні капітального типу. Проте жива маса кролиць в капітальному приміщенні взимку і навесні переважала. Кількість новонароджених кроленят взимку і навесні в обох господарствах відрізнялась. Однак навесні спостерігали вищу середню багатоплідність кролиць в обох господарствах порівняно з зимовим періодом: в приміщенні полегшеного типу — на 15%, в капітальному — на 6%. Відсоток збереженості молодняку на час відлучення у капітальному приміщенні був значно нижчим, ніж у кролятникі полегшеного типу — як взимку, так і навесні.

У зимово-весняний період серед досліджених показників мікроклімату кролятників найбільше перевищення норми спостерігали за вологістю, CO<sub>2</sub> та NH<sub>3</sub>, при цьому в приміщенні полегшеного типу, порівняно з капітальним, відсоток запліднених кролиць взимку і навесні переважав на 9%, збереженість кроленят була вищою на 13%.

Влітку відзначені нижчі рівні шкідливих газів, проте вони перевищували ГДР: в господарстві полегшеного типу CO<sub>2</sub> — на 30%, NH<sub>3</sub> — в 3,78 раза; в капітальному приміщенні CO<sub>2</sub> — в 3,13 раза, NH<sub>3</sub> — в 6,8 раза. На кролефермі з утриманням кролів у полегшеному типі будівлі на 3,7% вища заплідненість кролематок, на 17% вища середня багатоплідність, на 36% (P<0,01) більша кількість кроленят при відлученні, а на кролефермі з капітальним приміщенням були вищими показники живої маси кроленят під час народження та відлучення.

Восени у капітальному приміщенні був підвищений рівень шкідливих газів CO<sub>2</sub> та NH<sub>3</sub> — у 2,94 та 13,78 раза відповідно, що негативно вплинуло на відтворювальні якості. Оскільки у полегшеному приміщенні рівень аміаку був в межах норми, а CO<sub>2</sub> перевищував норму вдвічі, відсоток заплідненості кролиць був вищим майже на 4%; показник середньої багатоплідності переважав на 0,7 кроленят на 1 кролематку; кількість молодняку при відлученні була вірогідно нижчою на 27% (P<0,01); збереженість потомства у підсисний період переважала на 18,3%; спостерігали незначно вищу живу масу кроленят при народженні.

Встановлені кореляційні взаємозв'язки між показниками температури та відносної вологості повітря в досліджуваних кролятниках протягом року, r=0,42–0,95 (P<0,001).

**Ключові слова:** кролі, продуктивні та відтворювальні якості, мікроклімат приміщень

## Сонологічні та біохімічні показники формування алкогольного стеатозу у щурів

О. І. Грабовська, В. І. Діденко, І. А. Кленіна, О. О. Галінський, Д. Ф. Милостива

mylostivad@i.ua

Інститут гастроентерології НАМН України, м. Дніпро, Україна

Алкогольна хвороба печінки (АХП) — широко розповсюджений тип хронічного захворювання печінки у всьому світі. Хвороба прогресує від алкогольного стеатозу до стеатогепатиту і характеризується запаленням печінки. Жирова тканина, підвищений індекс маси тіла, накопичення вісцерального жиру є незалежними факторами ризику алкогольного гепатиту за хронічного алкогольного ураження печінки [Di Ciaula et al., 2022]. Зміни спектра вільних жирних кислот (ВЖК) у гомогенаті печінки тварин за моделювання хронічного алкогольного ураження печінки залежать від глибини метаболічних порушень. ВЖК можуть пошкоджувати біологічні мембрани, їх накопичення в печінці частково відповідає за функціональні та морфологічні зміни, характерні для алкогольного захворювання печінки [Ma et al., 2020]. Метод стеатометрії дозволяє оцінювати кількісний показник жирової інфільтрації печінки швидко та неінвазивно. За стеатозу на фоні АХП підвищується рівень насичених ВЖК і поліненасичених ВЖК у внутрішньопечінковій системі [Thomes et al., 2019]. Метою роботи було дослідити зміни паренхіми печінки щурів під час моделювання хронічного алкогольного ураження печінки за даними стеатометрії та біохімічних показників ліпідного обміну.

Експериментальні дослідження виконано на 30 лабораторних щурах масою до 230 г. Інтактних тварин (n=15) утримували в таких же умовах і такому ж харчуванні, що й дослідних. У щурів дослідної групи (n=15) провокували розвиток хронічної алкогольної хвороби печінки двофазною алкоголізацією водним розчином етанолу протягом 4 тижнів. Тварини отримували стандартний раціон для забезпечення фізіологічних потреб. Дослідження проводили з дотриманням біоетичних норм. Стеатометрію печінки щурів виконували з метою оцінки коефіцієнту згасання (дБ/см), після моделювання патології проводили дослідження в прижиттєвому підході за допомогою ультразвукового апарату *Ultima PA* лінійним датчиком по 5 замірів у кожному підході з розрахунком середніх даних. Визначали вміст загального холестерину ліпопротеїнів високої щільності (ХС ЛПВЩ) у гомогенаті печінки з використанням наборів реактивів (*Cormay*, Польща). Хроматографічне дослідження ВЖК у гомогенаті печінки проводили на газовому хроматографі «Хроматек-Кристалл 5000».

Структура печінки за алкогольного ураження має відмінності внаслідок змін ехогенності та зернистості печінки. За даними стеатометрії печінки у щурів, коефіцієнт згасання зростав у 1,2 раза ( $P < 0,05$ ), що пов'язане з накопиченням жирового інфільтрату за умов хронічного впливу етанолу на тканини печінки.

Вплив алкоголю провокує жировий гіперліполіз, що призводить до надлишку надходження жирних кислот у печінку з подальшим розвитком стану алкогольного стеатозу. Статистично вірогідних відмінностей у вмісті триацилгліцеридів, ХС в гомогенаті печінки не встановлено, проте спостерігали тенденцію до підвищення їх вмісту на ранніх термінах формування стеатозу у щурів. Аналіз показників ліпідного обміну в гомогенаті печінки експериментальних тварин дозволив виявити вірогідне зниження ХС ЛПВЩ у 1,4 раза ( $P < 0,001$ ) порівняно з контролем, що свідчить про розвиток метаболічного синдрому. Сумарний вміст ВЖК та насичених ВЖК в дослідній групі збільшився в 1,5 раза ( $P < 0,01-0,05$ ), а вміст ненасичених ВЖК — у 5,6 раза ( $P < 0,001$ ) порівняно з контрольною групою. Сумарний вміст мононенасичених ВЖК збільшився у 5,6 раза ( $P < 0,001$ ).

Одержані дані свідчать, що за алкогольного ураження печінки коефіцієнт затухання зростає за рахунок збільшення жирової тканини. Також відмічались зміни у ліпідному обміні в експерименті, що виражалось у зменшенні вмісту ЛПВЩ у гомогенаті печінки, порівняно з групою контролю. Зміни в спектрі ВЖК при алкогольному ураженні печінки відбувалися за рахунок збільшення всього пулу ВЖК.

**Ключові слова:** щури, алкогольний стеатоз, вільні жирні кислоти

## Про зимівлю деяких горобиних птахів на Волино-Поділлі

П. Гринюк

petrohrynuk10@gmail.com

Національний природний парк «Північне Поділля», м. Броди, Золочівський р-н, Львівська обл., Україна

У матеріалі представлено фенологічні дослідження прильоту, відльоту й чисельності зграй деяких зимуючих птахів Волино-Поділля — жайворонка рогатого (*Eremophila alpestris*), омелюха звичайного (*Bombycilla garrulus*) та пуночки снігової (*Plectrophenax nivalis*). В Україні чисельність цих видів у різні роки змінюється залежно від характеру зими [Енциклопедія мігруючих..., 2018]; на заході країни за статусом перебування їх відносять до зимуючих [Страутман, 1963]. Є відомості щодо населення птахів агроландшафтів Малого Полісся у зимовий сезон [Гринюк, 2017а] та оцінка чисельності зимуючих видів у м. Буськ Львівської обл. [Гринюк, Герус, 2022]. Щодо Рівненщини вагому частину інформації щодо чисельності зграй і деталей їх реєстрацій наведено в публікації про зимову орнітофауну півдня області [Гринюк та ін., 2020] та у праці, яка представляє аспекти поведінки і трофіки тундрових видів горобцеподібних [Гринюк, 2017б].

Спостереження проводили на Волино-Поділлі впродовж 2015–2022 рр. Найбільшу кількість даних отримали на території Рівненської обл., трохи менше — у Львівській та Волинській. Охоплено зимові біотопи перебування цих видів: для жайворонка рогатого і пуночки снігової це рудеральні та культивовані біотопи (сільськогосподарські угіддя), для омелюха звичайного — лісові й декоративні культивовані біотопи (парки та сквери) або ж лісосмуги вздовж автомобільних/залізничних трас. Дослідження виконували маршрутним методом у світлий період доби; використовували бінокль кратністю 10-12х та цифровий фотоапарат. Всі спостереження доступні онлайн у базі даних спостережень за птахами *eBird*, деякі фотореєстрації представлені у соціальній мережі *iNaturalist*.

Жайворонки рогаті гуртується у зграї чисельністю до 190 ос., в середньому — 28,2 ос. (n=38). Найбільшу зграю ми спостерігали 11.01.2017 р. на полях поблизу м. Радивилів Рівненської обл. — 190 ос. Зграї до 25 ос. склали 76,4%, до 50 — 7,9%, до 75 — 10,5% і понад 75 — 5,2%. Лише у двох випадках спостерігали поодинокі особини. Приліт перших птахів на зимівлю спостерігають з другої половини жовтня, а саме 30.10.2019 р. 4 особини виявили на полі біля с. Дітківці, 23.10.2020 р. 2 особини пролітали у південному напрямку в долині р. Луг поряд із с. Ясенів Львівської обл. Здебільшого птахів можна побачити на сільськогосподарських угіддях та польових дорогах; коли товщина снігового покриву значна або утворюється льодяна кірка, зграї переміщуються до виїжджених автотранспортом та регулярно прочищуваних снігоочисними машинами доріг.

Омелюх звичайний практично завжди гуртується у зграї чисельністю до 200 ос., двічі спостерігали більшу кількість: 250 ос. 7.03.2016 р. у м. Радивилів і 350 ос. 13.01.2018 р. неподалік с. Орлівка Рівненської обл. Середня кількість птахів у зграях — 58,9 ос. (n=41). Зграї чисельністю до 50 ос. становлять 68,3%, до 100 — 14,6%, до 150 — 7,3% і понад 150 — 9,8%. Приліт на зимівлю припадає на другу половину листопада-початок грудня. Найпізніші весняні реєстрації омелюхів звичайних — 26.04.2020 р. 15 ос. поблизу с. Батьків Рівненської обл. і 2.05.2021 р. 15 ос. у парку м. Радивилів. Доволі часто реєструється у лісосмугах, де харчується плодами омели білої (*Viscum album*).

Пуночка снігова. Спостерігали як поодинокі птахів, так і зграї кількістю до 100 ос., у середньому — 18,6 (n=12). Найраніша поява птахів на місцях зимівлі припадає на кінець жовтня-початок листопада — 4.11.2017 р. 13 ос. збирали корм на польовій дорозі біля с. Антопіль Рівненської обл. Пуночка снігова трапляється як у моно-видових, так і полівидових зграях із жайворонком рогатим, інколи коноплянкою (*Linaría cannabina*), чечіткою гірською (*L. flavirostris*) і подорожником лапландським (*Calcarius lapponicus*) на сільськогосподарських угіддях, пустирях або ж польових дорогах.

Для трьох досліджуваних видів характерні значні флуктуаційні зміни чисельності зимуючих популяцій у регіоні. За доволі складних зимових умов (низької температури, високого снігового покриву протягом тривалого часу, арктичних циклонів) спостерігають доволі чисельні зграї, тоді як за м'яких зим — навпаки. Для жайворонка рогатого та пуночки снігової на місця їх зимового перебування суттєво впливає фактор забезпеченості кормовими ресурсами мікролокалітету: за достатньої наявності кормової бази птахи тривалий час можуть перебувати на обмежених територіях. Встановлено, що формування та розпад моно- і полівидових зграй цих тундрових видів є динамічним; залежно від стану погоди, товщини снігового покриву й кількості птахів у зграї, методи пошуку корму швидко змінюються або комбінуються [Гринюк, 2017б].

**Ключові слова:** жайворонки рогаті, омелюх звичайний, пуночка снігова, зимівля, Волино-Поділля



## Вплив дієти з високим вмістом жирів і фруктози та екзогенного альфа-кетоглютарату на про-/антиоксидантний статус в корі головного мозку мишей

О. Дем'янчук, М. Ватащук, В. Гурза, Г. Шмігель, М. Байляк

oleh.demianchuk@pnu.edu.ua

Прикарпатський національний університет імені Василя Стефаника, кафедра біохімії та біотехнології, м. Івано-Франківськ, Україна

Проблема надлишкової ваги та ожиріння є однією з головних проблем здоров'я в наш час. Ожиріння призводить до розвитку оксидативного стресу та запальних процесів, що збільшує ризик супутніх метаболічних порушень. Альфа-кетоглютарат (АКГ) — інтермедіат циклу трикарбонових кислот (ЦТК). Останні дослідження показали, що АКГ бере участь не тільки в метаболічних шляхах, а має й інші функції в організмі. Зокрема, АКГ може діяти як антиоксидант, безпосередньо знешкоджуючи пероксид водню. З іншого боку, АКГ може включатися в ЦТК і цим самим збільшувати роботу мітохондрій і, відповідно, продукцію активних форм кисню [Bayliak et al., 2022]. Окремі дослідження показують, що АКГ може мати захисну дію за ожиріння [Bayliak et al., 2022]. Також є дослідження, що висококалорійні дієти можуть порушувати роботу мозку. Тому метою нашої роботи було дослідити вплив дієти з високим вмістом жирів і фруктози та екзогенного АКГ на показники антиоксидантного захисту та оксидативного стресу у корі головного мозку мишей.

У дослідженні використовували самців лінії C57BL/6J. Мишей поділили на 4 групи. Контрольна група споживала стандартну дієту, де 10% калорій отримано від жиру. Друга група (ВКД) споживала дієту з високим вмістом жирів та фруктози: 45% калорій отримано від жиру, 15% калорій — від фруктози. Третя група (АКГ) споживала стандартну дієту, але пила питну воду, яка містила 1% розчин динатрієвої солі АКГ. Четверта група (ВКД+АКГ) споживала дієту з високим вмістом жирів та фруктози та пила воду з 1% розчином АКГ. Всіх мишей утримували на експериментальних дієтах 8 тижнів. По завершенню експерименту мишей піддавали евтаназії та препарували. Відібраний мозок (великі півкулі) зберігали у рідкому азоті. У заморожених тканинах визначали активність антиоксидантних ферментів та вміст глутатіону спектрофотометричними методами, а також рівень експресії деяких генів методами RT-qPCR та вестерн-блоту.

У мозку мишей, які споживали ВКД, рівень пероксидів ліпідів був у 2 та 1,3 раза вищим порівняно з контрольною групою та групою ВКД+АКГ відповідно. Це свідчить про те, що АКГ запобігав акумуляції пероксидів ліпідів у мозку мишей за споживання ВКД. Співвідношення відновленого до окисленого глутатіону було на 156% вищим у групі АКГ порівняно з контрольною групою. Активність супероксиддисмутази та каталази не змінювалася за споживання дієт з ВКД, АКГ та їх суміші. Водночас у групах, які споживали ВКД окремо чи разом з АКГ, цей показник не відрізнявся від контролю. Активність глутатіонпреоксидази була нижчою у груп ВКД, АКГ та ВКД+АКГ — на 29%, 34%, 23% відповідно порівняно з контрольною групою. Активність НАД-хіноноксидоредуктази була на 68% вищою у мишей, які споживали ВКД, порівняно з контрольною групою. Рівень мРНК гена *GSTM3* у мишей, які споживали ВКД та ВКД+АКГ, був, відповідно, на 62% та 58% меншим, ніж у контрольній групі мишей. Рівень мРНК гена *UGDH* у мишей, які споживали АКГ, був вищим у 2,8 раза, ніж у контролі. Рівень шаперонів, які виконують захисні функції, а саме HSP70 та HSP90, не змінювався при споживанні дієт з ВКД, АКГ та їх суміші.

Отже, споживання дієти з високим вмістом жирів та фруктози призводило до розвитку оксидативного стресу в корі головного мозку мишей. Додавання АКГ до ВКД частково запобігало порушенням редокс-гомеостазу у мозку.

**Ключові слова:** альфа-кетоглютарат, фруктоза, жири, оксидативний стрес, мозок

**Подяки:** Робота була виконана за фінансової підтримки Національного фонду досліджень України (реєстраційний номер 2020.02/0118)

## Зміни активності ензимів антиоксидантної системи у крові свиноматок за дискомфортичних умов мікроклімату приміщень та аліментарної дії алкоселю

А. Дмитроца, С. Вовк

andrianadmitroca@gmail.com

Інститут сільського господарства Карпатського регіону НААН, с. Оброшине, Львівський р-н, Львівська обл., Україна

Відомо, що поросність у свиноматок є фізіологічним станом, для якого характерна низка морфологічних та біохімічних змін в органах і тканинах, а також інтенсифікація окисно-відновних процесів в організмі [Daramola J. O., Abioja M. O., Onagbesan O. M., 2012]. Доведено, що у цей період на перебіг метаболічних процесів в організмі свиней суттєво впливають умови утримання, зокрема параметри мікроклімату приміщень [Волощук В. М., 2013]. Низка наукових праць засвідчує, що за незадовільних умов параметрів мікроклімату, зокрема підвищення температури, вологості, вмісту шкідливих газів у повітрі, в організмі порослих свиноматок виникає оксидативний стрес і, як наслідок, знижується природна резистентність та імунологічна реактивність [Barboza G., Guizzardi S., Moine L., Talamoni N., 2017]. З огляду на наведене вище, метою наших досліджень було з'ясувати вплив застосування у раціоні порослих свиноматок препарату «Алкосель», виробленого на основі хлібопекарських дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*, оброблених селен метіоніном, за порушення параметрів мікроклімату приміщень на активність ензимів антиоксидантної системи. Наявність селен метіоніну у складі хлібопекарських дріжджів *S. cerevisiae* значно підвищує біологічну дію та антиоксидантний захист в організмі за аліментарного використання препарату «Алкосель» у годівлі тварин [Suryo Rahmanto and Davies, 2011; Анан та ін., 2014; Takahashi та ін., 2017].

