

УДК 636.082:620.3:001.8Недава

DOI: <https://doi.org/10.31073/abg.59.14>

## СТАН ТА ПЕРСПЕКТИВИ ІНІЦІЙОВАНИХ ПРОФЕСОРОМ В. Ю. НЕДАВОЮ ДОСЛІДЖЕНЬ З НАНОБІОТЕХНОЛОГІЇ

**С. І. КОВТУН<sup>1</sup>, О. В. ЩЕРБАК<sup>1</sup>, І. М. ЛЮТА<sup>2</sup>, Т. В. ШЕВЧЕНКО<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Інститут розведення і генетики тварин імені М.В.Зубця НААН (Чубинське, Україна)

<sup>2</sup>Миколаївський національний аграрний університет (Миколаїв, Україна)

<sup>3</sup>Національна академія аграрних наук України (Київ, Україна)

<https://orcid.org/0000-0002-5492-882X> – С. І. Ковтун

<https://orcid.org/0000-0001-6400-8990> – О. В. Щербак

<https://orcid.org/0000-0002-1672-2337> – І. М. Люта

<http://orcid.org/0000-0001-9488-0325> – Т. В. Шевченко

[kovtun\\_si@i.ua](mailto:kovtun_si@i.ua)

Проаналізовано напрями наукової діяльності доктора сільськогосподарських наук, професора В. Ю. Недави у контексті розвитку досліджень з нанобіотехнології. Узагальнено його основні здобутки з розроблення теорії і методології застосування високодисперсного кремнезему у складі середовищ для кріоконсервації сперми плідників сільськогосподарських тварин з метою підвищення життєздатності гамет в системі збереження генофонду сільськогосподарських тварин. Охарактеризовано внесок у розвиток нанобіотехнологічних основ репродукції сільськогосподарських тварин. Наведено оцінку науково-організаційної діяльності вченого у контексті становлення провідних галузевих науково-дослідних установ, активізації наукових досліджень. Висвітлено результати комплексних досліджень інституту останніх років з нанобіотехнології у тваринництві.

**Ключові слова:** високодисперсний кремнезем, наноматеріал, сперматозоїди, ооцити, культивування *in vitro*, ембріони, концентрація, кріоконсервація

## CONDITION AND PROSPECTS INITIATED BY PROFESSOR V. YU. NEDAVA RESEARCH IN NANOBIO TECHNOLOGY

**S. I. Kovtun<sup>1</sup>, O. V. Shcherbak<sup>1</sup>, I. M. Lyuta<sup>2</sup>, T. V. Shevchenko<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Institute of Animal Breeding and Genetics nd. a. M.V.Zubets of NAAS (Chubynske, Ukraine)

<sup>2</sup>Mykolayiv national agrarian university (Mykolayiv, Ukraine)

<sup>3</sup>National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine (Kyiv, Ukraine)

The directions of scientific activity of Doctor of Agricultural Sciences, Professor V. Yu. Nedava are analyzed in the context of nanobiotechnology research development. His main achievements in the development of the theory and methodology of highly dispersed silica use as the constituent of media for farm animal sires' sperm cryopreservation in order to increase gamete viability in the system of farm animals' gene pool conservation are generalized. His contribution to the development of nanobiotechnological fundamentals of farm animal reproduction is characterized. The assessment of the scientifically-organizational activity of the scientist in the context of the formation of leading research institutions and the intensification of scientific research is given. The results of comprehensive research of the Institute of recent years on nanobiotechnology in animal breeding are presented.

**Keywords: ultrafine silica, nanomaterial, spermatozoa, oocytes, *in vitro* cultivation, embryos, concentration, cryopreservation**

## **СОСТОЯНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ, ИНИЦИИРОВАННЫХ ПРОФЕССОРОМ В. Е. НЕДАВОЙ ИССЛЕДОВАНИЙ В ОБЛАСТИ НАНОБИОТЕХНОЛОГИИ**

**С. И. Ковтун<sup>1</sup>, О. В. Щербак<sup>1</sup>, И. Н. Люта<sup>2</sup>, Т. В. Шевченко<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>*Институт разведения и генетики животных имени М.В.Зубца НААН (Чубинское, Украина)*