Експериментальні дослідження проводили в умовах свиноферми Державного підприємства «Дослідне господарство „Радехівське”» Інституту сільського господарства Карпатського регіону НААН України у літній період. За принципом аналогів за живою масою і віком було сформовано контрольну й дослідну групи порослих свиноматок породи велика біла по 5 тварин у кожній. Раціон свиноматок контрольної групи складався зі стандартного комбікорму «AVA ZDOROVA Супорос 10%», який містив 10% пшениці, 5% кукурудзи, 60% ячменю, 15% висівок пшеничних і забезпечував потреби тварин за поживними і біологічно активними речовинами, вітамінами, макро- і мікроелементами згідно з вітчизняними нормами годівлі тварин [Дяченко Л. С., Сивик Т. Л., Титарьова О. М., 2020]. Свиноматкам дослідної групи до комбікорму додавали «Алкосель» у дозі 5 мг/кг комбікорму. Тварини мали вільний доступ до питної води. Додатки досліджуваного препарату згодувували свиноматкам з 90-ї доби поросності. Дослід тривав 24 доби. На 114-у добу поросності після ранкової годівлі у свиноматок контрольної та дослідної груп брали зразки крові з вушної вени для біохімічних досліджень.

Визначення у крові свиноматок активності ензимів антиоксидантної системи супероксиддесмутази, каталази та глутатіонпероксидази проводили за методиками, описаними у довіднику «Лабораторні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині» [Влізло В. В. та ін., 2012]

У повітрі приміщення для утримання піддослідних тварин визначали параметри мікроклімату: температуру, вологість та вміст шкідливих газів. Температуру повітря і вологість у приміщенні вимірювали психрометром-гігрометром ВІТ-2 («Склоприлад», м. Київ, 1992). Вміст шкідливих газів (NO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>S, NH<sub>3</sub>, CO<sub>2</sub> та CH<sub>4</sub>) у повітрі приміщення для утримання свиноматок визначали електрхімічним методом за допомогою переносного багатокомпонентного газоаналізатора ДОЗОР СМ-5 (ТОВ «Оптіма-Комплекс», м. Харків, 2018), який забезпечує одночасну цифрову індикацію концентрації всіх вимірюваних компонентів на вмонтованому рідкокристалічному індикаторі (дисплеї з підсвічуванням), а також роздільну світлову сигналізацію на кожен вимірюваний компонент і єдину звукову сигналізацію при перевищенні порогів. Одержані цифрові дані опрацювали статистично з використанням стандартних комп'ютерних програм *Microsoft Excel*.

У результаті проведених досліджень встановлено, що перед опоросом системи антиоксидантного захисту (САЗ) в організмі свиноматок функціонують у депресивному стані. Під впливом вищевказаних параметрів мікроклімату, в крові тварин контрольної групи виявлено низьку активність ензимів супероксиддесмутази (СОД) і каталази (КАТ), що є підтвердженням стану оксидативного стресу, в якому перебувають свиноматки на завершальному етапі поросності. Згодовування тваринам «Алкоселю» в дозі 5 мг/кг комбікорму підвищує активність обох досліджуваних ензимів: СОД 5% на 3,62%, КАТ — на 2,55% порівняно з контролем. На зниження пероксидних процесів в організмі порослих свиноматок вказує також низький рівень глутатіонпероксидазної (ГП) активності у плазмі крові тварин контрольної групи. Застосування препарату «Алкосель» у складі комбікорму в означеній дозі для годівлі свиноматок підвищує активність цього ензиму на 4,14%.

Наведені результати загалом свідчать про те, що завершальний етап поросності свиноматок характеризується вираженими ознаками оксидативного стресу, а аліментарне використання селенметіоніновмісного дріжджового препарату «Алкосель» за цих умов виявляє стимулювальну оксидопротекторну дію, про що свідчить зростання активності антиоксидантних ензимів у крові тварин.

**Ключові слова:** Поросні свиноматки, мікроклімат приміщень, кров, ензими антиоксидантної системи

## Вплив пілокарпіну на LCC-канали ядерної мембрани нейронів Пуркінє мозочка щурів

О. Котик, С. Надтока, А. Котлярова

n.serhiy.oleks@gmail.com

Інститут фізіології імені О. О. Богомольця НАН України, м. Київ, Україна

LCC-канали є неселективними катіонними каналами та одними з найпоширеніших спонтанно активованих каналів у ядерній мембрані клітин Пуркінє мозочка [Marchenko, 2005]. Також відомо про їхню потенціалозалежність: зокрема, за позитивних значень прикладеного потенціалу (+40 мВ) їх значення  $P_o$  становить 3,11, а за негативних (–40 мВ) — 0,72. Беручи до уваги їхню поширеність, ми припускаємо, що вони можуть відігравати значну роль у функціонуванні ядра як депо  $Ca^{2+}$ , але наразі для LCC-каналів не описані ні основний механізм функціонування, ні їхня структура. З метою розуміння функцій каналу одним з перших законотвірних кроків є пошук його відповідного блокатора, внаслідок чого необхідно дослідити дію серії речовин. Наразі відомо, що сполуки, які змінюють активність LCC-каналів, є антагоністами та агоністами ацетилхолінових рецепторів. Враховуючи вищезазначене, ця робота ставить на меті продовжити цей напрям досліджень і вивчити зміни активності LCC-каналів у відповідь на речовину зі схожої групи, а саме на пілокарпін. Пілокарпін є третинним аміном, імідазол-похідним алкалоїдом, механізм його дії передбачає неселективний агоністичний вплив на мускаринові ацетилхолінові рецептори. Ці рецептори належать до родопсин-подібних G-білок-зв'язаних рецепторів, є мономерними і складаються з семи трансмембранних доменів. Після приєднання пілокарпіну вони активують сигнальні каскади із залученням відповідних їм G-білків, що спричиняє фізіологічні ефекти, притаманні пілокарпіну [Miller, 2017].

Усі досліді проводили на щурах лінії *Wistar* віком 4 тижні. Ядра клітин Пуркінє отримували із попередньо фрагментованого головного мозку щурів. Гомогенізували у мікропробірках Епендорфа з гомогенізуючим розчином (глюконат калію — 150 мМ, HEPES — 10 мМ; HEPES-калієва сіль — 10 мМ; рН 7,2) та інгібіторами протеаз за допомогою голки шприца. Отриманий гомогенат центрифугували за 2000g протягом 5 хв. Фракцію, яка містила ядра, ресуспендували в робочому розчині (KCl-150 мМ; HEPES — 8 мМ; HEPES-калієва сіль — 12 мМ; EGTA — 1 мМ; рН 7,2) і потім переносили у ванночку, змонтовану на предметному столику мікроскопа. Струми крізь іонні канали реєстрували за допомогою методу патч-клемп в конфігурації *nucleus attached* або *excised patch*. Реєстрації були проаналізовані за допомогою *Clampfit 10.7* і *Origin 2018*.

Пілокарпін у концентрації 0,2–2 ммоль/л призводив до ефекту «миготіння» каналів, який можна пояснити механічним блокуванням пори каналу під час його перебування у відкритому стані. У зазначених концентраціях пілокарпін не впливав на середню амплітуду струму через LCC-канали та статистично вірогідно не змінював ймовірності їх перебування у відкритому стані ( $P_o$ ) ( $n=3$ ). Однак варто відзначити, що у двох із реєстрацій  $P_o$  навіть мав тенденцію до збільшення, але така тенденція на цьому етапі роботи не підтверджена статистично за рахунок невеликої вибірки.

Отже, дія пілокарпіну, порівняно з дією попередньо описаних нами модуляторів холінорецепторів, не характеризується вираженим ефектом блокування LCC-каналів, однак це дослідження є одним із етапів їх різностороннього вивчення, а отримані дані важливі з точки зору вивчення молекулярної динаміки LCC-каналів.

**Ключові слова:** LCC-канали, нейрони Пуркінє, пілокарпін, петч клемп

**Подяки:** Дослідження виконано за часткової підтримки гранту на виконання проєктів науково-дослідних робіт (НДР) молодих учених НАН України (2021–2022 рр.) (конкурсний проєкт «Фармакологічна чутливість та експресія катіонних каналів великої провідності у ядрах клітин різного типу»); номер держреєстрації 0121U112012.

## Вплив наночастинок гадолінію ортованадату на глутатіонову ланку антиоксидантного захисту у плазмі сперми кролів

В. Кошевой<sup>1</sup>, С. Науменко<sup>1</sup>, В. Клочков<sup>2</sup>, С. Єфімова<sup>2</sup>

koshevoyvsevolod@btu.kharkov.ua

<sup>1</sup>Державний біотехнологічний університет, м. Харків, Україна

<sup>2</sup>Інститут сцинтиляційних матеріалів НАН України, м. Харків, Україна

Спермопродуктивність кролів є економічно важливою складовою рентабельності кролівництва, оскільки отримання сперми з високими якісними характеристиками запобігає втраті цінних генотипів і дозволяє досягти високої плодючості кролиць [El-Ratel et al., 2021]. Оксидативний стрес (ОС) відіграє важливу роль у рухливості сперміїв, їх функціональній активності, прояві акросомальної реакції, проте за надмірного синтезу активних форм Оксигену і значного зниження антиоксидантного потенціалу стан ОС стає провідним патогенетичним механізмом неплідності самців [Aitken et al., 2022]. Сперміям кролів властива висока метаболічна активність внаслідок високого вмісту поліненасичених жирних кислот у плазматичній мембрані, що робить їх підвищено чутливими до посилення переокислення ліпідів внаслідок впливу вільних радикалів [El-Gindy et al., 2022]. Негативними наслідками надмірної ліпопероксидації є зниження рухливості сперміїв, фрагментація ДНК і зниження запліднювальної здатності сперми. Крім того, інтенсивне вільнорадикальне окиснення перевищує антиоксидантну здатність спермальної плазми, що призводить до ушкодження мітохондрій і мембран сперміїв [Jimoh et al., 2021]. Проведені дослідження засвідчують, що для корекції репродуктивної здатності кролів є ефективними наночастинок (НЧ) гадолінію ортованадату з вираженими скавенджерними властивостями, які сприяли нормалізації гермінативно-ендокринної функції гонад і покращували баланс прооксидантно-антиоксидантного статусу сироватки крові [Koshevoy et al., 2022]. Отже, метою роботи було встановлення динаміки змін компонентів глутатіонової ланки антиоксидантного (АО) захисту у спермальній плазмі кролів за корекції tBHP-індукованого оксидативного стресу НЧ гадолінію ортованадату.

Матеріалом для дослідження були 36 дорослих статевозрілих самців кролів породи *Нула*. Для тварин першої дослідної групи стан ОС моделювали введенням tBHP у дозі, еквівалентній 1:10 LD<sub>50</sub> (3,7 мг/кг маси тіла) протягом 14 днів [Fatemi et al., 2014]. Після двотижневого прийому tBHP тваринам другої дослідної групи (ОС+НЧ) перорально вводили гідрозоль НЧ гадолінію ортованадату, активованих європієм, у дозі 0,05–0,10 мг/кг живої маси протягом 14 днів. Контрольна група отримувала такий самий об'єм дистильованої води. Концентрований корм і свіжа водопровідна вода були доступні *ad libitum*. Кролів утримували в добре провітрюваному приміщенні за 25±1°C і відносної вологості 55±5% із регулярним циклом 12 год. світла/12 год. темряви. Вміст відновленого глутатіону (GSH) визначали з використанням реактиву Елмана [Beutler et al., 1963], активність глутатіонпероксидази (GSH-Px) оцінювали за швидкістю окиснення відновленої форми глутатіону в присутності гідропероксиду третинного бутилу в колірній реакції з 5,5-дитіобіс-2-нітробензойною кислотою [Moin, 1986], активність глутатіон-S-трансферази (GSH-Ts) — в реакції з 1-хлор-2,4-динітробензолом [Habig et al., 1974]. Зміни показників компонентів АО захисту у плазмі сперми кролів досліджували на 15-у, 30-у, 45-у, 55-у, 70-у і 85-у добу експерименту. Отримані дані від кролів контрольної та дослідних груп аналізували за допомогою однофакторного дисперсійного аналізу (ANOVA), відмінності між групами вважалися статистично вірогідними за P≤0,05.

Індукція tBHP провокувала зменшення АО потенціалу спермальної плазми, зокрема вмісту GSH — на 35,5%, активності GSH-Px і GSH-Ts — на 15,2% і 18,2% відповідно (P≤0,05). Застосування НЧ гадолінію ортованадату як корегуального засобу сприяло нормалізації активності АО ензимів і вмісту GSH у динаміці. Активність GSH-Px у тварин другої дослідної групи була вірогідно вищою на 5,6% на 30-у і 8,9% на 45-у добу, досягаючи максимальних значень на 70-у добу експерименту — 13,3% (P≤0,05) порівняно з даними першої дослідної групи. Подібних змін зазнавав вміст GSH, який на 30-у добу дослідження зростав на 34,1%, досягаючи максимуму на 55-у добу — 50,9% (P≤0,05). Натомість активність GSH-Ts досягала найвищих значень на 30-у і 85-у добу експерименту — на 17,0% і 17,9% відповідно, тоді як у період 45–70 діб був вищим від показників першої дослідної групи на 9,8–15,2% (P≤0,05).

Підсумовуючи, зазначимо перспективи застосування НЧ ортованадатів рідкісноземельних елементів для корекції оксидативного навантаження у організмі самців і спермальній плазмі зокрема. Введення НЧ гадолінію ортованадату сприяє нормалізації глутатіонової ланки антиоксидантного захисту у спермальній плазмі кролів, особливо вмісту GSH.

**Ключові слова:** наночастинок, якість сперми, антиоксиданти, тіол-дисульфідна система

## Неінфекційні захворювання овець, пропозиції профілактики та лікування

*І. Кравцова, Т. Нежлукченко*

iryinakravtsova26@gmail.com

Миколаївський національний аграрний університет, м. Миколаїв, Україна

Будь-які тварини, зокрема і вівці, схильні до низки специфічних для їхнього виду захворювань. Є певні ознаки, притаманні будь-якій хворій тварині: відмова від їжі, підвищення температури тіла, перезбудження, зниження активності, діарея, тьмяність шерсті, порушення рухових функцій. За виявлення подібних симптомів можна бути впевненим, що тварина нездорова і необхідно з'ясувати джерело нездужання.

Серед різних захворювань сільськогосподарських тварин останнім часом найпоширенішими є незаразні. Вони завдають значних економічних збитків тваринництву, тому ця тема не втрачає актуальності. Це зумовлює потребу в посиленні підготовки ветеринарних спеціалістів з питань клінічної діагностики, терапії і профілактики внутрішніх незаразних хвороб з урахуванням особливостей їх прояву й нових форм лікувально-профілактичної роботи. Суттєвий внесок у розвиток вчення про внутрішні незаразні хвороби тварин зробили професори С. А. Хрустальов, В. П. Сидоров, В. І. Зайцев, І. Г. Шарабрін, І. М. Симонов, Я. І. Клейнбок, І. О. Бочаров, М. Р. Сьомушкін, Ш. О. Кумсієв, К. К. Мовсум-Заде, Й. Л. Мельник, В. М. Данілевський, І. П. Кондрахін, С. А. Івановський, М. А. Уразаєв, В. С. Постніков, П. Я. Конопелько, Ф. Ф. Порохов, В. І. Левченко, М. Є. Павлов та інші [Судаков, 2002].

Метою є огляд і систематизація основних незаразних хвороб овець, їхньої симптоматики, клінічних проявів, можливих способів профілактики та лікування. В ході написання роботи було використано теоретичні загальнонаукові методи дослідження й аналізу даних з університетів України, Польщі, Казахстану та Азербайджану.

Неінфекційні захворювання спровоковані впливом несприятливих умов утримання — вологістю, поганою вентиляцією, порушеним режимом освітлення, низькою якістю кормів тощо. Особливо вразливим є молодняк, тому для запобігання таким хворобам треба усувати першопричини — перетяги, вологість, загазованість приміщень [Штомпель, Вовченко, 2005]. Під час профілактики цих захворювань важливою є годівля та наявність у раціоні преміксів з вітамінами й мінеральними речовинами, добре проводити вітамінізацію всього маткового поголів'я у другій половині суягности. Працівникам вівчарень варто пам'ятати про можливість запалення легень в овець за несвоєчасної стрижки, що призводить до перегріву організму вівці. Хвороба може розвиватись швидко або загостритись у холодну пору року, що призведе до загибелі овець нормальної вгодованості [Вороненко, 2010].

Частіше трапляються хвороби: кетоз овець (кетонурія); диспепсія ягнят; білом'язова хвороба; мастит; цистит; остеомаліяція і остеопороз, рахіт; поліоенцефаломаліяція; молозивний токсикоз; аліментарна дистрофія; безоарна хвороба; переростання зовнішніх країв молярів; «ковильна» хвороба і тимпанія, метеоризм рубця; отруєння; пароніхія, копитна гниль; пневмонія; ендемічний зоб; кон'юнктивіт.

У висновку можна сказати, що вівці, особливо молодняк, схильні до захворювань різного генезу та етіології. Патогенні мікроорганізми, віруси, бактерії, гриби поширені в природі, а саме зараження відбувається контактно, аліментарно, фекально-орально або аерогенно. Деякі інфекції передаються трансплацентарно, інфіковані ягнята народжуються ослабленим або навіть нежиттєздатними. Фактори зараження овець — вроджені або хронічні патології, ослаблення резистентності та імунітету, недотримання санітарно-гігієнічних норм, неякісний, незбалансований, бідний раціон, скупченість тварин тощо [Рудик, 2009].

Головне, про що варто подбати, — це чистота і гігієна, причому це стосується не тільки кошари й пасовища, але й самих тварин. Тваринницькі приміщення задля профілактики незаразних хвороб овець потрібно періодично обробляти дезінфікуючими засобами. Рекомендовано робити в кошарі підлогу, аби була можливість обробляти її хлоркою або білизнаю; стіни зазвичай фарбують з додаванням вапняку.

**Ключові слова:** порушення білково-вуглеводно-ліпідного обміну, зовнішні та внутрішні подразники, новонароджені ягнята, симптоми хвороби, травмування

## Видовий склад орнітофауни м. Дубляни (Львівська ОТГ)

К. Кремпа<sup>1,2</sup>

krempakatia@gmail.com

<sup>1</sup>Львівський національний університет імені Івана Франка, м. Львів, Україна

<sup>2</sup>Інститут біології тварин НААН, м. Львів, Україна

Це коротке повідомлення про спостереження птахів на території м. Дубляни. Зазначений населений пункт розташований у північній частині Львівської ОТГ на периферії Шевченківського району. Площа міста в адміністративних межах становить близько 4,95 км<sup>2</sup>. Місто розташоване над р. Підболотка, притокою р. Полтва, на північному схилі гряди, яка тягнеться від Грибовицьких горбів на південний схід. Місцевість характеризується переходом лісостепу в Полісся [Токарський, 1996].