<sup>2</sup>*Николаевский национальный аграрный университет (Николаев, Украина)*

<sup>3</sup>*Национальная академия аграрных наук Украины (Киев, Украина)*

*Проанализированы направления научной деятельности доктора сельскохозяйственных наук, профессора В. Ю. Недавы в контексте развития исследований по нанобиотехнологии. Обобщены его основные достижения по разработке теории и методологии применения высокодисперсного кремнезема в качестве составных сред для криоконсервации спермы самцов сельскохозяйственных животных с целью повышения жизнеспособности гамет в системе сохранения генофонда сельскохозяйственных животных. Охарактеризован вклад в развитие нанобиотехнологических основ репродукции сельскохозяйственных животных. Приведена оценка научно-организационной деятельности ученого в контексте становления ведущих научно-исследовательских учреждений, активизации научных исследований. Представлены результаты комплексных исследований института последних лет по нанобиотехнологии в животноводстве.*

**Ключевые слова: высокодисперсный кремнезём, наноматериал, сперматозоиды, ооциты, культивирование *in vitro*, эмбрионы, концентрация, криоконсервация**

**Вступ.** Доктор сільськогосподарських наук, професор Володимир Юхимович Недава (1925–2009 рр.) здійснив істотний внесок у розвиток селекції, генетики та біотехнології у тваринництві України. Його зусиллями закладено фундамент набіотехнологічних основ репродукції сільськогосподарських тварин та сучасної теорії породотворення, обґрунтовано питання використання явища гетерозису у скотарстві, ефективні методи поліпшення бурої карпатської породи, спрощено методику оцінки племінних тварин за оплатою корму продукцією [5].

Істотний внесок у становлення нашого інституту здійснив його фундатор, перший заступник голови Ради Міністрів УРСР, талановитий організатор аграрного виробництва та вчений-селекціонер П. Л. Погребняк. Разом із першими директором інституту В. Ю. Недавою, котрий очолював заклад понад 10 років, вони доклали чимало зусиль для створення належної матеріально-технічної бази, організації плідної науково-дослідної роботи, виховання гідного колективу науковців. Предтечею формування потужного наукового потенціалу інституту також було активне співробітництво з інститутами Національної академії наук України. Принагідно відмітити, що вчені інституту підтримують творчі зв'язки та проводять спільні наукові дослідження із науковцями Інституту хімії поверхні імені О. О. Чуйка НАН України [3]. А ініціатором та організатором таких спільних досліджень був Володимир Юхимович в далекому 1984 році.

Сучасне тваринництво широко використовує криоконсервований генетичний матеріал – сперму та ембріони [4, 9]. Їх криоконсервація відбувається за температури рідкого азоту в спеціальних середовищах, які застосовуються для збереження життєздатності клітин за дії на них низьких температур. Однак, незважаючи на це, відсоток нежиттєздатних клітин може досягати 50% та більше за рахунок утворення із внутрішньоклітинної води льоду, який значно пошкоджує клітинні мембрани. Тому оптимізація таких криосередовищ за рахунок підбору речовин, які сприяють зниженню кількості пошкоджених клітин у процесі їх низькотемпературної обробки, є головним завданням технології довгострокового збереження генофонду сільськогосподарських тварин.

Виявилось [14], що нанорозмірний високодисперсний кремнезем (ВДК) можна використовувати як домішку до лактозо-гліцерин-жовткового (ЛГЖ) кріосередовища під час низькотемпературного заморожування сперми бугаїв, що сприяло більшій виживаності їх гамет після розморожування. Слід відзначити, що ВДК широко застосовується для виготовлення лікарських засобів як допоміжна речовина [1], тому що в межах певних концентрацій є фізіологічно нешкідливим і сумісним із біологічною системою. Він має розвинену, вкриту гідроксильними групами поверхню, яка виявляє високі адсорбційні властивості щодо багатьох речовин. Заміщення гідроксилів синтетичними або природними сполуками дає можливість створювати на основі ВДК іммобілізовані біологічно активні препарати пролонгованої та адсорбційної дії [19]. Закріплення на ВДК деяких вуглеводів або білку дозволило одержати наноконструкції (НК), які при додаванні їх до кріосередовища сприяли зростанню виживаності розморожених сперматозоїдів [6, 18].

Останні десятиріччя в тваринництві визначились порушенням налагодженої раніш на Україні інфраструктури відтворення різноманіття порід сільськогосподарських тварин. Це стосується різних його галузей, в тому числі і свинарства, як традиційної для нашої країни. Відомо [13], що технологія кріоконсервації сперми та ембріонів великої рогатої худоби більш розвинена, ніж у свинарстві. Це зумовлює розробку підходів до більш ефективного вирішення цієї проблеми, зокрема і оптимізації кріосередовищ. Зважаючи на позитивні результати щодо використання наноматеріалу ВДК у складі ЛГЖ-кріосередовища під час кріоконсервації сперми [14], було започатковано визначення його дії на життєздатність гамет інших видів сільськогосподарських тварин в разі додавання до середовищ культивування.