Ландшафт представлений агроценозами, які навколо Дублян мають назви: з півночі — Торфи, із заходу — Підлужки, з півдня — Корчунок, з південного сходу — Карвати. Територія мало заліснена, проте на півдні є невеликий ліс під назвою Малиняк. Також у Дублянах є ботанічний сад і дендропарк Львівського національного університету природокористування (раніше Львівський національний аграрний університет), озера і заболочі території [Токарський, 1996].

Літературних даних щодо досліджень птахів у Дублянах небагато. З джерел відомо, що в період розквіту ботанічного саду, за даними Казимира Мічинського, який проводив спостереження у першій половині ХХ ст., в Дублянах гніздилися понад 200 видів птахів, серед яких синиці, дрозди, сойки, сороки, сичі, перелітні види — соловейко, вивільга, зозуля, зяблик, шпак [Miczuński K., 1862; Лисак Г. А., Хірівський П. Р., Мазурак О. Т., 2017]. Також у межах міста було спостереження пугача (*Bubo bubo*) [В. Пограничний, 1991; Башта А.-Т., 2012].

Наші дослідження птахів на території Дублян проводили під час польових сезонів у 2017–2022 рр., точковими і маршрутними обліками, а також методом модифікованих нелінійних трансект  $l=100$  м.

Протягом всього періоду спостережень ми спостерігали 65 видів птахів, систематика [Фесенко, Бокотей, 2007]: лелека білий (*Ciconia ciconia*), бугайчик (*Ixobrychus minutus*), чепура велика (*Ardea alba*), чапля сіра (*A. cinerea*), лебідь-шипун (*Cygnus olor*), крижень (*Anas platyrhynchos*), яструб малий (*Accipiter nisus*), канюк звичайний (*Buteo buteo*); боривітер звичайний (*Falco tinnunculus*), деркач (*Crex crex*), лиска (*Fulica atra*), чайка (*Vanellus vanellus*), крячок білощокий (*Chlidonias hybrida*), голуб сизий (*Columba livia*), припутень (*Columba palumbus*), горлиця садова (*Streptopelia decaocto*), зозуля (*Cuculus canorus*), сова вухата (*Asio otus*), серпокрилець чорний (*Apus apus*), бджолоїдка (*Merops apiaster*), жовна сива (*Picus canus*), дятел звичайний (*Dendrocopos major*), ластівка берегова (*Riparia riparia*), ластівка сільська (*Hirundo rustica*), ластівка міська (*Delichon urbicum*), жайворонок польовий (*Alauda arvensis*), плиска жовта (*Motocilla flava*), плиска біла (*M. alba*), сорокопуд терновий (*Lanius collurio*), вивільга (*Oriolus oriolus*), шпак звичайний (*Sturnus vulgaris*), сойка (*Garrulus glandarius*), сорока (*Pica pica*), галка (*Corvus monedula*), грак (*C. frugilegus*), крик (*C. corax*), волове око (*Troglodytes troglodytes*), очеретянка велика (*Acrocephalus arundinaceus*), кропив'янка чорноголова (*Sylvia atricapilla*), вівчарик-ковалик (*Phylloscopus collybita*), вівчарик жовтобровий (*Ph. sibilatrix*), горихвістка чорна (*Phoenicurus ochruros*), вільшанка (*Erithacus rubecula*), соловей східний (*Luscinia luscinia*), чикотень (*Turdus pilaris*), дрізд чорний (*T. merula*), дрізд-омелюх (*T. viscivorus*), дрізд співочий (*T. philomelos*), синиця вусата (*Panus biarmicus*), синиця довгохвоста (*Aegithalos caudatus*), гаїчка болотна (*Poecile palustris*), гаїчка-пухляк (*P. montanus*), синиця блакитна (*Cyanistes caeruleus*), синиця велика (*Parus major*), повзик (*Sitta europaea*), горобець хатній (*Passer domesticus*), горобець польовий (*P. montanus*), зяблик (*Fringilla coelebs*), зеленяк (*Chloris chloris*), чиж (*Spinus spinus*), щиглик (*Carduelis carduelis*), снігур (*Pyrrhula pyrrhula*), костогриз (*Coccothraustes coccothraustes*), вівсянка звичайна (*Emberiza citronella*). Також на території Дублян зрідка спостерігали одуда (*Upupa epops*) (26.06.2018) та рибалочку (*Alcedo atthis*) (10.09.2019).

Проведені дослідження дають змогу стверджувати, що склад орнітофауни Дублян складають щонайменше 65 видів птахів, які належать до 13 рядів. Серед них найчисельнішими є синиця велика, синиця блакитна, грак, галка, припутень, голуб сизий, зяблик, вівчарик-ковалик, шпак звичайний, дрізд чорний, ластівка міська, ластівка сільська, серпокрилець чорний, соловей східний. Такий перелік видів птахів є співзвучним з тим, який наводили в публікаціях 170 років тому. Однак протягом останніх десятиліть відбулися зміни в орнітофауні не лише міста чи західного регіону України, але Європи загалом. В межах Дублян ми не спостерігали сича хатнього. Проте з'явилися нові види, зокрема усі представники родини Чаплевих, припутень (до 2000-х років — суто лісовий голуб) та серпокрилець чорний, як вид урбаніст, проте, який ще 100 років тому гніздився у лісах.

**Ключові слова:** Дубляни, орнітофауна, видовий склад

## Розробка специфічних праймерів для детекції РНК вірусу геморагічної хвороби кролів методом ПЛР

Я. Криця, О. Тарасов, О. Захарова, Н. Меженська, А. Моложанова, Т. Сидоренко

iana.kritsyia@gmail.com

Інститут ветеринарної медицини НААН, м. Київ, Україна

Кролі — універсальні тварини, яких вирощують в усьому світі заради м'яса, хутра та пуху, а також як лабораторних, виставкових та домашніх тварин. Світове лідерство у виробництві кролятини займає Китай — близько 60% від загального світового виробництва, друге місце посідає Північна Корея — близько 12%, третє місце належить Єгипту — близько 5%. У Європі лідерами з виробництва кролятини є Італія, Іспанія, Франція, Чехія, Німеччина. Поступово збільшують об'єми виробництва м'яса кролів Греція, Угорщина, Болгарія [Гончар О. та ін., 2020].

В Україні щороку реєструється стійке зниження обсягів виробництва в галузі кролівництва, що пов'язано насамперед зі зменшенням поголів'я кролів. Згідно з офіційними даними Державної служби статистики України [стат. збірник «Тваринництво України»], кількість кролів у господарствах усіх категорій за 30 років, з 1991 р. по 2021 р., зменшилася на 28,6%, тобто щороку — у середньому на один відсоток.

Більшість поголів'я кролів в Україні в 2021 р., а саме 96,9% утримували в особистих селянських господарствах, відповідно, лише 3,1% — у сільськогосподарських підприємствах. Звісно, така ситуація не сприяє приросту поголів'я кролів в Україні. Загальна кількість цих тварин у господарствах всіх категорій в Україні у 2021 р. становила лише 4,504 млн.

Однією з найзагрозливіших інфекційних хвороб, яка дуже заразна та смертельна як для диких, так і домашніх кролів, є геморагічна хвороба кролів (ГХК, англ. RHD) [Lavazza A., Carucci L., 2008]. Збудником ГХК є специфічний каліцивірус (рід *Lagovirus*, сімейство *Caliciviridae*), який є дрібним круглим РНК-вірусом без оболонки з лише одним основним капсидним білком VP60. Існує лише один генотип вірусу RHD (далі RHDV), який складається з двох підтипів: RHDV «класичний», вперше виявлений у 1984 р. в Китаї, та «новий» вірус під назвою RHDV2, вперше виявлений у 2010 р. у Франції, який в наш час у багатьох країнах замінює «класичний» RHDV. ГХК вважають ендемічною у більшості частин світу — Європі, Північній Африці, Австралії, Новій Зеландії тощо [Hall R. N. et al., 2015].

Мета — розробити та випробувати специфічні праймери для детекції РНК вірусу геморагічної хвороби кролів, а також підібрати компоненти для набору з діагностики ГХК методом полімеразної ланцюгової реакції в реальному часі (ПЛР-РЧ). Методи — аналітичні, молекулярно-генетичні, статистичні. Всі дослідження, обліки, виміри, спостереження проводили за загальноприйнятими методиками.

Проаналізовано нові дані щодо геному вірусу геморагічної хвороби кролів на основі послідовностей, викладених в *GeneBank* (NCBI), із використанням повногеномних секвенсів JX886001 та JX886002, а також варіабельних фрагментів генів, які кодують капсидні протеїни vp10 (KF442962.2 GI: 764810355) та vp60 (KF442960.1 GI: 544160834) з метою подальшого дизайну та оптимізації рекомендованих в літературі наборів праймерів для виявлення специфічних фрагментів геному вірусу геморагічної хвороби кролів. У дослідженнях використано систему ампліфікації у реальному часі *BioRad SFX96*. Проведено оптимізацію концентрацій компонентів реакційної суміші для діагностики ГХК методом ПЛР у режимі реального часу.

Кожна реакційна суміш (20 мкл) складалася з 15 мкл 1×PCR буфера — dNTP в концентрації 200 мкМ, розчин MgCl<sub>2</sub> за концентрації 2,5 мМ, Taq-полімераза, суміш праймерів, і 5 мкл матричної РНК.

У процесі оптимізації умов проведення ПЛР-РЧ необхідно було підібрати такі параметри ампліфікації, які б забезпечували оптимальну роботу набору праймерів та зонду. Оптимізований режим проведення ЗТ-ПЛР у реальному часі складався з етапів: 1) зворотня транскрипція — 50°C, 30 хв.; 2) початкова денатурація ДНК — 95°C, 10 хв.; 40 циклів: 3) денатурація ДНК — 95°C, 20 с; 4) відпалювання праймерів — 60°C, 20 с; 5) елонгація — 72°C, 30 с. Реєстрацію флуоресценції проводили за 60°C на каналі FAM кожний цикл.

1. Здійснено підбір оптимального набору праймерів для діагностики геморагічної хвороби кролів методом ПЛР у режимі реального часу на основі відомих генетичних послідовностей вірусу геморагічної хвороби кролів.

2. Оптимізовано компоненти реакційної суміші та підібрано умови проведення ПЛР-РЧ для виявлення специфічного фрагменту геному вірусу геморагічної хвороби кролів методом ПЛР у режимі реального часу. Довірчий інтервал аналітичної чутливості діагностичного набору щодо вірусу ГХК першого та другого типу за концентрації  $1,0 \times 10^5$ – $1,0 \times 10^0$  копій/см<sup>3</sup> становить 100%. Таким чином, LOD валідованої тест-системи становить одну копію цільової РНК вірусу ГХК першого та другого типів.

**Ключові слова:** кролі, геморагічна хвороба, ПЛР, праймери

## Глутатионова ланка антиоксидантного захисту щурів за впливу естерів тіосульфонатів

Н. Любас<sup>1</sup>, Б. Котик<sup>1</sup>, Р. Іскра<sup>2</sup>

n\_lubas@ukr.net

<sup>1</sup>Інститут біології тварин НААН, м. Львів, Україна

<sup>2</sup>Львівський національний університет імені Івана Франка, м. Львів, Україна

Для розвитку тваринництва кормова база має вирішальне значення, оскільки впливає на кількість тварин, продуктивність, якість продукції та собівартість. У кормах жири часто руйнуються через окислення, утворюючи токсичні кінцеві продукти, тому до комбікормів додають антиоксиданти — як природні, так і синтетичні, щоб підвищити стабільність і зменшити розпад жирів. Природні антиоксиданти — такі, як аліцин і аліїн, які містяться в екстрактах часнику та цибулі, показали антиоксидантну дію в дослідженнях на курях, свинях, коровах. Структурними аналогами природних органічних сульфуровмісних сполук є S-алкілові естери тіосульфонокислот з широким спектром біологічної дії, яка часто перевищує ефективність структурних природних аналогів.

Одним із головних критеріїв оцінки можливого використання сульфуровмісних сполук для захисту кормів від окисних процесів, бактеріальних та грибкових інфекцій є дослідження їх впливу на організм тварин, зокрема на прооксидантно-антиоксидантний профіль у крові.

Об'єктами дослідження були S-етил-4-амінобензотіосульфонат (ЕТС), S-аліл-4-амінобензотіосульфонат (АТС) та S-аліл-4-ацетиламінобензотіосульфонат (ААТС), синтезовані на кафедрі технології біологічно активних речовин, фармації та біотехнології Національного університету «Львівська політехніка» [Лубенець, 2003].

Дослідження здійснені на базі лабораторії біохімії адаптації та онтогенезу тварин Інституту біології тварин НААН. Було проведено два етапи досліджень на білих лабораторних щурах-самцях лінії *Wistar* масою 190–210 г з дотриманням загальних етичних принципів експериментів на тваринах, прийнятих Першим національним конгресом з біоетики. Тварин утримували у виварії за відповідних умов освітлення і температурного режиму. Щурів поділили на чотири групи по 5 тварин у кожній: I — контрольна, II, III, IV — дослідні. Тварини контрольної та дослідних груп отримували стандартний гранульований корм для лабораторних щурів. На першому етапі досліджень тваринам усіх дослідних груп до раціону додавали по 0,5 см<sup>3</sup> олійного розчину тіосульфонатів з розрахунку 100 мг на кг маси тіла, а на другому етапі досліджень — 50 мг на кг маси тіла. Під час обох етапів досліджень щури II групи отримували з кормом ЕТС; III групи — АТС; IV — ААТС у відповідних дозах. Тваринам контрольної групи до раціону аналогічно давали 0,5 см<sup>3</sup> олії один раз на добу («Олейна», традиційна рафінована, дезодорована, виморожена; виробник ПрАТ з ІІ «ДООЕЗ»; сертифіковано згідно зі стандартом ДСТУ 4492:2017 та вимогами ISO 14024). Тривалість кожного з етапів експериментів — 21 доба. Після закінчення першого та другого етапів дослідження тварин усіх груп декапітували за тіопенталової анестезії. Матеріалом для досліджень слугувала плазма та еритроцити крові щурів. У плазмі визначали вміст продуктів пероксидного окиснення ліпідів за концентрацією гідропероксидів ліпідів (ГПЛ) та ТБК-активних продуктів. У гемолізатах крові визначали вміст відновленого глутатиону (ВГ), активність глутатіонпероксидази (ГП) і глутатіонредуктази (ГР). Одержані цифрові дані обробляли статистично за допомогою програми *Microsoft Excel*, використовуючи метод one-way ANOVA.

Результати наших досліджень свідчать про те, що тіосульфонати не спричиняли збільшення вмісту ТБК-активних продуктів у плазмі крові, причому показники у тварин дослідних груп вірогідно не відрізнялися від показників у контрольній групі. За згодовування щурам з кормом ЕТС в обох концентраціях спостерігали тенденцію до зростання вмісту ГПЛ, тоді як АТС та ААТС за концентрації 50 мг/кг не спричиняли таких змін у щурів III та IV груп, а за концентрації 100 мг/кг спостерігали тенденцію до зниження вмісту ГПЛ. Водночас досліджувані тіосульфонати в обох концентраціях спричиняли вірогідне зростання вмісту ВГ у тварин усіх дослідних груп. При тому, що активність ГР вірогідно не відрізнялася від контрольних значень, а активність ГП вірогідно зростала за дії ЕТС в обох концентраціях та АТС за концентрації 50 мг/кг, знижувалася за дії ААТС в обох концентраціях. Отож, у дослідженнях встановлено потенційні антиоксидантні властивості естерів тіосульфонатів та їхній дозозалежний вплив на показники глутатионової ланки у крові щурів.

**Ключові слова:** щури, естери тіосульфонатів, глутатионова система, кров



## Гіперглікемія як фактор зменшення рухливості сперматозоїдів

**Б. Любчич**

bogdana.lubchech113@gmail.com

ННЦ «Інститут біології та медицини», Київський національний університет імені Тараса Шевченка, м. Київ, Україна

Рухливість сперматозоїдів є одним із найважливіших параметрів, які використовують для *in vitro* оцінки якості та функції сперми. Серед фенотипів патоспермії, астенозооспермія є одним із найбільш спостережуваних; за оцінками, її виявляють у понад 20% безплідних чоловіків. В останні роки багато дослідників зосередилися на можливих факторах, які призводять до астенозооспермії, виявивши існування багатьох клітинних і молекулярних чинників. Відомо, що пошкодження сперматозоїдів, яке впливає на мітохондрії, клітинну мембрану та/або фіброзну оболонку в головній частині джгутика, призводить до зміни рухливості сперматозоїдів через зниження здатності клітини виробляти АТФ. Перекисне окислення ліпідів призводить до порушення рухливості через втручання в сигналізацію рухливості клітин і шляхи метаболізму та зниження фосфорилування аксонемального білка, що призводить до іммобілізації сперматозоїдів. Активні форми кисню пошкоджують клітину у вигляді пероксидативного пошкодження плазматичної мембрани сперми, пошкодження ДНК і запуску апоптозу клітин.

Встановлено, що тривала гіперглікемія призводить до окислювального стресу, діабетичної нейропатії та резистентності до інсуліну. Інсулінорезистентність призводить до зниження секреції гонадних стероїдів, провокує пошкодження яєчок, сперматогенних і стромальних клітин, сім'яних каналців і різні структурні пошкодження чоловічих репродуктивних органів. Тканини яєчок чоловіків з діагнозом цукровий діабет (ЦД) мають підвищену концентрацію кінцевих продуктів глікації та окислювальний стрес, що може призвести до фрагментації мітохондріальної та ядерної ДНК сперми, зниження рівня функціональних біомаркерів зародкових клітин — таких, як аланін, транспортер глюкози 1, фосфофруктокіназа 1 та лактатдегідрогеназа. Припускають, що ЦД здатний впливати на експресію генів, які беруть участь у репарації ДНК сперматозоїдів, що призводить до високої швидкості фрагментації ядерної ДНК, делецій мітохондріальної ДНК зі зміною дихального ланцюга мітохондрій і подальшим зниженням рухливості сперматозоїдів.

У проведеному метааналізі чотирнадцять досліджень встановили нижчу рухливість сперматозоїдів у чоловіків із ЦД порівняно з контрольною групою, в одному виявили вищу рухливість сперматозоїдів у чоловіків із ЦД, тоді як решта вісім досліджень не виявили різниці між групами [Lotti F., Maggi M., 2023].

Таким чином, наявні літературні дані мають суперечливі висновки, тому проблема зменшення рухливості сперматозоїдів, зокрема за умов гіперглікемії, потребує подальшого дослідження.