**Матеріали та методи досліджень.** Авторами використано загальнонаукові (аналітично-синтетичний, логічний, системний), біографічний та джерелознавчий методи. Джерельна база дослідження охоплює широке коло матеріалів, основу яких складають архівні документи та першоджерела, наукові праці (публікації), матеріали доповідей та спогади колег про талановитого вченого.

**Результати досліджень.** За ініціативою та безпосередньою участю Володимира Юхимовича Недави було розроблено спосіб обробки сперми бугаїв, який включав такі етапи: розрідження свіжоотриманої сперми, еквілібрацію та заморожування в парах рідкого азоту та відрізнявся від загальноприйнятого тим, що з метою стабілізації біологічної повноцінності, до свіжоотриманої сперми перед розрідженням додають ВДК із розрахунку 3–30 мг на 1 млрд. сперматозоїдів [17].

Пізніше, в 1990 році професор В. Ю. Недава з співавторами [14] опублікували результати досліджень щодо застосування дрібнодисперсного пірогенного ВДК (аеросил) як стабілізатора біологічної повноцінності сперматозоїдів бугаїв. Слід зазначити, що аеросил додавали під час заморожування сперми двома способами: гідрофільний аеросил (А-300) додавали до основного складу синтетичного середовища для розрідження сперми, а гідрофобний (АМ1-300) – шляхом припудрювання гранул сперми на поверхні фторопластової пластини до утворення капсули. Науковцями було показано, що аеросил захищає статеві гамети на всіх технологічних етапах кріоконсервації сперми, а особливо під час збереження її після розморожування (на 33,5%). Вже тоді була показана перспективність застосування дрібнодисперсних пірогенних кремнеземів як стабілізаторів біологічної повноцінності статевих клітин, яка була підтверджена вищими показниками заплідненості телиць після їх осіменіння кріоконсервованою з аеросилом спермою (на 5,8% вище, порівняно із контролем).

В 1992 році Недава В. Ю. з співавторами [15] вивчали можливість застосування ВДК як домішки до кріосередовища для заморожування сперми баранів з метою підвищення життєздатності гамет. Ними були виявлені найбільш ефективні кремнеземи, які були модифіковані вуглеводами. Також був описаний можливий механізм дії ВДК на поверхню структури репродуктивних клітин. Ефективність застосування дрібнодисперсних кремнеземів була підтверджена авторським свідоцтвом на винахід SU 1727816 A1 «Середовище для розрідження сперми баранів».

Продовженням започаткованих досліджень В. Ю. Недави щодо застосування дрібнодисперсних кремнеземів для стабілізації клітинної поверхні репродуктивних гамет [17, 18] стали дослідження щодо удосконалення технології формування *in vitro* ембріонів та кріоконсервування епідидимальних сперматозоїдів самців із використанням наноматеріалів, які розпочалися у 2007 році.

Визначено вплив різних концентрацій ВДК, поверхня якого перед експериментом була оброблена упродовж 2 годин температурою 200°C або 400°C (ВДК 200°C і ВДК 400°C). Додавання 0,01% ВДК 200°C в середовище культивування *in vitro* ооцитів свиней забезпечувало формування дозрілих яйцеклітин на суттєво вищому рівні (69,6%, 110 дозрілих яйцеклітин із 158 поставлених на культивування), порівняно із контролем (56,5%). Показано, що додавання 0,01%-вої концентрації ВДК 200°C і ВДК 400°C під час дозрівання ооцитів свиней поза організмом перспективне для ефективного використання ВДК 200°C через одержання на 14,0% вищого рівня досягнення гаметами метафази II мейозу, порівняно з контролем ( $p < 0,01$ ) [25].

Досліджено вплив додавання наноматеріалу на життєздатність розморожених еякульованих сперматозоїдів бугая лебединської породи Дикий 7933. Наноматеріал був синтезований на основі ВДК та альбуміну сироватки великої рогатої худоби (БСА) – ВДК+БСА. Вибір цього бугая для досліджень обумовлений тим, що ці спермодози зберігаються в Банку генетичних ресурсів тварин нашого інституту 25 років. ВДК+БСА після розморожування гамет додавали в трьох концентраціях – 0,1%; 0,01%; 0,001%. Показано, що додавання ВДК+БСА у низькій концентрації виявляє позитивний вплив на фізіологічні показники розморожених сперматозоїдів бугая. Встановлено, що концентрації 0,1% та 0,01% ВДК+БСА пригнічувала активність до 30% і виживаність гамет не більше 2 годин. Найменша концентрація (0,001%) ВДК+БСА підвищувала активність до 60% і загальний період виживаності сперматозоїдів бугая Дикий 7933 досягав 4,5 години [22].