**Ключові слова:** гіперглікемія, рухливість сперматозоїдів, астенозооспермія

## Lipid profile of carp after action of vitamin and mineral additive

M. Masyuk, K. Smolyaninov

m.furmanevych@ukr.net

Institute of Animal Biology NAAS, Lviv, Ukraine

Adequate vitamin and mineral supplement is essential to avoid malnutrition, maintain adequate performance and health. Further, it is becoming evident that diets are supplemented with specific nutrients, vitamins or minerals at levels above requirement that may improve health condition and disease resistance. Last years the investigation of the influence of vitamins and trace elements on the fish organism has been focused on studying the essential biologically active compounds on the reproductive function of carps and certain links of their body metabolism. Live vitality and reproductive ability of fish depends on ensuring their requirements in these nutrients. This is due to a wide range of biological effects of trace elements in humans and animals and their positive impact on different links of metabolism. At the same time, vitamins malnutrition is the most common category of deficiencies observed in commercial aquaculture. Diet supplementation with certain minerals at levels above requirements for normal growth and below those causing toxicity may enhance immune function and disease resistance in fish, although such effects are not always evident. Another problem is the role of adequate mineral and vitamin nutrition in proper functioning of reproductive system of female carp especially at pre-spawn period, it is in the focus of investigators throughout the world. In this context, the aim of our study was to investigate the effect supplement with different level of fat-soluble vitamins A, D, E and trace elements selenium, zinc and iodine on lipid individual classes and fatty acid composition in the body of female carp in pre-spawning period.

Experiment was conducted in Lviv Department of the Institute of Fisheries NAAS in 3 groups of five-year-old female carp of local breed, divided by principle of analogues into control and two experimental groups of 10 individuals in each group. Fish were kept in a special aquarium under conditions of continuous closed system of water circulation. Temperature was maintained at 20°C. Female carp of control group 30 days before the intended spawning were fed with granulated feed (fish meal, wheat, rye flour, oil). Female carp of first experimental group during one month were fed a similar food with addition of *Tryvit* (*Fortis Pharma*, Ukraine) that contains 2,500 IU vitamin A, 3333 IU vitamin D<sub>3</sub> and 1.7 mg vitamin E and also trace elements: potassium iodide — 5 mg/kg of food, zinc sulfate — 40 mg/kg and sodium selenite — 0.3 mg/kg. Female carp of the second experimental group were feed with addition of *Tryvit* that contains 5000 IU of vitamin A, 6666 IU of vitamin D<sub>3</sub> and 3.3 mg of vitamin E, and also trace elements: potassium iodide — 10 mg/kg of food, zinc sulfate — 60 mg/kg and sodium selenite — 0.5 mg/kg. The samples of liver and skeletal muscles for biochemical researches were taken after finishing the experiment.

For this purpose, the lipids were determined after separation by thin layer chromatography and fatty acid composition by gas chromatography. Vitamin and mineral supplement to carp diet leads to the increase of the level of mono- and polyunsaturated fatty acids in the skeletal muscle of female carps. Significant decrease of palmitic acid to 14.1% in II experimental group compare to 19.06% in control ( $P < 0.5$ ) and simultaneous increase of oleic acid to 50.81%, in II experimental group compare to 44.84% in control ( $P < 0.5$ ) was demonstrated. It has been established the higher level of phospholipids in liver and skeletal muscles of carps after introduction of vitamins and mineral supplement. These results suggest the positive changes in lipid metabolism in female carp under influence of vitamin and mineral supplement at pre-spawning period in regard of enhancement of their reproductive function.

**Key words:** lipid individual classes, pre-spawning period, polyunsaturated fatty acids, saturated acids, supplement

## Сезонність спалахів геморагічної хвороби кролів (RHDV (GI.1) та RHDV2 (GI.2)) в Україні у 2021–2022 рр.

А. Меженський, Н. Меженська

andrey4egvet@gmail.com

Інститут ветеринарної медицини НААН, м. Київ, Україна

Геморагічна хвороба кролів (ГХК, англ. RHD) — це гостра, септична, смертельна (летальність до 90–100%) інфекційна хвороба, збудником якої є РНК-вмісний вірус (англ. RHDV), що належить до родини *Caliciviridae* і роду *Lagovirus*. Хвороба, спричинені RHDV (GI.1), вперше спалахнула в Китаї у 1984 р. [Liu et al., 1984]. У 2010 р. у Франції було виявлено новий варіант RHDV [Le Gall-Reculé et al., 2013], який позначають як другий тип RHDV або RHDV2 (GI.2) [Le Pendu et al., 2017]. У Франції, Іспанії, Португалії, Австралії та деяких інших країнах RHDV2 (GI.2) замінив (витіснив) RHDV (GI.1) як поточний епізоотичний штам [Dalton et al., 2014, Lopes et al., 2015]. В Україні RHDV2 (GI.2) з'явився відносно недавно — у 2017–2018 рр. [Музикіна, 2021], а наукові дослідження з визначення особливостей епізоотичного процесу за RHD, спричиненої RHDV (GI.1), порівняно з RHDV2 (GI.2), не проводилися і є актуальними. Тому метою роботи було дослідити сезонність спалахів геморагічної хвороби кролів, спричиненої вірусами першого (GI.1) та другого (GI.2) типів, в Україні у 2021–2022 рр.

Дослідження проводили у 2021–2022 рр. пасивним епізоотичним моніторингом RHD на території України. Базою досліджень були 28 кролівничих господарств, розташованих на території Вінницької, Житомирської, Київської, Львівської, Одеської, Полтавської, Сумської, Харківської, Хмельницької та Чернігівської обл., де реєстрували спалахи RHD, а також лабораторія «Науково-дослідний навчальний центр діагностики хвороб тварин» Інституту ветеринарної медицини НААН. Для постановки діагнозу на RHD застосовували епізоотологічні, клінічні, патоморфологічні, молекулярно-генетичні (RT-PCR) та імунохроматографічні, а для дослідження сезонності спалахів — епізоотологічні та статистичні (з використанням програми *Microsoft Office Excel 16.0*) методи дослідження.

Зміни прояву епізоотичного процесу за RHD протягом календарного року, тобто сезонність, визначає підвищення захворюваності на цю інфекцію у певні пори року. При проведенні досліджень враховували, що сезонність за RHD може залежати як від природних факторів, так і від умов (систем) утримання кролів та господарської діяльності (виробничих циклів). У доступних наукових публікаціях інформація щодо сезонності за RHD суперечлива: одні автори стверджують, що виявили певні сезонні закономірності, інші переконують, що хвороба реєструється в будь-яку пору року.

Згідно з отриманими нами результатами, спалахи RHD, спричинені RHDV (GI.1) у кролівничих господарствах України у 2021–2022 рр., мали виражену сезонність та реєструвалися у вересні (3), жовтні (5), листопаді (2), березні (2), квітні (3), травні (2), тобто восени та навесні. Більшість спалахів RHD, спричинених RHDV2 (GI.2), мали дещо іншу сезонність — реєструвалася у листопаді (4), грудні (2), січні (2) і лютому (2), тобто наприкінці осені й частіше взимку. Лише один спалах, спричинений RHDV2 (GI.2), був зареєстрований у березні. Встановлені сезонні закономірності, на наш погляд, можуть бути пов'язані з господарською діяльністю кролівничих господарств, а саме з підвищенням у ці пори року активності з таких напрямків:

— надходження до «благополучних» господарств нових племінних кролів, які можуть бути в інкубаційному періоді, стадії реконвалесценції або вірусносійства, а також тимчасовий обмін самцями-плідниками, що є типовим для невеликих господарств;

— відвідування кролівничих господарств сторонніми особами, переважно з метою придбання племінних тварин та/або обміну досвідом;

— комерційна діяльність власника та/або працівників кролівничого господарства зі скуповування кролячих шкур з інших кролівничих ферм для перепродажу;

— придбання комбікормів та/або сіна з інших кролівничих господарств;

— участь у тваринницьких виставках, які проводять переважно восени, рідше навесні.

Одержані результати свідчать про виражену сезонність епізоотичного процесу за RHD зі збільшенням числа спалахів восени та навесні за RHDV (GI.1), а також восени та взимку за RHDV2 (GI.2). Зрозуміло, що період проведених досліджень з визначення сезонності (2021–2022 рр.) та, до того ж, під час здійснення лише пасивного епізоотичного моніторингу, замалий і недостатній для отримання вірогідних наукових даних. Тому подальші наукові дослідження з вивчення сезонності ГХК в Україні є актуальними, перспективними і ми плануємо їх продовжити.

**Ключові слова:** кролі, інфекційні хвороби кролів, геморагічна хвороба кролів, епізоотичний моніторинг, сезонність

## Особливості вигодовування потомства у дрозда чорного (*Turdus merula*)

I. Медведєва<sup>1</sup>, Е. Венжин<sup>2</sup>, К. Ленювські<sup>2</sup>, Н. Таньска<sup>2</sup>

medvedeva.iruna@gmail.com

<sup>1</sup>Інститут екології Карпат НАН України, м. Львів, Україна

<sup>2</sup>Інститут біології, Ряшівський університет, м. Ряшів, Польща

Важливим аспектом в дослідженні життєдіяльності птахів та їх репродуктивного процесу є відстежування їхньої гніздової поведінки. У спостереженнях за птахами дедалі популярнішим стає використання фото- та відео-пасток, за допомогою яких, мінімально привертаючи увагу птахів, можна виявити складові харчового раціону пташенят та особливості гніздової комунікації.

Обраний нами об'єкт дослідження, дрізд чорний, є переважно моногамним та територіальним видом, який охороняє свою гніздову територію гучним співом. Міські популяції зазвичай є осілими, а лісові — перелітними. Період розмноження у них припадає на початок квітня до кінця липня і зазвичай охоплює дві кладки [Tomiałojć, 1994]. Зважаючи на те, що вигодовування потомства двох кладок припадає на різні місяці року, то їхній раціон має певні відмінності. Нашим завданням було дослідити, який відсоток харчування становить їжа рослинного походження, а який — тваринного, а також вирахувати інтервали між принесенням їжі до гнізда та визначити, яка роль кожного з партнерів у вигодовуванні пташенят.

Для виявлення гнізд оглядали крони дерев з допомогою біноклів. Ми спрощували пошуки, орієнтуючись на дорослих птахів, які приносили будівельний матеріал для гнізда. Для проведення спостережень встановили відеопастки біля виявлених гнізд дрозда чорного. Це дало нам змогу отримати дані про інтервали між годуваннями пташенят на різних етапах розвитку, особливості їх харчування та інші аспекти гніздової поведінки цього виду. Дослідження проводили на виявлених гніздах, розташованих на різних ділянках, у травні, червні та липні на території Польщі. Після опрацювання відеоматеріалів проводили статистичну обробку результатів. Ми змогли визначити, який з партнерів частіше навідувався до гнізда для вигодовування пташенят. Також було виявлено, на який період часу потомство залишалось без нагляду, скільки часу і хто з партнерів обігрівав пташенят. Основна мета нашого дослідження полягала у вивченні різниці в раціоні вигодовування пташенят, зокрема у процентному співвідношенні між їжею рослинного та тваринного походження, а також спостереженні інших особливостей процесу вигодовування молодих птахів.

В результаті спостережень виявлено, що раціон виводку дрозда чорного в травні та червні на 100% складався з їжі тваринного походження — імаго різноманітних безхребетних та їхні личинки. У липні в середньому до 27% раціону складали ягоди — смородина, вишня, черешня тощо. В окремі дні відсоток ягід в раціоні становив понад 50%. Також, опираючись на результати попередніх досліджень, ми підтвердили, що заміна частини раціону на ягоди відбувалась не лише через сезон дозрівання ягід, але й тому, що велика частина личинок закінчили свій етап розвитку, тісно пов'язаний з вегетаційним періодом деревних рослин. У другій половині червня та в липні з настанням дефіциту гусениць раціон доповнився твердокрилимими та прямокрилимими. Також ми підтвердили виявлену раніше тенденцію динаміки інтервалів між принесенням їжі до гнізда. На ранніх етапах розвитку пташенят інтервали між вигодовуванням становили 11 хв., потім вони ставали коротшими — 8 хв., що пов'язане з пізнішими етапами розвитку, коли пташенята потребують більше енергії для росту. Також стало очевидним, що порції принесеного корму містять більше безхребетних. На завершення вигодовування партнери вимушені годувати своє потомство значно рідше. В досліджуваних нами гніздах інтервал між вигодовуванням становив в середньому 22 хв., в окремі дні тривав навіть до години. Такі зміни в інтервалах пов'язані з тим, що дорослі птахи мотивують молодняк виходити з гнізда: наприклад, приносять харчі, але не годують потомство, а залишаються поруч з гніздом в полі зору пташенят.

Результати наших досліджень про вигодовування потомства дрозда чорного потенційно можуть бути використані як інформація для порівняння та подальших досліджень особливостей репродуктивної поведінки цього виду.

**Ключові слова:** гніздова поведінка, харчовий раціон, репродуктивна поведінка, інтервали між годуваннями, гніздова територія

## Стан системи еритроноу за експериментального цукрового діабету та перорального введення екстракту коралових плодів сорту *Koralovyi* дерену справжнього (*Cornus mas* L.)

А. Мороз<sup>1</sup>, М. Чабан<sup>1</sup>, Ю. Наум<sup>1</sup>, А. Ломов<sup>1</sup>, І. Бродяк<sup>1</sup>, А. Кухарська<sup>2</sup>, Н. Сибірня<sup>1</sup>

anna.moroz@lnu.edu.ua

<sup>1</sup>Львівський національний університет імені Івана Франка, м. Львів, Україна

<sup>2</sup>Вроцлавський університет природничих наук, м. Вроцлав, Польща

Довготривала гіперглікемія та порушення метаболізму вуглеводів, ліпідів і білків за цукрового діабету (ЦД) призводять до пошкодження, та, як наслідок, дисфункції різних органів і систем. Негативного впливу найпершими зазнають клітини крові та ендотеліоцити кровоносних судин. Ускладнення, пов'язані з діабетом, виникають через зміну функціональної активності клітин організму, тому пошук природних препаратів, які б запобігали метаболічним, структурним та функціональним порушенням, є актуальною проблемою сьогодення. Перспективним джерелом біологічно активних речовин, які можна використати для терапії ЦД, є плоди дерену справжнього. Тому метою роботи було дослідити стан системи еритроноу за експериментального цукрового діабету на фоні перорального введення екстракту коралових плодів сорту *Koralovyi* дерену справжнього (*Cornus mas* L.).

Дослідження проводили на самцях щурів лінії *Wistar* з вихідною масою 140–160 г. Експериментальний ЦД індукували внутрішньоочеревинною ін'єкцією стрептозоцину (55 мг/кг маси тіла), розчиненого в цитратному буферному розчині. Тварин було поділено на три групи: перша (контроль, здорові тварини) та друга (діабетичний контроль, тварини з ЦД) впродовж 14 днів перорально отримували питну воду; тваринам третьої групи (діабетичні щури, які споживали екстракт) перорально вводили екстракт коралових плодів дерену справжнього у дозі 20 мг/кг маси тіла 14 днів. Після закінчення дослідного періоду тварин усіх груп декапітували із застосуванням ефірного наркозу та брали біоматеріали для досліджень гематологічних показників — кількості еритроцитів, концентрації гемоглобіну, середнього вмісту гемоглобіну в одному еритроциті та кольорового показника у щурів.

Аналіз змін гематологічних параметрів дає змогу виявити приховані патологічні процеси в тканинах і органах, а також проконтролювати позитивний чи негативний ефект за введення лікарських препаратів. Згідно з одержаними результатами, загальна кількість еритроцитів не зазнавала статистично вірогідних змін у тварин з ЦД, але було встановлено вірогідне зниження концентрації гемоглобіну та середнього вмісту гемоглобіну в одному еритроциті. Такі зміни показників системи еритроноу спричинені порушеннями структури і функції клітин нирок, які синтезують еритропоетин. У цьому разі зниження гормоностимулювального ефекту призводить до сповільненого дозрівання еритроцитів та, відповідно, до зменшення кількості гемоглобіну в одному еритроциті. Введення екстракту коралових плодів дерену справжнього тваринам зі стрептозоцин-індукованим діабетом зумовило статистично вірогідне зростання концентрації гемоглобіну в 1,4 раза порівняно з діабетичною групою тварин. Екстракт коралових плодів *Cornus mas* L. теж обумовив статистично вірогідне підвищення середнього вмісту гемоглобіну в одному еритроциті та кольорового показника.

На основі проведених експериментальних досліджень встановлено коригувальний ефект екстракту коралових плодів сорту *Koralovyi* дерену справжнього на стан системи еритроноу за експериментального цукрового діабету.

**Ключові слова:** цукровий діабет, система еритроноу, дерен справжній (*Cornus mas* L.), сорт *Koralovyi*

## Аналіз послідовності чернетки геному ізоляту *Enterococcus* sp. SB12

В. Мушинська<sup>1</sup>, І. Роман<sup>2</sup>, С. Тістечок<sup>2</sup>, О. Громико<sup>2</sup>, О. Цісарик<sup>3</sup>,  
І. Сливка<sup>3</sup>, О. Штапенко<sup>1</sup>, В. Сурватка<sup>2</sup>

arillenmeril@gmail.com

<sup>1</sup>Інститут біології тварин НААН, м. Львів, Україна

<sup>2</sup>Львівський національний університет імені Івана Франка, м. Львів, Україна

<sup>3</sup>Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького, м. Львів, Україна

Рід *Enterococcus* належить до групи молочнокислих бактерій і представлений грам-позитивними неспороутворювальними коками. Для них характерна факультативна анаеробність і здатність рости в широкому діапазоні несприятливих умов, зокрема за високої температури, рН, концентрації хлориду натрію та наявності жовчі в середовищі, що визначає їхнє поширення у водоймах, організмі тварин, людей і рослин. Ентерококи, зокрема деякі штами *E. faecium*, активно використовують як консерванти у виробництві молочнокислої та м'ясної продукції через їхні пробіотичні властивості та антибіотичну активність проти патогенної мікрофлори [Foulique Moreno, 2006; Van Tupe, 2014]. Також вони входять до складу кормових добавок і пробіотичних препаратів. Проте деякі ентерококи мають здатність спричиняти нозосомікальні інфекції, а також можуть містити гени вірулентності та антибіотикорезистентності. Цей факт перешкоджає вільному й безпечному використанню цих мікроорганізмів у біотехнології, харчовій та сільськогосподарській галузі.