Одержано результати експериментальних досліджень щодо впливу наноматеріалу ВДК 200°C на розвиток ембріонів свиней поза організмом у середовищі для культивування. Встановлено, що рівень формування *in vitro* ембріонів свиней за використання 0,001%-ї концентрації наноматеріалу у середовищі їх культивування становить 40,2%, а рівень розвитку ембріонів в групі з доданим нанокompatитом – 27,5% [9].

Вивчено вплив 0,001%-ї концентрації ВДК 200°C на життєздатність та подальший розвиток поза організмом ембріонів, отриманих із деконсервованих гамет свиней. Доведено, що використання ВДК 200°C в 0,001%-ї концентрації у складі середовища для *in vitro* культивування призводить до збільшення на 11,1% кількості отриманих зародків свиней з деконсервованих ооцитів та забезпечує більш ефективне формування і розвиток ембріонів поза організмом [11].

Застосовано наноматеріали різного походження для удосконалення методу кріоконсервації еякульованих сперматозоїдів кнурів. Здійснено оцінку *in vitro* біологічної активності трьох концентрацій (0,1%-, 0,01%- та 0,001%-ї) наноматеріалу на основі ВДК, альбуміну сироватки крові великої рогатої худоби (БСА) та N-ацетилнейрамінової кислоти (ВДК/БСА/N-АНК) та двох концентрацій ( $10^{-2}$  М та  $20^{-3}$  М) фулерену  $C_{60}$ . Показано, що стимулюючий ефект наноматеріалів на життєздатність кріоконсервованих сперматозоїдів залежить від природи поверхні наноматеріалу. Показано, що після перебування сперматозоїдів із додаванням 0,001%-ї концентрації ВДК/БСА/N-АНК упродовж 30 хвилин відбулось зростання активності сперматозоїдів на 13,3%. Подовження до семи годин загального періоду виживаності сперматозоїдів забезпечила  $20^{-3}$  М концентрація фулерену  $C_{60}$ . Відображено перспективність проведення подальших біотехнологічних досліджень з використанням наноматеріалів різного походження у системі збереження та раціонального використання генетичних ресурсів сільськогосподарських тварин [23].

Встановлено, що наноматеріали з іммобілізованими аміновуглеводами можуть вибірково взаємодіяти з рецепторами клітинної поверхні сперматозоїдів і таким чином впливати на

метаболізм клітини. Показано, що після розморожування сперматозоїдів бугаїв сірої української породи, які зберігаються в Банку генетичних ресурсів тварин більше 40 років, вони проявляли в середньому активність на рівні 47%. Цей показник активності гамет у контролі зберігався упродовж 30 хв. В дослідних групах через 30 хв. найбільш активними були гамети, які перебували з ВДК+цукроза (52%). Нижчу активність, порівняно з контролем та з ВДК+цукроза мали гамети, які перебували із ВДК+D-галактозамін. Активність сперматозоїдів знизилась на 14%, порівняно з контролем та на 19%, порівняно з ВДК+цукроза [26].

Розроблено та застосовано біотехнологічну модель одержання ембріонів кролів *in vitro* з використанням наноматеріалу для удосконалення технології репродукції сільськогосподарських тварин. Показано позитивний вплив наноматеріалу на основі високодисперсного кремнезему (ВДК) та іммобілізованого на його поверхні D-галактозаміну на мейотичне дозрівання ооцитів кролів в умовах *in vitro*. Встановлено, що рівень дозрівання ооцитів *in vitro* за таких умов становить 87,1%. Для дослідження повноцінності дозрівання *in vitro* ооцитів проведено їх осіменіння епідидимальними сперматозоїдами кроля (вилучені із хвостової частини придатка сім'яника). Рівень дроблення ембріонів сягав 52,1%. Встановлено, що через 120 годин культивування до стадії ранньої морули розвинулось 17,0% ембріонів. Для додаткової оцінки *in vitro* біологічної активності 0,001%-ної концентрації ВДК/D-галактозаміну було застосовано епідидимальні сперматозоїди кроля. Показано, що після перебування сперматозоїдів у середовищі з додаванням 0,001%-ної концентрації ВДК/D-галактозамін упродовж 15 хвилин відбулося зниження рухливості гамет на 5,0% з збереженням такого рівня упродовж трьох годин. Загальний час виживаності сперматозоїдів без додавання наноматеріалу сягав дев'яти годин, а з ним – не перевищував восьми годин. Додавання ВДК/D-галактозаміну до середовища до концентрації 0,001% спричиняло швидке насичення рецепторів клітинної поверхні сперматозоїдів цим наноматеріалом, що в свою чергу призвело до зниження їх рухливості до 35%. Але на такому рівні рухливість сперматозоїдів зберігалась довше, порівняно з контролем, що особливо важливо для підвищення рівня запліднення яйцеклітин *in vitro*. Встановлено перспективність проведення подальших біотехнологічних досліджень з використанням наноматеріалів на основі ВДК та біомолекул у системі збереження та раціонального використання генетичних ресурсів сільськогосподарських тварин [20].