З огляду на це, метою нашої роботи було здійснити секвенування, анотацію та біоінформаційний аналіз геному природного ізоляту ентерококів *Enterococcus* sp. SB12. Цей ізолят отримали з овечої бринзи, виготовленої у Карпатському регіоні України. Він демонструє чутливість до ванкоміцину, ампіциліну, стрептоміцину, левіміцитину, пеніциліну, рифампіцину, аміноглікозидних антибіотиків — канаміцину, стрептоміцину і гентаміцину, та проявляє активність проти грам-позитивних й грам-негативних бактерій. Геном штаму *Enterococcus* sp. SB12 секвеновано з використанням *Illumina MySeq* в режимі швидкого запуску (2×250 нт) з парною відстанню 500 п.н. Зчитування було зібрано за допомогою асемблера *GS de novo (Roche)* з отриманням остаточної збірки 67 контигів розміром >1,000 п.н. кожен (середнє покриття 84-кратне). Розмір генома штаму *Enterococcus* sp. SB12 становить 2 437 308 п.н. із вмістом Г+Ц 38,15%. Анотація генома цього штаму дала змогу ідентифікувати 2 434 імовірні кодуєчі послідовності, серед яких 2 382 генів синтезу можливих білків, 1 ген рРНК та 49 генів тРНК. З допомогою програми *BAGEL4* (<http://bagel4.molgenrug.nl>) в геномі штаму *Enterococcus* sp. SB12 ідентифіковано три ймовірні кластери генів біосинтезу бактеріоцинів, гомологічні з раніше ідентифікованими ентероцинами: ентероцин L50, ентероцин SE-K4 та ентеролізін А.

Отримані результати є першим етапом комплексного дослідження потенціалу ізоляту *Enterococcus* sp. SB12 як пробіотика для використання у кролівництві.

**Ключові слова:** *Enterococcus* sp., геном, пробіотики, бактеріоцини, біоінформаційний аналіз

## The use of ceftriaxone improves the structure of the hippocampal CA1 area and reduces behavioural problems in mice with mild brain injuries

Y. Naumenko<sup>1</sup>, T. Pivneva<sup>1,2</sup>

kronvin@gmail.com

<sup>1</sup>Bogomoletz Institute of Physiology of NASU, Department of Sensory Signalling, Kyiv, Ukraine

<sup>2</sup>Department of Biomedicine and Neuroscience, Kyiv Academic University, Kyiv, Ukraine

Traumatic brain injury is a condition defined by adverse cerebral harm arising from a physical impact originating externally, such as a powerful impact resulting from a car or domestic accident, an severe force generated by a blast wave, or biomechanical damage to the brain due to a collision in contact sports, among others. Despite symptoms of mild traumatic brain injury (mTBI), are more difficult to detect than those at severe head injuries due to moderate range of macroscopic abnormalities, data about the risk of late development neurodegenerative diseases after of mTBI are becoming more prominent.

We studied the effect of ceftriaxone on the developing of gliosis and changes in behaviour in mouse model of mTBI after ceftriaxone injections on days 3, 7, and 14 after injury using the following markers: Iba1 for microglia and GFAP for astroglia and confocal microscopy. As a behavioural test the Open Field test has been used. We also used non-parametric descriptive statistical methods.

Both GFAP and Iba-1 immunoreactivity was observed and gradually increased in CA1 area; their expression peaked on day 3. After application of ceftriaxone these parameters were dramatically reduced. The Open Field test revealed increased locomotor activity (number of crossed open field squares) in mice. This was particularly the case for the third day after the injury, ( $143,8 \pm 16$  squares) compared to  $97,2 \pm 14$  squares in control mice ( $P < 0.05$ ). The number of grooming and freezing events in animals also changed. Freezing events were considered to be any sudden stops of the mice during movement in an open space with subsequent resumption of motor activity. Such acts were more repeated among injured mice on the third day after injury ( $26.1 \pm 2$ ,  $P < 0,05$ ). Grooming activity had similar dynamics. On the third day after the injury, it was  $8.6 \pm 1$  in untreated mice, and almost twice lower in treated mice —  $5 \pm 2$  ( $P < 0.05$ ). The changes were associated with glial cell reactivity and excitotoxicity. Ceftriaxone induced decreasing these parameters to  $100,6 \pm 22$  crossed squares and  $5 \pm 2$  grooming events ( $P < 0.05$ ). It should also be noted that even in untreated mice, indicators of locomotor activity and anxiety-related events began to decline on the seventh day. However, in the case of mTBI, the main pathological processes occur in the first days, so the use of ceftriaxone is necessary to reduce the negative effects of the injury in a short period of time.

Thus, even if the traumatic brain injury is mild, the behavioural responses of mice undergo significant changes. Such changes can be considered both as a way to confirm the presence of trauma and as a marker of the influence of glial reactivity on mouse behaviour. Our findings support the concept of the importance of glial responsiveness to mild traumatic brain injury and may be a target for new therapeutic approaches in neuroprotection.

**Key words:** glial reactivity, mild traumatic brain injury, open field test, excitotoxicity, anxiety

## Вплив похідного тіазолу у комплексі з полімерним носієм на активність антиоксидантних ферментів клітин печінки мишей з лімфомою NK/Ly

Б. Омелюх, Б. Арсенюк, М. Ільків, Я. Шалай, А. Бабський

Bohdan.omeluh@gmail.com

Львівський національний університет імені Івана Франка, м. Львів, Україна

Попри високу ефективність хімотерапевтичних агентів, використовуваних у лікуванні онкологічних захворювань, залишається багато проблем, які обмежують їхнє терапевтичне використання: зокрема висока цитотоксичність щодо здорових клітин організму, виникнення мультирезистентності пухлинних клітин до лікарських засобів, недостатня розчинність і селективність протипухлинних препаратів [Cheng et al., 2021]. Протипухлинні агенти здатні зумовлювати численні побічні ефекти на кровотворну систему, порушувати функції нирок, печінки, серця. Печінку вважають найважливішим органом у процесах детоксикації і вона найбільше зазнає впливу токсичних сполук, до яких належать і хімотерапевтичні препарати. Протипухлинні засоби можуть впливати на структуру і функції клітин печінки, провокувати запалення та окислювальний стрес. Останній, зокрема, може виникати внаслідок дисбалансу в активності антиоксидантних ферментів і бути причиною гепатотоксичності, спричиненої хімотерапією [Cornu, Béduneau, Martin, 2020].

У роботі досліджували вплив похідного 2-аміно-5-бензилтіазолу у комплексі з полімерним носієм на активність ключових ферментів антиоксидантного захисту у клітинах мишачої лімфоми. Раніше було встановлено, що це похідне проявляє високу цитотоксичність до пухлинних клітин [Finiuk et al., 2017].

Усі експерименти проводили на білих мишах-самцях дикого типу з прищепленою лімфомою NK/Ly. Для вилучення печінки тварин декапітували під ефірним наркозом, після чого орган швидко вирізали та готували гомогенат. Початковий 10 мкМ розчин похідного тіазолу БФ1 (повна назва: N-(5-бензил-1,3-тіазол-2-іл)-3,5-диметил-1-бензофуран-2-карбоксамід) синтезовано на кафедрі органічної хімії Львівського національного університету імені Івана Франка. ПЕГвмісний носій (полі ПЕГ-метакрилат (поліПЕГМА475) (Th3)) синтезовано на кафедрі органічної хімії Національного університету «Львівська політехніка» [Finiuk et al., 2017; Мітіна та ін., 2020]. Водні дисперсії полімерного носія Th3 та комплексу з похідною БФ1 розчиняли в диметилсульфоксиді (ДМСО) і переносили у воду (Th4). До гомогенату печінки додавали досліджувані сполуки у діючих концентраціях 10 мкМ та інкубували протягом 15 хв. У дослідних зразках визначали активність супероксиддисмутази, каталази та глутатіонпероксидази. Статистичний аналіз результатів здійснювали за допомогою програми *Microsoft Excel 2013*. Для оцінки вірогідності обчислювали коефіцієнт Стьюдента.

Було встановлено, що контрольні рівні супероксиддисмутази у гепатоцитах мишей-пухлиноносіїв дорівнювали  $5,86 \pm 0,85$  од. актив./хв.×мг білка. Досліджуване похідне та його комплекс з полімерним носієм не впливали на активність цього ферменту. Активність каталази та глутатіонпероксидази у гепатоцитах мишей-пухлиноносіїв становили  $14,02 \pm 1,43$  нмоль  $H_2O_2$ /хв.×мг білка та  $8,13 \pm 0,74$  нмоль GSH/хв.×мг білка відповідно. Активність ферментів за дії похідного БФ1 і комплексу Th4 також не змінювалися. Полімер Th3 не впливав на активності ключових ферментів антиоксидантної системи клітин печінки мишей з лімфомою у жодній серії дослідів.

Отже, похідне тіазолу БФ1, полімерний носій Th3 та його комплекс з БФ1 не змінювали активність ферментів антиоксидантного захисту клітин печінки мишей з лімфомою NK/Ly. Раніше було встановлено, що досліджувані речовини не впливають на кератиноцити людини *in vitro* та цитологічні показники крові мишей з лімфомою *in vivo* [Finiuk et al., 2021; Ilkiv et al., 2022]. Такі результати вказують на безпечність досліджуваних сполук. Похідне тіазолу у комплексі з полімерними носіями — перспективний протипухлинний препарат, оскільки він є токсичним щодо пухлинних клітин і проявляє низьку побічну дію.

**Ключові слова:** похідне тіазолу, полімерні носії, лімфома, антиоксиданти



## Вплив теплового стресу на антиоксидантні показники крові курей

*Д. Передерій*

peredina0310@gmail.com

Інститут біології тварин НААН, м. Львів, Україна

Тепловий стрес (ТС) негативно впливає на організм тварин. Як один із факторів спричинення окислювального стресу, він також стимулює мітохондріальний окислювальний стрес і клітинну дисфункцію, що призводить до пошкодження клітин і їх апоптозу. Рівні активованого кисню, оскільки вони виникають в окислювальних системах, постійно провокують окисне пошкодження клітин, яке без складних антиоксидантних захисних механізмів швидко призведе до загибелі клітин.

Антиоксидантна система захисту організму тварин контролює і гальмує всі етапи реакцій утворення вільних радикалів, починаючи від їх ініціації та закінчуючи утворенням гідроперекисів ліпідів (ГПЛ) та малонного діальдегіду (МДА). Її основним завданням є зменшення кількості вільних радикалів до мінімально можливого рівня. Існує низка як ферментативних, так і неферментативних систем, які беруть участь в елімінації АФК. Одним із неферментативних антиоксидантів є відновлений глутатіон (ВГ), а ферментативні антиоксиданти охоплюють супероксиддисмутазу (СОД), пероксидазу, каталазу (КАТ), глутатіонпероксидазу (ГП), глутатіонредуктазу (ГР) тощо. Стан антиоксидантної системи у тварин і птахів впливає на їхній ріст, резистентність, продуктивність та якість продукції.

Метою роботи було встановити активність антиоксидантів та вміст продуктів перекисного окиснення ліпідів у крові курей за дії теплового стресу.

Дослід було проведено в умовах віварію Інституту біології тварин НААН на 60 курях породи Білий Легорн. Дослід провели двома етапами: на першому птицю протягом тижня утримували за температури повітря 20°C; на другому протягом тижня створили умови теплового стресу, підвищивши температуру утримання до 35°C. Після кожного етапу відбирали зразки крові для подальших досліджень.

У результаті було встановлено, що за впливу ТС вміст побічних продуктів перекисного окиснення ліпідів (таких, як МДА та ГПЛ) МДА зріс на 5%, ГПЛ — на 52%. Оскільки вони є маркерами окислювального стресу, їхнє зростання свідчить про збільшення вмісту вільних радикалів в організмі курей внаслідок дії ТС. Це доводить, що ми змогли спровокувати ТС у тварин. Прийнято вважати, що СОД та КАТ діють як перша лінія системи антиоксидантного захисту в тканинах організму: СОД каталізує перетворення супероксидного радикалу в перексид водню, а КАТ розщеплює його на молекули води та кисню. В наш час існують суперечливі дані щодо активності цих антиоксидантів внаслідок дії на організм ТС: в деяких дослідженнях вона зростає, в деяких знижується, а в деяких, як і в нашому, не змінюється. ВГ є важливим неферментативним антиоксидантом у клітинах ссавців, а також може діяти як кофактор для глутатіонпероксидази; у досліді він знизився на 28%. ГП каталізує відновлення перекису водню відновленим глутатіоном, щоб захистити клітини від окисного пошкодження; її активність знизилась на 19%. ГР також бере участь у регуляції, модуляції та підтримці клітинного окисно-відновного гомеостазу; вона зменшилась на 42%. Зниження активності антиоксидантних ферментів підтвердило результати більшості інших вчених, що ТС прискорює процес перекисного окислення ліпідів та пов'язаних з цим пошкоджень клітин і, як наслідок, виснажує систему антиоксидантного захисту тварин.

Отримані результати свідчать про те, що ТС впливає на виникнення окислювального стресу, на що вказує зростання МДА та ГПЛ в крові курей. Зниження активності деяких антиоксидантів (ГП, ГР, ВГ) свідчить про те, що в умовах ТС відбувається виснаження системи антиоксидантного захисту в курей.

**Ключові слова:** антиоксидантна система захисту організму, окислювальний стрес, тепловий стрес, кури

## The effect of using L-arginine on the hematological parameters in the blood of rabbits

L. Ponkalo<sup>1</sup>, B. Kotyk<sup>1</sup>, I. Oliynyk<sup>1</sup>, V. Pryimych<sup>2</sup>

ponkalo-lesia@ukr.net

<sup>1</sup>Institute animal of biology NAAS, Lviv, Ukraine

<sup>2</sup>Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnology of Lviv, Lviv, Ukraine

Amino acids such as arginine, are the precursors of essential molecules that regulate growth and health [Castro F. L. S., Kim W. K., 2020]. These amino acids are classified as functional amino acids due to their important physiological roles. The current dietary arginine requirement varies widely among animal species and also depends on their development period. Arginine is an essential amino acid for poultry, fish, and cats, and conditionally indispensable for ruminants, pigs, and rabbits [Ball R. O. et al., 2007; Wu G., 2008]. However, in young animals such as rabbits, the physiological level of arginine decreases, making it essential, and requiring its additional introduction.

The aim of this study was to investigate the effect of L-arginine on the hematological profile of 45-day-old rabbits of the white Panon breed.

The research was conducted at the vivarium of the Institute of Animal Biology NAAS. The animals were divided into three groups: a control and two experimental. Animals in all groups were kept on a standard diet, the experimental period lasted 30 days. The control group (K) consumed drinking water without the addition of amino acid, while L-arginine hydrochloride was added to the drinking water of the experimental groups for 30 days. The first group received a dose of 50 mg/kg of live weight, while the second group received 100 mg/kg. Blood samples were collected from the lateral subcutaneous vein on the 1<sup>st</sup>, 14<sup>th</sup>, and 30<sup>th</sup> day of the study for analysis of hematological parameters. Blood analysis was conducted using a veterinary hematology analyzer (*Orphee Mythic 18 Vet*, Switzerland), with test tubes containing the anticoagulant EDTA-K3. The following parameters we determined the total number of erythrocytes, leukocytes, and hemoglobin concentration.

The study revealed a statistically significant increase in the number of erythrocytes ( $P \leq 0.01$ ) in all experimental groups throughout the study period. These findings suggest that L-arginine is required for the differentiation of hematopoietic stem cells into mature erythrocytes. [Shima Y. et al., 2006]. Moreover, there were no significant differences observed in the hemoglobin content and the number of leukocytes in the blood of experimental rabbits as compared to the control group. These findings suggest that L-arginine is required for the differentiation of hematopoietic stem cells into mature erythrocytes.

The data obtained suggest that the addition of L-arginine to the drinking water of the experimental groups resulted in an increase in the number of erythrocytes in their blood, which remained within the physiological range.

**Key words:** L-arginine, blood, rabbits

## Вирощування органічної риби у природному ставі

*Н. Пустова, Д. Балицький*

pustovanatasha@ukr.net

Подільський державний університет, м. Кам'янець-Подільський, Хмельницька обл., Україна.

Господарська діяльність на ставах природних зон переважно є обмеженою, спрямованою на максимальне збереження екосистеми території, прилеглої до ставу, та різноманіття флори і фауни. Створення органічного рибогосподарства на ставах природних зон сприяє різкому зниженню собівартості товарної риби та покращенню основних рибоводно-економічних показників. За неможливості створити у ставах природних зон всіх необхідних для повносистемного господарства ставів, оптимальним вважається використовувати їх як нагульні — для виробництва товарної риби.

Методика досліджень передбачала вивчення особливостей вирощування та продуктивності трьох видів риб — коропа, білого амура і гібридного товстолобика в умовах природного ставу за органічного ведення рибництва.

Сучасні уявлення про рибництво на ставах природних зон сформовані на базі теоретичних передбачень та фактичних результатів, отриманих під час розведення товарної риби на водоймах, різних за походженням та цільовим призначенням. Основним видом риб, які добре ростуть і яких вирощують у ставових господарствах у стоячій воді або із повільною течією, є короп. Найпоширеніші — лускатий, рамковий та дзеркальний. Український лускатий короп, порівняно з іншими підвидами, на 17–20% краще росте, життєздатніший і ефективно використовує природну кормову базу ставів.

Рослиноїдних риб тримають у полікультурі з коропом, тому терміни їх вирощування до товарної маси такі ж, як і для коропа — дво- і трирічного віку. В ставовому рибництві білого амура використовують як додаткову рибу для меліорації зарослих водоймищ з розрахунку посадки на 1 га водного дзеркала від 100 до 300 шт., що підвищує рибопродуктивність ставів на 10%. Товстолобик живиться зоопланктоном, а також фітопланктоном і детритом. Особливо багато детриту в його раціоні навесні та восени, коли у водоймах зменшується кількість фіто- і зоопланктону. Добовий раціон товстолоба становить 25–40% від живої маси, оптимальна температура води для живлення — +25...+30°C. У ставках товстолобик знаходить достатньо поживи і прирости становлять за перше літо до 70 г, за друге — 1500 г, за третє — 3000 г. За рахунок природної кормової бази ставів, залежно від їх зонального розташування, можна одержувати 0,2–0,6 т риби з 1 га.

Найповноціннішим кормом для ставкової риби є природний, який забезпечує необхідну кількість вітамінів, ненасичених жирних кислот, незамінних амінокислот, мікроелементів, ферментів тощо. Вища рослинність є кормом для амура та товстолобика, які добре її споживають за інтенсивного росту. Тому для очищення ставів від рослинності їх підсаджують до коропа в розрахунку від 200 до 400 екз./га.

Відповідно до дослідження, за інтенсивного ведення господарства на ставі площею 10 га з природною рибопродуктивністю 250 кг/га середня маса однорічки 25 г до кінця літа збільшилась до 500 г, тобто приріст одного коропа за вегетаційний період становив 475 г. Для зариблення ставу 10 га використали 27500 екз. однорічок коропа, з урахування полікультури рослиноїдних риб білого амура й гібридного товстолобика — 1500 шт. і 3500 шт.

Годівлю коропа у природному ставі за органічного ведення рибництва розпочинали, коли температура води досягла +10°C. Для поступового звикання риби до корму його розкладали на кормові місця невеликими порціями по 2–3 кг. Корм роздавали один раз на добу о 6–7 годині ранку, щоб до 12:00 риба його спожила, а вдругій половині дня споживала природні корми.

Реалізацію товарної риби потрібно здійснювати за максимального прибутку для господарства та мінімальних втрат під час перевезення та доставки покупцеві або на переробне підприємство. Розрахувавши економічні показники, виявили, що показник рентабельності найвищий у товстолобика — 61%, середній в амура — 55% та найменший у коропа — 42%, в середньому для трьох видів риби — 52,67%.

Під час ведення господарської діяльності на природному ставі за органічного рибництва потрібно чітко усвідомлювати, до яких наслідків може призвести необережне, несанкціоноване та непродумане внесення мінеральних речовин, добрив, надмірна щільність посадки риби та її годівля тощо. Зміна незначної частинки екосистеми може призвести до незворотних наслідків або знищення всієї фауни та флори цієї водойми. Тому, знаючи фактори, які впливають на якість водного середовища і життєдіяльність риб, потрібно спостерігати за змінами хімічного складу води та своєчасно проводити оздоровчі заходи, що дозволить підтримувати якість води на оптимальному рівні і підвищувати рибопродуктивність. Комплексна інтенсифікація вирощування риби — науково обґрунтована система заощаджень ресурсів та коштів, яка є запорукою ефективного ведення господарства.

**Ключові слова:** короп, амур, товстолоб, годівля, продуктивність

## Вплив нестероїдного протизапального препарату німесулідіду та нового похідного 4-тіазолідинону на мікробіоту товстої кишки

Т. Руминська<sup>1,2</sup>, І. Юшин<sup>1</sup>, Ю. Конечний<sup>1</sup>

tanityshka.r@ukr.net

<sup>1</sup>Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, м. Львів, Україна

<sup>2</sup>Інститут біології тварин НААН, м. Львів, Україна

НПЗП (нестероїдні протизапальні препарати) є необхідним і часто єдиним засобом лікування багатьох запальних процесів. Вони поділяються на класи за хімічною структурою та відрізняються певною селективністю. Проте такі препарати мають високий ульцерогенний потенціал, що призводить до розвитку ушкоджень слизової оболонки травної системи, а також впливають на склад кишкової мікрофлори, спричинюючи дисбіотичні зміни. Пошук нових молекул з протизапальними та антимікробними властивостями є важливим завданням сучасної медицини та ветеринарії. Потреба в нових методах лікування стає дедалі гострішою через зростання нових інфекцій та стійких до антибіотиків мікроорганізмів. Тіазолідинонове кільце є частиною багатьох наявних потенційних антимікробних і протизапальних засобів і в поєднанні з фармакофорним піразольним фрагментом в одній структурі може призвести до посилення ефекту у лікуванні.

З метою вивчення впливу НПЗП, а саме препарату німесулідіду, та нового похідного з групи похідні 4-тіазолідинонів — *Les6490* на мікробіоценоз проведено мікробіологічне дослідження мікробіоти товстої кишки експериментальних тварин.

Дослідження впливу німесулідіду та *Les 6490* проводили на моделі ад'ювант Фрейда-індукованого артриту щурів *in vivo*. Тварини дослідної групи (n=40) за звичайного годування отримували німесулід у дозі 15,0 мг/кг та новосинтезовану сполуку *Les 6490* (5-(Z)-((1,3-дифеніл-1H-піразол-4-іл)метиле)-2,4-тіазолідиндіон) у дозі 10 мг/кг внутрішньошлунково один раз на добу впродовж 14 днів, після чого їх виводили з експерименту, декапітувавши за тіопенталової анестезії. Матеріалом слугував вміст товстої кишки. Для визначення якісного та кількісного складу мікробіоценозу застосовували класичний культуральний метод; ідентифікацію мікроорганізмів проводили за морфотинкторіальними, культуральними, біохімічними властивостями. Кількість мікроорганізмів перераховували на 1 г матеріалу і подавали в Іг КУО/г.

Проведене бактеріологічне дослідження показало, що стан мікробіоценозу біотопу щурів під впливом німесулідіду змінювався за рахунок зменшення кількості грампозитивних паличок та зростання кількості грамнегативної флори. Кількість біфідобактерій знизилася від  $8.4 \pm 0,3$  Іг КУО/г до  $7,1 \pm 0,2$  ( $P \leq 0,05$ ); лактобацил — від  $6,2 \pm 0,3$  до  $5,7 \pm 0,2$ ; бактероїдів — від  $9,1 \pm 0,2$  до  $7,0 \pm 0,82$  ( $P \leq 0,05$ ). Кількість ентерококів зросла з  $5,0 \pm 0,2$  до  $6,2 \pm 0,3$  ( $P \leq 0,05$ ) Іг КУО/г. Сполука *Les 6490* сприяла зменшенню кількості лактобацил до  $3,4 \pm 0,2$  ( $P \leq 0,05$ ) та бактероїдів до  $6.2 \pm 0.12$  ( $P \leq 0,05$ ) Іг КУО/г. Кількість біфідобактерій вірогідно зросла до  $10,8 \pm 0,6$  Іг КУО/г порівняно з показниками контрольної групи. Кількісний рівень ентерококів та клостридій становив  $6,4 \pm 1,13$  та  $5,0 \pm 0,14$  Іг КУО/г, що свідчить про тенденцію до зростання кількості вказаних мікроорганізмів за впливу як НПЗП, так і новосинтезованої сполуки.

Кількість ешерихій незначно знизилась в обох дослідних групах, проте зафіксовано активацію інших ентеробактерій. У віх тварин в невеликій кількості висівалися бацили, плісняві гриби та дріжджоподібні гриби роду *Candida*.

Неселективний інгібітор циклооксигеназ німесулід, порушуючи метаболізм простагландинів, зумовлює певні фізіологічні зміни у травному каналі, спричинюючи порушення слизового бар'єру, що відбивається і на мікробіоценозі біотопу, оскільки модифікується рівень експресії рецепторного апарату епітелію для взаємодії з лігандами бактерій. Мікроекологічні зміни торкаються здебільшого підвищення або ж зниження кількісних показників основних нормосимбіонтів. У свою чергу, одержана сполука *Les 6490* сприяла зростанню кількості *Bifidobacterium*, яким властиво колонізувати кишковий тракт та відновлювати баланс кишкової мікробіоти і таким чином сприяти корисним для здоров'я функціям. Необхідні подальші дослідження для встановлення механізмів впливу НПЗП на мікробіоценози організму людини та сполук з групи похідних 4-тіазолідинонів як можливих засобів біфідогенної активності.

**Ключові слова:** НПЗП, мікробіота товстої кишки, дисбіоз, похідні 4-тіазолідинонів

## Кормова добавка для профілактики та лікування кетозу корів

С. Сачко

sachko@kupavaagro.com.ua

Інститут біології тварин НААН, м. Львів, Україна

Іонофорні антибіотики регулюють рубцеву ферментацію, покращуючи використання протеїну корму. За застосування іонофорів зменшується частота виникнення субклінічного та клінічного кетозу в корів.  $\beta$ -кислоти хмелю проявляють подібний до іонофорних антибіотиків спектр біологічної активності, тобто пригнічують життєдіяльність більшості грам-позитивних мікроорганізмів рубця. Основні біологічно активні речовини хмелю — це пренільовані флавоноїди: гумулон ( $\alpha$ -кислоти), лупулон ( $\beta$ -кислоти) та їхні похідні.  $\beta$ -кислоти шишок хмелю, подібно до іонофорних антибіотиків, знижують протеолітичну активність у рубці та пригнічують утворення аміаку і метаногенез у ньому. Бактерії, як й інші живі, організми потребують наявності вітаміну Е. Токсичність токоферолу низька, тому додавання його до раціону жуйних у більшій кількості може стимулювати целюлолітичні бактерії рубця та компенсувати негативний ефект іонофорів на розщеплення клітковини раціону.

Для досліді підібрано 3 групи корів: з ознаками клінічного кетозу, концентрація  $\beta$ -гідроксибутирату у крові  $>3,0$  ммоль/л — 4 тварини; з субклінічним кетозом,  $\beta$ -гідроксибутирату  $1,3$ – $2,2$  ммоль/л — 5 тварин; клінічно здорові,  $\beta$ -гідроксибутирату  $0,2$ – $1,1$  ммоль/л — 5 тварин. Хворим на кетоз коровам протягом місяця до комбікорму додавали лікувально-профілактичну добавку, яка містить 20 г подрібнених гранул шишок хмелю, 3 г вітаміну Е, та 50 г холіну, 20 г метіоніну і 1 г карнітину, захищених від розщеплення у рубці. Клінічно здорові корови слугували контролем. Для лабораторних досліджень використовували вміст рубця та кров. Цей біоматеріал брали через тиждень та через місяць після отелення.

Лікувально-профілактична добавка знизила концентрацію  $\beta$ -гідроксибутирату та збільшила концентрацію глюкози в крові. У корів з субклінічною формою кетозу спостерігали нормалізацію показників крові, а у хворих на клінічний кетоз корів захворювання перейшло у субклінічну форму.

Захворювання на кетоз впливає на інтенсивність і спрямованість рубцевої ферментації, причому за клінічного перебігу зміни значно вираженіші, ніж за субклінічної форми. У рубці хворих на кетоз корів виявлено більшу протеолітичну та меншу целюлозолітичну, амілолітичну і ліполітичну активності.

Після лікування відбулось зниження протеолітичної активності в рубці корів, які мали субклінічний кетоз ( $P<0,01$ ), та зростання амілолітичної ( $P<0,05$ ) і зменшення протеолітичної активності ( $P<0,01$ ) в рубці корів, яких лікували від клінічної форми кетозу. Інші показники у рубці корів кожної з дослідних груп після лікування змінювались статистично невірогідно.

За субклінічного кетозу спостерігали збільшення концентрації аміаку в рубцевій рідині, яка перевищувала відповідний показник у рубці здорових корів на 12,3% ( $P<0,05$ ). Клінічна форма кетозу суттєвіше впливала на ферментацію протеїну та утворення продуктів його розпаду. Концентрація аміаку в цьому випадку зростала на 33,6% ( $P<0,01$ ). Зміни виявлено й у показниках вуглеводного обміну: вони проявились у зниженні загальної кількості летких жирних кислот та зростанні концентрації молочної кислоти. Хоча статистично вірогідними ці зміни були лише у випадку клінічного кетозу ( $P<0,01$ ), кількісно зміни при субклінічній формі достатньо суттєві, що дозволяє стверджувати про певну тенденцію.

Згодовування лікувально-профілактичної добавки змінювало перебіг ферментативних процесів у рубці. У вмісті рубця хворих на кетоз корів виявлено більшу, порівняно з коровами контрольної групи, концентрацію аміаку та меншу кількість білкового азоту ( $P<0,05$ ). Після лікування вказані показники у корів хворих на субклінічний кетоз наблизилась до показників здорових тварин, тоді як у корів із клінічним кетозом стан покращувався, проте концентрація аміаку та білкового азоту надалі відрізнялась від здорових тварин. Те саме можна сказати про лактат, концентрація якого після лікування знижувалась ( $P<0,05$ ), однак все одно перевищувала показник здорових корів ( $P<0,05$ ).

Отже, лікувальна добавка нормалізує ферментацію у рубці корів хворих на субклінічний кетоз та дещо покращує стан корів з клінічною формою кетозу.

**Ключові слова:** корови, кетоз, рубець, шишки хмелю, вітамін Е

## Терапевтична ефективність препарату «Бровермектин-гранутят™» за моногеноїдозів однорічок коропових риб

О. Федорович

qnc-sn@ukr.net

Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького, м. Львів, Україна

В наш час дедалі більше занепокоєння рибогосподарників спричинене підвищенням захворюваності коропових риб через ектопаразитів. Ці захворювання є одними із найнебезпечніших патологій гідробіонтів і спричиняють значні економічні збитки. Найчастіше вони виникають тоді, коли рибу утримують в несприятливих умовах — за різких перепадів температур, нестачі розчиненого у воді кисню, надто ущільненої посадки риби, травмування під час рибоводних процесів, сублетальних рівнів токсикантів тощо.

В сучасних екологічних умовах за останні роки різко зріс рівень захворюваності риб на моногеноїдози. Тому актуальним є пошук препаратів для лікування риб, уражених моногенезами. З огляду на зазначене, метою наших досліджень було вивчити ефективність застосування препарату «Бровермектин-гранутят™» за моногеноїдозів білого амура в акваріумних умовах.

Дослідження проведені у Львівському національному університеті ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького. Для визначення терапевтичної ефективності препарату «Бровермектин-гранулят™» за дактилогірозу та гіродактильозу однорічок білого амура і товстолобика було сформовано чотири групи риб, дві контрольні та дві дослідні, по 10 екземплярів у кожній. До контрольних груп входили риби, інвазовані дактилогірусами *Dactylogyrus lamellatus* (однорічки білого амура) і *D. hypophthalmichtidis* (однорічки товстолобика) та гіродактилюсами *Gyrodactylus ctenopharyngodonis* (однорічки білого амура) і *G. hypophthalmichtidis* (однорічки товстолобика); до дослідних — інвазовані риби, яких лікували вищезгаданим препаратом. Риб утримували в акваріумах ємністю 40 дм<sup>3</sup> зі штучною аерацією за температури води 20–22°C.

Лікування інвазованих риб препаратом «Бровермектин-гранулят™» проводили два дні поспіль, вводячи їх перорально за допомогою зонду в передній відділ кишечника з розрахунку 60 мг/кг маси риби. Перед застосуванням препарату у визначеній дозі змішували з 1 мл 2% крохмального клейстеру. Рибам контрольних груп вводили лише по 1 мл 2% клейстеру.

Потрібно вказати, що до введення однорічкам білого амура препарату екстенсивність інвазії збудниками *D. lamellatus* і *G. ctenopharyngodonis* становила 100%, а інтенсивність інвазії — в середньому 10,2 та 3,1 екз. на рибу відповідно. Через три доби після введення уражених дактилогірусами рибі «Бровермектин-грануляту™» два дні поспіль у дозі 60,0 мг/кг маси тіла показники екстенсивності та інтенсивності інвазії значно знизилися: екстенсефективність (ЕЕ) становила 70%, інтенсефективність (ІЕ) — 86,4%, що свідчить про досить високу ефективність препарату.

За гіродактильозу в однорічок білого амура встановлено дещо нижчу терапевтичну ефективність вищенаведеного препарату: екстенсефективність становила 60%, а інтенсефективність — 82%.

Застосування «Бровермектин-грануляту™» однорічкам товстолобика за їх ураження збудниками *D. hypophthalmichtidis* та *G. hypophthalmichtidis* мало дещо меншу лікувальну ефективність, ніж в однорічок білого амура. Кількість паразитів на особину через три доби після застосування препарату зменшилася, відповідно, на 6,1 та 1,4 екз. або на 47 та 51,7%. ЕЕ препарату за лікування дактилогірозу становила 70%, гіродактильозу — 60%, а ІЕ — 85,9 і 79,3% відповідно.

Отож, застосування препарату «Бровермектин-грануляту™» однорічкам білого амура, інвазованим *D. lamellatus* і *G. ctenopharyngodonis*, свідчить про його досить високу терапевтичну ефективність; втім, дещо меншою вона була у лікуванні моногеноїдозів в однорічок товстолобика.

**Ключові слова:** білий амур, товстолобик, дактилогіруси, гіродактилюси, *Бровермектин-гранутят™*

## Функціональна активність лімфоцитів та їхніх імунорегуляторних субпопуляцій пуповинної крові новонароджених цуценят

Т. М. Федькалова<sup>1</sup>, М. М. Брошков<sup>1</sup>, О. І. Віщур<sup>2</sup>

mr\_m\_m@ukr.net

<sup>1</sup>Одеський державний аграрний університет, факультет ветеринарної медицини, кафедра фізіології, патофізіології та біохімії, м. Одеса, Україна

<sup>2</sup>Інститут біології тварин НААН, м. Львів, Україна

Онтогенез імунних органів собаки розглядали в кількох публікаціях [Pereira M., Valério-Bolas A., Saraiva-Marques C. et al., 2019; Tizard I. R., 2017]. Онтогенетичні дослідження імунної відповіді показали, що плід виробляє специфічну відповідь антитіл на Т-клітинозалежні антигени (бактеріофаг, еритроцити овець). Фетальні Т-клітини селезінки, лімфатичних вузлів і тимуса реагують на мітогенний фітогемаглютинін (РНА). Ці дослідження засвідчили, що плід має функціональну систему лімфоцитів (В- і Т-клітини), здатну генерувати гуморальну та клітинну імунну відповідь проти кількох антигенів; це свідчить, що цуценята є імунокомпетентними на час народження [Faldyna M., Sinkora J., Knotigova P. et al., 2005]. Період від народження до 21 дня життя має значні ризики, оскільки приблизно 10–30% новонароджених цуценят не доживають до цього віку, зазвичай через септицемію в перші три дні життя [Zakošek Pipan M, Švara T., Zdovc I. et al., 2019].

Отже, у неонатології цуценят бракує оцінкових даних адаптивних можливостей імунної системи, особливо в ранній постнатальний період, тому метою наших досліджень було визначити функціональну активність поверхневих рецепторів лімфоцитів та їх регуляторних субпопуляцій у пуповинній крові цуценят.

Матеріалом для дослідження була пуповинна кров цуценят, яку відбирали в пробірку з ЕДТА під час кесаревого розтину, та кров суки, у якої кров брали з ліктьової вени під час оперативного втручання. Всього було відібрано 8 проб крові від цуценят та 1 пробу від матері. У крові визначали абсолютну кількість гранулярних та агранулярних лейкоцитів, фагоцитарну активність нейтрофілів а також рівень сенсibiliзації лімфоцитів до нейроантигену сітківки ока.

Аналіз отриманих в нашому експерименті даних показав, що цуценята народжуються з функціонально активними імунокомпетентними клітинами як вродженого, так і адаптивного імунітету. Серед цуценят встановлені показники абсолютної кількості лейкоцитів в діапазоні від 6,9 до 10,2 Г/л, при цьому в середньому цей показник в пуповинній крові цуценят був на 37% більшим, ніж у суки. Активність Т-лімфоцитів у цуценят також була вищою, абсолютна кількість варіювала від 1,46 до 2,48 Г/л, тоді як у суки — 0,97 Г/л. Здатність нейтрофілів до фагоцитозу в цуценят встановлена від 2,32 до 3,37 Г/л, в суки цей показник становив 2,51 Г/л. Отримані результати досліджень підтвердили дані про те, що імунокомпетентні клітини в цуценят на час народження є функціонально активними. Дослідження також встановили у цуценят вищу, ніж в суки, активність як вродженого, так і набутого клітинного імунітету. Потребує подальших досліджень імунофізіологічний статус новонароджених цуценят для розробки системи моніторингу їх життєздатності.

**Ключові слова:** цуценята, лейкоцити, нейтрофіли, лімфоцити

## Якісні параметри сперми баранів у період статевого спокою за згодовування ліпосомальної вітамінно-мінеральної добавки

О. Шаран

oshaom737@gmail.com

Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Ґжицького, м. Львів, Україна

У період статевого спокою норми споживання вітамінів та мікроелементів на 25–50% нижчі, ніж у парувальному сезоні. Це очевидно знижує якісні показники сперми баранів, про що свідчать численні літературні дані. В сучасних умовах ведення вівчарства за використання стимуляції статевого циклу та штучного осіменіння необхідна наявність впродовж року якісної кріоконсервованої сперми. Тому для вищої якості сперми баранів у період статевого спокою необхідно підвищити норми споживання вітамінів і мікроелементів до рівня парувального сезону. У зв'язку з цим, для підвищення якісних показників сперми ми запропонували розроблений препарат (кормову добавку) для підгодівлі баранів у період статевого спокою.

Шести баранам породи тексель у період статевого спокою (квітень-травень) впродовж 45 днів у складі основного раціону згодовували кормову добавку, яка містить вітаміни А, D<sub>3</sub>, Е, С та глюконат цинку, у формі ліпосомальної емульсії. Сперму від баранів відбирали на штучну вагіну двічі на тиждень дуплетними садками. Після отримання сперми визначали об'єм еякуляту, концентрацію спермій, активність і динамічні показники спермій (CASA), виживання та запліднювальну здатність спермій за активністю ензимів-маркерів сукцинатдегідрогенази та цитохромоксидази.

Встановлено, що згодовування ліпосомальної вітамінно-мінеральної добавки у період статевого спокою підвищило об'єм еякуляту баранів на 17,6% ( $P < 0,05$ ), концентрацію спермій — на 8,2% ( $P < 0,05$ ). Під дією згодовування біологічно активних речовин значно збільшилися кінетичні показники спермій баранів: швидкість при криволінійному русі (VCL) зростає на 11,6% ( $P < 0,05$ ), швидкість просування головки спермія по середній траєкторії руху (VAP) — на 22,3% ( $P < 0,01$ ), швидкість прямолінійного руху головки спермія вздовж прямого відрізка між початковою і кінцевою точками траєкторії (VSL) — на 27,6% ( $P < 0,01$ ). Водночас рівень лінійності (LIN), прямолінійності руху спермій (STR) і відхилення (WOB) зростає не так виражено — відповідно, на 14,3% ( $P < 0,05$ ), 4,2 і 9,8% ( $P < 0,05$ ). Аналізуючи активність ензимів-маркерів запліднювальної здатності спермій баранів, ми встановили, що під впливом згодовування вітамінно-мінеральної добавки в період статевого спокою активність сукцинатдегідрогенази зростає на 38,8% ( $P < 0,05$ ), а цитохромоксидази — на 30,6% ( $P < 0,01$ ). Значне вірогідне зростання активності мітохондріальних ензимів у сперміях свідчить про підвищення запліднювальної здатності спермій баранів у період статевого спокою.

Таким чином, згодовування баранам-плідникам ліпосомальної вітамінно-мінеральної добавки у період статевого спокою вірогідно підвищує об'єм еякуляту та концентрацію спермій ( $P < 0,05$ ), збільшує кінетичні показники спермій ( $P < 0,05–0,01$ ), підвищує активність сукцинатдегідрогенази на 38,8% ( $P < 0,05$ ), а цитохромоксидази — на 30,6% ( $P < 0,01$ ). Отримані результати експерименту свідчать про збільшення кількісних і якісних параметрів еякуляту баранів, а також зростання запліднювальної здатності спермій під впливом згодовування вітамінів А, D<sub>3</sub>, Е, С та глюконату цинку у формі ліпосомальної емульсії.

**Ключові слова:** баран, сперма, вітамінно-мінеральна добавка, якість еякулятів



## Вплив міжлінійного розведення на молочну продуктивність корів-первісток

*I. Шпить*

ira\_spyt@ukr.net

Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Ґжицького, м. Львів, Україна

Класичним методом удосконалення порід є розведення тварин за лініями. Цей метод дає змогу зберегти спадкові якості родоначальника і збагатити лінію, нагромаджуючи впродовж кількох поколінь цінної спадковості, найповніше використовувати для удосконалення породи видатні якості окремих тварин і перетворювати індивідуальні особливості родоначальників ліній на групові [Щербатий З. Є., Боднар П. В., 2014; Пославська Ю. В., Федорович Є. І., 2015].

Головною властивістю лінії є притаманна їй представницям консолідованість за окремими господарсько корисними ознаками внаслідок спорідненості та спрямованого добору й підбору, що робить лінію деякою мірою відмінною від інших. Саме це сприяє створенню селекційних груп із притаманними для них константними властивостями, які будуть ефективними як під час використання внутрішньолінійного підбору, так і кросу ліній [Ставецька Р. В., Рудик І. А., 2009].

З огляду на зазначене, метою нашої роботи було дослідити вплив міжлінійного розведення на формування ознак молочної продуктивності корів-первісток української чорно-рябої молочної породи.

Дослідження проведені у господарствах, розташованих у різних кліматичних зонах України, а саме ДП ДГ «Олександрівське» Вінницької обл. (зона Лісостепу,  $n=714$ ), ТОВ СГП «Імені Воловікова» Рівненської обл. (зона Полісся,  $n=1840$ ) та ДП «Дослідне господарство „Асканійське”» (зона Степу,  $n=926$ ) на первістках української чорно-рябої молочної породи. У визначенні впливу лінійної належності на ознаки молочної продуктивності корів враховані лінії, до яких належать не менше трьох бугаїв-плідників і від яких одержано не менше десяти дочок, при цьому від одного бугая — не менше трьох дочок. Для визначення впливу міжлінійного розведення на формування молочної продуктивності первісток розподілили на групи за походженням за лінією, лінією матері і міжлінійним (крос ліній) методом підбору та різними варіантами поєднання ліній.

Встановлено, що за міжлінійного розведення у ДП ДГ «Олександрівське» первістки кросу ліній Валіанта-Чіфа за надоем (6903 кг) та виходом молочного жиру (249,1 кг) переважали корів кросів ліній Р. Мексімеса-Чіфа і Ханеве-Старбака відповідно на 985 ( $P<0,05$ ) та 37,4 ( $P<0,05$ ) і 1428 кг ( $P<0,01$ ) та 51,9 кг ( $P<0,05$ ), а за виходом молочного жиру — ще й особин кросу ліній Ханеве-Чіфа на 34,8 кг ( $P<0,05$ ). Над тваринами інших досліджуваних кросів за цими показниками перевага у них була невірогідною. За вмістом жиру в молоці первістки кросу ліній Кавалера-Чіфа вірогідно ( $P<0,05-0,01$ ) переважали тварин кросів ліній Кавалера-Старбака, Елевейшна-Старбака, Старбака-Чіфа, Старбака-Елевейшна і Старбака-Каділлака на 0,04–0,08% та невірогідно переважали особин інших досліджуваних кросів на 0,01–0,04%.

У ТОВ СГП «Імені Воловікова» за міжлінійного розведення первістки кросу ліній Старбака-Белла за надоем (7354 кг) та виходом молочного жиру (262,4 кг) вірогідно ( $P<0,05-0,001$ ) переважали ровесниць кросів ліній Адема-Елевейшна, Монтфреча-Чіфа, П. Астронавта-Чіфа, Чіфа-Белла, Чіфа-Елевейшна, Чіфа-Старбака, Елевейшна-Чіфа, Елевейшна-С. Т. Рокіта, Елевейшна-Старбака, Телста-Чіфа, Р. Соверінга-Чіфа, Валіанта-Чіфа, Валіанта-Старбака, С. Т. Рокіта-Белла і С. Т. Рокіта-Чіфа на 1140–3041 кг та 36,2–105,3 кг. Над тваринами інших досліджуваних кросів за цими показниками перевага у них була невірогідною. За вмістом жиру в молоці тварини кросу ліній Елевейшна-Белла вірогідно ( $P<0,05-0,001$ ) переважали особин кросів ліній Адема-Чіфа, Чіфа-Маршала, Елевейшна-Чіфа, Елевейшна-С. Т. Рокіта, Елевейшна-Старбака, Телста-Чіфа, Валіанта-Старбака, Старбака-Белла і Старбака-Чіфа на 0,05–0,12%.

У ДП «ДГ „Асканійське”» первістки кросу ліній Сітейшна-Старбака за надоем (7888 кг) та виходом молочного жиру (306,8 кг) вірогідно ( $P<0,05-0,001$ ) переважали корів інших досліджуваних кросів ліній на 722–1916 кг та 27,7–66,3 кг відповідно; виняток становили особини кросів ліній Белла-Сітейшна, Чіфа-Старбака, Елевейшна-Сітейшна і Елевейшна-Старбака — перевага у них була невірогідною. При цьому найвищий вміст жиру в молоці мали первістки кросу ліній Р. Соверінга-Чіфа (4,27%) і їхня перевага за цієї ознакою над ровесницями інших кросів здебільшого була вірогідною ( $P<0,05-0,01$ ).

Таким чином, для підвищення надою корів необхідно враховувати поєднуваність (крос) ліній. Важливо встановити можливості їх найвдаліших поєднань і найперспективніше використовувати для подальшого удосконалення стад.

**Ключові слова:** розведення, молочна продуктивність, лінії, кліматичні зони, підбір

## Вплив підвищення температури довкілля на організм кролів

**М. Юзьв'як**

maruk7991@gmail.com

Інститут біології тварин НААН, м. Львів, Україна

Глобальне підвищення температури довкілля є актуальною проблемою у світі, яка спричиняє значні економічні збитки у промисловому тваринництві. Тепловий стрес негативно впливає на здоров'я кролів, зокрема порушує ендокринну регуляцію, імунну та репродуктивну функцію, призводить до зниження продуктивності та збільшення загибелі тварин. Кролі здатні регулювати температуру тіла у вузькому діапазоні через відсутність потових залоз. Термонейтральна зона у них становить від 18 до 21°C. Верхня критична температура довкілля для кролів у стані фізіологічного спокою становить від 27–28°C. У такому стані задіяні кардіореспіраторні та вазомоторні механізми через вушні раковини.

Постійний вплив екстремальних температур на організм кролів призводить до порушення гомеостатичних механізмів та, як наслідок, ураження тканини окремих органів. Встановлено, що тепловий стрес спричиняє зниження добового приросту маси тіла на 20–25%, коефіцієнта конверсії корму — на 8–15%, збільшення загибелі кролів — на 9–12%, зниження відтворювальної функції — на 6–10%, а також негативно впливає на якість м'яса.

Висока температура довкілля призводить до зниження вмісту гормонів щитоподібної залози (трийодтироніну, тироксину), впливає на синтез протеїну (загального протеїну крові, альбумінів та глобулінів), провокує порушення обміну вуглеводів, ліпідів, окисного балансу та мінеральних речовин організму кролів. За дії теплового стресу цілісність ДНК руйнується, що індукує зміни конформації хроматину сперми та метилювання ДНК, пошкоджуючи процеси сперматогенезу, тобто впливає на репродуктивну здатність самців кролів.

Тепловий стрес спричиняє підвищення температури тіла, частоти дихання та пульсу, концентрації гемоглобіну, гормонів щитоподібної залози в сукрільних кролематок. Висока температура значно знижує секрецію естрогену самиць та спричиняє нерегулярну поліовуляцію, що може спричинити аномальну морфологію яйцеклітин — наприклад, скорочення цитоплазми та розрив прозорої мембрани, внаслідок чого яйцеклітини стають нездатними до запліднення.

В останні роки значно зріс науково-практичний інтерес до органічних сполук мікроелементів, отриманих методами нанотехнології, у зв'язку з високою фізіологічною активністю, відсутністю токсичного впливу та широким спектром біологічної дії цих комплексів. У дослідженнях встановлено, що використання наночастинок ZnO може пом'якшити несприятливий вплив теплового стресу на здоров'я тварин завдяки захисту клітин від АФК зниженням рівня вільних радикалів та інгібуванням перекисного окислення ліпідів. Додавання біосинтезованого наноселену до корму підвищило масу тіла та середньодобовий приріст кролів в умовах теплового стресу і відіграло важливе значення для антиоксидантної та імунної функції організму кролів. Використання наночастинок Германію сприяє покращенню імунобіологічних показників, знижує переокисне окислення ліпідів та позитивно впливає на м'ясну продуктивність. Випоювання у раціоні кролів хрому цитрату підвищує гемопоетичну функцію та зменшує вміст продуктів перекисного окислення ліпідів.

Таким чином, вивчення впливу підвищених температур довкілля на параметри організму кролів та їхні зміни за використання наносполук мікроелементів є актуальним, оскільки таке дослідження дозволить розробити підходи для зниження негативної дії теплового стресу.

**Ключові слова:** кролі, тепловий стрес, температура, мікроелементи

## Використання методу поверхні відгуку у біотехнології

Є. Б. Январьов, В. В. Гавриляк

yehor.b.yanvarov@lpnu.ua

Національний університет «Львівська політехніка», м. Львів, Україна

Метод поверхні відгуку — це математичний підхід, який використовується для моделювання й аналізу взаємодії різних факторів та їх впливу на певні відповіді або відгуки. Зазвичай цей метод застосовується в експериментальному проектуванні для встановлення оптимальних параметрів процесу і побудови математичних моделей для прогнозування відгуків за різних комбінацій факторів.

Побудова математичної моделі поверхні відгуку є актуальним інструментом для оптимізації процесів в таких галузях, як харчова промисловість, фармацевтика, хімічна промисловість, та інших сферах, де важливо з'ясувати взаємозв'язки між різними факторами та їхнім впливом на певний процес. Особливо цей метод корисний для сфери біотехнологій та мікробіології, де часто досліджують процеси культивування для отримання різних біопродуктів, зокрема різних біологічно активних сполук, мікробних поверхнево-активних речовин, біополімерів, ферментів тощо.

Загальновідомо, що процеси ферментації характеризуються однією або декількома величинами (наприклад, температура культивування, рН, аерація, концентрація компонентів середовища, продуктивність, біомаса), що в теорії планування експерименту називають функціями відгуку, які залежать від певних значущих факторів. Геометричний образ, який відповідає функції відгуку, називають поверхнею відгуку, а координатний простір, на осях якого відкладені значущі фактори, — факторним простором.

Перший крок у застосуванні методу поверхні відгуку полягає в тому, щоб вибрати фактори, які істотно впливають на відгуки та їхні рівні. Зазвичай використовують дизайн поверхні відгуку Центральної композиції або Бокс-Бенкена, які дозволяють оцінити лінійні та квадратичні ефекти, а також ефекти взаємодії факторів.

Другий крок — проведення експериментів відповідно до плану з застосуванням різних комбінацій рівнів факторів. Отримані експериментальні результати використовують для побудови математичної моделі, яка описує відгук як функцію факторів. Цю модель можна використовувати у прогнозуванні відгуків для будь-яких комбінацій рівнів факторів, які не входили до плану дизайну. Характерно, що такий підхід потребує лише невеликої кількості експериментів для оцінки коефіцієнтів чи прогнозування експериментального відгуку та валідації моделі.

Третій крок — аналіз моделі, який дозволяє визначити, які фактори є статистично вірогідними, та визначити їхній оптимальний рівень. Для цього можна використати такі статистичні тести, як аналіз дисперсії (ANOVA), який дозволяє визначити статистичну значимість різниці між середніми значеннями відгуків для різних комбінацій факторів.

Четвертий крок — оптимізація процесу, яка дозволяє знайти комбінацію рівнів факторів, що дають максимальний відгук, або тих, які мінімізують його. Для цього можна використовувати методи оптимізації — такі, як метод градієнтного спуску або методи з підйому.

У контексті отримання мікробних біосурфактантів метод поверхні відгуку може допомогти визначити оптимальні умови для їх синтезу різними штамми мікроорганізмів, зокрема визначити оптимальну концентрацію основних компонентів середовища, зокрема вміст вуглецю, азоту, температуру, рН, тривалість інкубації, а також спрогнозувати такі параметри, як кількість отриманої біомаси, продуктивність, емульгувальна активність, стабільність мікробних поверхнево-активних речовин.

Отже, метод поверхні відгуку є потужним інструментом для моделювання взаємодії між різними факторами та їхнім впливом на відповідь або відгук. Використання такого підходу може забезпечити оптимізацію різних біотехнологічних процесів та підвищити їхню ефективність. Це, у свою чергу, дає змогу зекономити час та знизити економічні витрати, а отже, і собівартість отриманої біопродукції.

**Ключові слова:** метод поверхні відгуку, оптимізація процесу, значущі фактори



## Снітинському Володимирові Васильовичу — 75!

5 травня 2023 року

*доктору біологічних наук, професору, академіку НААН,  
Заслужениому діячеві науки і техніки України, дійсному членові  
Академії вищої школи України, членові Нью-Йоркської академії наук  
Снітинському Володимирові Васильовичу  
виповнюється 75 років*

Народився 5 травня 1948 р. в с. Козівка Тернопільського р-ну Тернопільської обл.

У 1972 р. закінчив Львівський зооветеринарний інститут (нині — Національний університет ветеринарної медицини і біотехнологій імені С. З. Гжицького).

З 1973 до 1975 рр. навчався в аспірантурі при кафедрі фармакології і патофізіології Львівського зооветеринарного інституту.

У 1975 р. захистив дисертацію на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю «Біохімія і живлення сільськогосподарських тварин» на тему: «Вікові особливості енергетичного обміну у чорно-рябої худоби з гістохімічною характеристикою тканин, що депонують вуглеводи». Працював асистентом кафедри фізіології сільськогосподарських тварин Львівського зооветеринарного інституту.

У жовтні 1978 р. свою наукову діяльність Володимир Васильович продовжив в Українському НДІ фізіології і біохімії сільськогосподарських тварин спочатку як молодший (1978–1980 рр.), згодом — як старший (1980–1988 рр.) науковий співробітник лабораторії вікової фізіології і біохімії.

З 1988 до 2011 рр. — завідувач лабораторії нейрогуморальної регуляції цього інституту.

У 1989 р. захистив дисертацію на здобуття наукового ступеня доктора біологічних наук за спеціальністю «Біохімія» на тему: «Обмін речовин і його регуляція у свиней на ранніх стадіях постнатального розвитку».

Упродовж 1993–1998 рр. працював директором Інституту фізіології і біохімії тварин УААН (із 1997 до 1998 рр. — Інституту землеробства і біології тварин).

У 1998 р. очолив Львівський аграрний університет (нині — Львівський національний університет природокористування).

В. В. Снітинський зробив вагомий внесок у розвиток фізіології та біохімії сільськогосподарських тварин. Його науководослідна робота була присвячена вирішенню важливої проблеми свинарства — розробці способів зниження смертності поросят у перші дні життя. Він вперше вивчив динаміку і встановив особливості формування субстратних і гормональних механізмів регуляції глікемії у свиней на ранніх стадіях постнатального розвитку. Вперше виявив, що підвищення рівня обмінної енергії у раціонах поросних свиноматок сприяє депонуванню енергетичних субстратів у тканинах плодів і підвищенню життєздатності поросят за рахунок більш раннього формування метаболічних механізмів, які регулюють глікемію.

Як завідувач лабораторії нейрогуморальної регуляції, В. В. Снітинський зробив вагомий внесок у з'ясування гормональних і субстратних механізмів росту, розвитку та адаптації тварин до ендогенних і екзогенних чинників. Встановлено значення природних антиоксидантів (Селен і вітамін Е) у раціоні для підтримання антиоксидантного статусу тварин та профілактики оксидативного стресу в організмі у неонатальному періоді онтогенезу. Обґрунтовано

необхідність використання залізодекстранових препаратів у комплексі з антиоксидантами для профілактики оксидативного стресу та анемії поросят раннього віку і підвищення їхнього імунного статусу.

Під керівництвом академіка В. В. Снітинського проводилися дослідження зі з'ясування особливостей амінокислотного та мінерального живлення поросят залежно від породних, вікових і технологічних груп. Було з'ясовано біохімічні механізми дії хрому на процеси адаптації і метаболізму в організмі свиней. Вивчено шляхи засвоєння хрому в організмі поросят, дію різних доз та сполук цього мікроелементу на обмін речовин в організмі новонароджених поросят та ступінь забезпечення організму поросят хромом через комбікорм.

Академік Снітинський В. В. встановив дію ензимів та біологічно активних речовин (вітамінів, мінералів, гормонів) на продуктивність сільськогосподарських тварин і птиці, розробляє наукові підходи підвищення продуктивності тварин та покращення якості продукції, формує наукові засади сталого розвитку на основі еколого-економічних засад. Проводиться екологічний моніторинг ґрунтів та рослинності антропогенно-порушених земель Західного Лісостепу України з метою підготовки рекомендацій щодо рекультивативних таких земель та пропозицій з їх господарського використання. Тривають дослідження екоотоксикологічного впливу важких металів на процеси метаболізму в організмі рослин і тварин з метою розробки тест-систем з екологічної оцінки продуктів рослинництва і тваринництва.

Наукова школа академіка В. В. Снітинського — це 5 докторів та 35 кандидатів наук. Він є автором понад 600 друкованих праць, серед яких 10 наукових монографій, 3 підручників та 5 навчальних посібників.

В. В. Снітинський — член Комітету з Державних Премій України в галузі науки і техніки, редактор журналів «Агро-екологія» та «Вісник Львівського національного аграрного університету», член редколегії журналів «Вісник аграрної науки», «Біологія тварин», Голова спеціалізованої ради з захисту докторських дисертацій, заступник Голови Державного Західного наукового центру НАН України і Міністерства освіти і науки України, член Центральних рад Українського біохімічного і Українського фізіологічного товариств, заступник голови ради ректорів вищих навчальних закладів Львівщини. Його плідна праця на ниві аграрної науки та освіти й виховання молоді оцінена державою і Церквою. Про це свідчать відзнаки та нагороди, серед яких — орден «За заслуги» III та II ступенів, Почесна грамота Верховної Ради України, трудові відзнаки Міністерства аграрної політики України «Відмінник аграрної освіти та науки», «Знак пошани», Лауреат Премії імені С. З. Гжицького, Лауреат Державної премії України в галузі науки і техніки, а також ордени св. Архистратига Михаїла, св. Андрія Первозваного, св. Володимира Великого, св. Юрія Переможця, св. Кирила і Мефодія та Висока відзнака Папи Римського Бенедикта XVI.

*Колектив працівників Інституту біології тварин НААН щиро вітає ювіляра,  
зичить міцного здоров'я і творчого довголіття!*



21 червня 2023 р. передчасно відійшов у вічність

## ФЕДУРУК Ростислав Степанович

*Вчений у галузі ветеринарної медицини,  
доктор ветеринарних наук, професор,  
член-кореспондент НААН*

Народився 11 серпня 1949 р. у с. Старий Почаїв Кременецького р-ну Тернопільської обл. У 1970 р. вступив до Львівського зооветеринарного інституту на ветеринарний факультет за фахом «ветеринарія», який закінчив у 1975 р. За скеруванням з 1975 р. працював старшим ветлікарем Пустомитівської птахофабрики Львівської обл., звідки вступив до аспірантури з відривом від виробництва. У 1975–1978 рр. — аспірант УкрНДІ фізіології та біохімії тварин. У 1979–1980 рр. працював молодшим науковим співробітником лабораторії фізіології лактації цього інституту, у 1980–1981 рр. — науковим співробітником, у 1982–1989 рр. — старшим науковим співробітником. З січня 1990 р. по вересень 1997 р. наказом ПВ ВАСГНІЛ переведений на посаду заступника директора з наукової роботи з питань тваринництва Інституту землеробства і тваринництва західного регіону (ІЗіТЗР) УААН. Після об'єднання УкрНДІ фізіології і біохімії тварин та ІЗіТЗР у 1997–1998 р. — завідувач лабораторії екології і токсикології Інституту землеробства і біології тварин УААН, у 1998–2000 рр. — заступник директора з наукової роботи з питань тваринництва вказаного інституту, 2000–2015 рр. — заступник директора з наукової роботи Інституту біології тварин НААН.

У 1981 р. на вченій раді УкрНДІ фізіології і біохімії сільськогосподарських тварин захистив кандидатську дисертацію за спеціальністю 03.00.13 — фізіологія людини і тварин. Учене звання старшого наукового співробітника присвоєно у 1984 р. Доктор ветеринарних наук з 2005 р. Наукову ступінь доктора наук за спеціальністю 03.00.13 — фізіологія людини і тварин здобув на вченій раді Львівської національної академії ветеринарної медицини імені С. З. Гжицького, де захистив докторську дисертацію. Учене звання професора присвоєно у 2007 р. на вченій раді Львівської національної академії ветеринарної медицини імені С. З. Гжицького.

Обрано у 2007 р. членом-кореспондентом УААН, Відділення ветеринарної медицини та зоотехнії.

Основні напрями наукової діяльності: вивчення процесів адаптації тварин до агроекологічних і технологічних умов утримання, з'ясування фізіологічних та біохімічних механізмів впливу біологічно активних добавок на основний і проміжний обмін, функції розмноження, продуктивність тварин;

екологічна і біохімічна оцінка продукції тваринництва за дії техногенних та аліментарних чинників; дослідження фізіологічних механізмів органічних солей маловивчених мікроелементів (Хром, Селен, Германий, Нікель, Кобальт і Купрум), отриманих методами нанотехнології та хімічного синтезу у сільськогосподарських тварин; науково-організаційна — забезпечення планування і виконання науково-дослідних робіт з фундаментальних і прикладних напрямів досліджень, їхнього методичного рівня проведення, результативності та ефективності завершення НДР, організація контролю наукового рівня досліджень; викладацька діяльність — за сумісництвом працював у 1998–1999 рр. старшим викладачем, у 2000–2005 рр. — доцентом, а з 2006 р. — професором кафедри технології молока і молочних продуктів Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнології імені С. З. Гжицького. Як науковий керівник дипломних і магістерських робіт підготував п'ять фахівців з напрямку «технологія молока і молочних продуктів». В Інституті біології тварин НААН проводив підготовку наукових кадрів вищої кваліфікації через аспірантуру і докторантуру.

За період наукової і педагогічної діяльності Р. С. Федорук опублікував понад 540 наукових праць, у співавторстві видано дві монографії, три підручники, два довідники, чотири навчальні посібники, розділ у книзі з історії науки Західного регіону України, отримав три авторських свідоцтва і 14 патентів України, три ТУ України. Підготував трьох докторів та вісім кандидатів наук.

За багаторічну сумлінну працю в системі Академії нагороджений Почесною грамотою Президії УААН (1999), Почесною грамотою Кабінету Міністрів України (2004), Почесною відзнакою УААН (2007), Почесною відзнакою Міністерства аграрної політики України «Знак Пошани» (2009), Подякою Міністерства аграрної політики України (2014), Грамотою Академії наук вищої освіти України (2014), Почесною грамотою Верховної Ради України (2019), Лауреат Державної премії України в галузі науки і техніки (2020), Подяками і Грамотами Львівської облдержадміністрації.

На громадських засадах Р. С. Федорук був обраний віце-президентом Українського фізіологічного товариства імені П. Г. Костюка (2010), член Наукового товариства імені Т. Г. Шевченка, Українського біохімічного товариства.

*Колектив працівників Інституту біології тварин НААН глибоко сумує з приводу цієї непоправної втрати, висловлює співчуття родині і близьким.*

*Вічна пам'ять!*

# ІНСТИТУТ БІОЛОГІЇ ТВАРИН НААН ОГОЛОШУЄ НАБІР у ДОКТОРАНТУРУ

очна (денна) форма навчання

# та АСПІРАНТУРУ

очна (денна/вечірня) і заочна форма навчання

## за спеціальностями:

09 «БІОЛОГІЯ»

спеціальність 091 «БІОЛОГІЯ ТА БІОХІМІЯ»

21 «ВЕТЕРИНАРІЯ»

спеціальність 211 «ВЕТЕРИНАРНА МЕДИЦИНА»



При вступі до аспірантури складають іспити з іноземної мови і спеціальності.

Підготовка у докторантурі та аспірантурі здійснюється за рахунок:

- коштів держбюджету України — за державним замовленням;
- коштів юридичних та фізичних осіб — на умовах контракту.

Термін подання документів — з 01.06 до 31.08.2023 р.

Адреса: Інститут біології тварин НААН, вул. Стуса, 38, м. Львів, 79034, Україна.

Довідки за тел.: (+38 032) 270-23-89, (+38 067) 453-36-39.

e-mail: [inenbiol@mail.lviv.ua](mailto:inenbiol@mail.lviv.ua) [www.inenbiol.com](http://www.inenbiol.com)

## КОНКУРС НА ЗДОБУТТЯ ПРЕМІЇ ІМЕНІ С. З. ГЖИЦЬКОГО



Інститут біології тварин НААН оголошує конкурс на здобуття Премії імені С. З. Гжицького. Премію імені С. З. Гжицького присуджують за наукові праці (цикл наукових праць) з фізіології і біохімії, живлення тварин, розроблення та впровадження нових біотехнологічних методів, препаратів, біологічно активних добавок, діагностикумів, створення нових порід, типів і ліній сільсько-господарських тварин та птиці, а також за наукові роботи, які є значущими у розв'язанні актуальних проблем біології, агро-екології, ветеринарної медицини.

Премію присуджують раз на два роки за результатами конкурсу, до участі в якому приймають роботи, виконані окремими науковцями або колективами авторів. Висунення робіт на здобуття Премії імені С. З. Гжицького проводять через вчену (науково-технічну) раду наукової установи чи закладу вищої освіти. Претендентом на отримання Премії може бути колектив до п'яти осіб. Кожен учасник може бути автором чи співавтором лише однієї з представлених на конкурс роботи або циклу робіт. Участь у конкурсі беруть наукові праці, від дня публікації яких минуло не менше шести місяців, але не більше п'яти років, а також винаходи після їх впровадження. Роботи, які вже отримали Державні або інші премії України, до конкурсу не приймають.

На розгляд конкурсного комітету Інституту біології тварин НААН претендентам необхідно подати такі документи:

- заява про участь у конкурсі з переліком членів авторського колективу;
  - анкета з вказаними особистими даними претендента(тів): ім'я, ПРІЗВИЩЕ, дата народження, місце роботи (адреса), посада, вчене звання, науковий ступінь, контактний телефон, e-mail, фото 3×4;
  - робота, яку рекомендують (цикл робіт, публікацій тощо);
  - анотація роботи з коротким викладом її змісту і значення для розвитку науки;
  - довідка про творчий внесок кожного з претендентів, підписана кожним з авторів роботи;
  - протокол вченої (науково-технічної) ради щодо рекомендації роботи на здобуття Премії;
  - за наявності — додаткові матеріали (рекомендаційні листи від відомих учених, акти апробацій, акти впровадження, копії патентів, відгуки громадськості тощо);
  - претенденти несуть відповідальність за академічну доброчесність.
- За результатами конкурсу буде видано диплом лауреата і пам'ятну відзнаку.

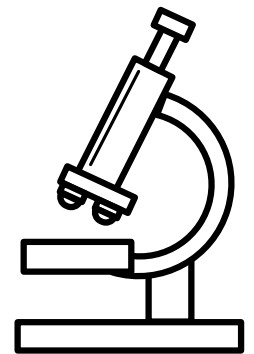
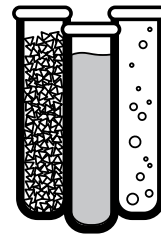
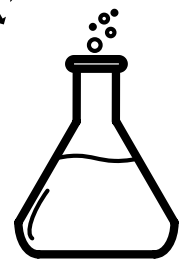
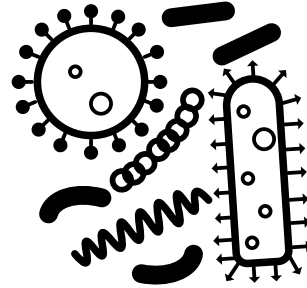
Термін подання конкурсних матеріалів — з 1 квітня до 1 жовтня 2023 року.

Адреса: Інститут біології тварин НААН, вул. Стуса, 38, м. Львів, 79034, Україна.

Контактний тел.: (032) 260-07-95, факс (032) 270-23-89.

# ІНСТИТУТ БІОЛОГІЇ ТВАРИН НААН ПРОВОДИТЬ:

- Дослідження біохімічних показників (аналізатор *Humalyzer 2000*, Німеччина)
- Гематологічний аналіз (аналізатор *Mythic-18Vet*, Швейцарія)
- Мікробіологічні дослідження (посів на стерильність, антибіотикограма, склад мікрофлори кишечника тварин, мікробіологічний аналіз кормів, води, повітря)
- Імуноферментні дослідження (аналізатор *Stat Fax 3000*, Німеччина)
- Оцінка репродуктивної здатності тварин, штучне осіменіння, трансплантація ембріонів
- Селекційно-генетичні дослідження
- Дослідження кормів
- Дослідження молока
- Дослідження яєць
- Визначення показників якості меду
- Дослідження вовни і волосся
- Атомно-абсорбційний і атомно-емісійний аналіз концентрації хімічних елементів
- Аналіз органічних добрив



Організовує проведення досліджень на лабораторних тваринах і надає кваліфіковану інтерпретацію отриманих результатів.

\* можливе проведення інших досліджень

\*\* всі лабораторії інституту акредитовані для проведення досліджень

**Інститут біології тварин НААН**  
вул. В. Стуса 38, м. Львів, 79034  
тел.: +38 (032) 270-23-89, +38 (96) 858-37-76  
e-mail: [markinfo@inenbiol.com.ua](mailto:markinfo@inenbiol.com.ua)

*Завжди раді співпраці з Вами!*



# LIVISTO

Along with you



# ІММУНІТІ СТІМ

## ЗАХИСТИТИ І ПЕРЕМОГТИ

**Зміцнює організм тварин та птахів, захищаючи кишковий бар'єр**

**Склад:** 1 л містить: Вітамін Е (олл-рац-альфатокоферилацетат), 25000 мг; Вітамін С, 2100 мг; Гліцин 10000 мг; Селен - Se (селеніт натрію), 0,5 мг; Марганець - Mn (Сульфат марганцю моногідрат), 500 мг; Ефірна олія розмарину 10000 мг; Ефірна олія чебрецю 10000 мг; Ефірна олія евкалипта 10000 мг; Натрію хлорид 1250 мг; Калію хлорид 500 мг; Дріжджовий екстракт 50000 мг; Полісахариди 20000 мг; Гліцерил поліетиленгліколь рицинолеат і Демінералізована вода до 1 л. **Застосування:** до і після вакцинації. ІММУНІТІ СТИМ розроблено для: контролю спалахів вірусних захворювань, контролю всіх видів стресу, покращення титрів вакцинації, прискорюють ріст, покращують конверсію корму, підвищують загальну опірність організму та покращують виводимість у несучок і покращує відтворну функцію. **Показання та цільові види тварин:** сільськогосподарські тварини, птиця, собаки та коти - посилення імунного статусу організму. **Протипоказання, побічні реакції та взаємодії:** Не описано. **Дозування та спосіб застосування:** перорально з питною водою. Ретельно розмішати 1 мл в 1-2 л питної води. **Зберігання.** Зберігати в недоступному для дітей місці. Зберігати в прохолодному, сухому місці, подалі від джерел тепла і прямих сонячних променів. **Для застосування у ветеринарній медицині.**



**Industrial Veterinaria, S.A.**  
a LIVISTO company  
Україна, 03040, м.Київ,  
вул. Васильківська, 14, оф. 422  
тел.: +38 044 206 24 30 | тел.: +38 067 238 33 77  
livisto.ua@gmail.com | livisto.com







ІНСТИТУТ  
БІОЛОГІЇ  
ТВАРИН  
НААН

# НАДАЄМО КОНСУЛЬТАЦІЇ СІЛЬСЬКОМУ ГОСПОДАРСТВУ

- ◆ скотарство
- ◆ вівчарство
- ◆ птахівництво
- ◆ рибництво
- ◆ свинарство
- ◆ кролівництво
- ◆ бджільництво

(утримання, годівля, відтворення,  
лікування захворювань,  
розробка кормів і БАД,  
підвищення репродуктивної  
здатності)



Для довідок:  
тел. (+38 097) 444-19-25,  
(+38 097) 384-21-77,  
(+38 032) 260-07-95  
[inenbiol@mail.lviv.ua](mailto:inenbiol@mail.lviv.ua)

Запрошуємо розмістити рекламу Вашої компанії на сторінках наукового журналу «Біологія тварин»!

Ми готові співпрацювати з Вами для створення ефективної рекламної стратегії, яка відповідає Вашим потребам і бюджету. Пропонуємо різні варіанти розміщення реклами, зокрема банери, оголошення або статейно-рекламні матеріали.

Реклама в нашому журналі дозволить Вам:

- залучити увагу науковців і фахівців до Вашої компанії та продукції;
- підвищити впізнаваність бренду та позиціонування Вашої компанії на ринку;
- залучити нових клієнтів і розширити Вашу клієнтську базу.

Пропозиції до співпраці на 2023 рік:

- **рекламний блок ½ сторінки** – 1000 грн в одному номері журналу; у трьох номерах журналу – 2500 грн.

- **рекламний блок 1 сторінка** – 2000 грн в одному номері журналу; у трьох номерах журналу – 5000 грн.

Контакти: 0968147815, [inenbiol@gmail.com](mailto:inenbiol@gmail.com)