Оптимізація технології культивування соматичних та статевих клітин тварин на основі застосування наноматеріалів наразі є актуальним завданням для удосконалення ефективних способів отримання *in vitro* яйцеклітин, доімплантаційних ембріонів, ембріональних та стовбурових клітин. В дослідженнях нами було використано ооцит-кумулюсні комплекси (ОКК) свиней, які розділяли на дві групи: дослідну, в якій культивування проводили в середовищі, що містило 0,001%-ву концентрацію ВДК/N-Gal і контрольну, в якій культивування ОКК проводили без додавання наноматеріалу. Для запліднення *in vitro* яйцеклітин свинок використовували кріоконсервовані еякульовані сперматозоїди кнура. За даними морфологічного та цитогенетичного аналізу встановлено, що рівень дозрівання ооцитів *in vitro* у дослідній групі був на 13,6% вище, порівняно з контрольною (70,6%). З метою дослідження повноцінності дозрівання *in vitro* ооцитів свиней проводили їх запліднення кріоконсервованими сперматозоїдами кнура. Встановлено, що у дослідній групі зигот було сформовано поза організмом на 11,0% більше ніж в контрольній (31,8%), також вищий на 15,1% рівень дроблення ембріонів спостерігали в дослідній групі, порівняно із контролем (18,2%). Розроблено систему оптимізації в умовах *in vitro* біологічної активності наноматеріалів та удосконалено методи біотехнологічних маніпуляцій із гаметами самиць у системі раціонального використання та відтворення вітчизняних порід сільськогосподарських тварин [8].

Здійснено оцінку *in vitro* біологічної активності трьох концентрацій (0,1%, 0,01% та 0,001%) наноматеріалу на основі ВДК, альбуміну сироватки крові великої рогатої худоби (БСА) та N-ацетилнейрамінової кислоти (ВДК/БСА/N-АНК). Показано, що стимулюючий його ефект на життєздатність кріоконсервованих сперматозоїдів кнурів залежить від його концентрації. Так після перебування сперматозоїдів із додаванням 0,001%-ї концентрації

ВДК/БСА/N-АНК упродовж 30 хвилин відбулось зростання активності сперматозоїдів на 13,3%. В статті відображена перспективність проведення подальших біотехнологічних досліджень з використанням нанокompatитів різного походження у системі збереження та раціонального використання генетичних ресурсів сільськогосподарських тварин [27].

Здійснено оцінку *in vitro* біологічної активності 0,001%-ї концентрації наноматеріалів, синтезованих на основі ВДК та: альбуміну сироватки крові великої рогатої худоби (БСА, ВДК/БСА; N-ацетилнейрамінової кислоти (N-АНК, ВДК/N-АНК) і ВДК, БСА і N-ацетилнейрамінової кислоти (ВДК/БСА/N-АНК). Показано, що стимулюючий ефект наноматеріалів на життєздатність кріоконсервованих сперматозоїдів бугаїв голштинської породи залежить від природи їх поверхні. Встановлено, що після перебування сперматозоїдів із додаванням 0,001%-ї концентрації ВДК/БСА/N-АНК упродовж 30 хвилин відбулось зростання активності сперматозоїдів на 10,0%, порівняно з іншими групами. В статті відображена перспективність проведення подальших досліджень з використанням наноматеріалів у системі збереження та раціонального використання генетичних ресурсів сільськогосподарських тварин [12].

На основі візуалізації флуоресцентним зондом (Nile Red) інтрацелюлярних ліпідів в ооцитах свиней, які завершили фазу росту *in vivo* або *in vitro*, охарактеризовані морфологія і типи розподілу ліпідних гранул в ооцитах до і після культивування з наночастинками ВДК (0,001%). За культивування ооцитів, які завершили фазу зростання *in vivo*, ВДК підвищується відсоток ооцитів з ліпідними краплями у вигляді гранул і дифузним типом розподілу, порівняно з вищезначеними показниками у ооцитах інших досліджених груп. Результати експериментів дозволяють інтерпретувати отримані дані про форму ліпідів у вигляді гранул, як форму, що детермінує високу потенцію ооцитів до подальшого розвитку і гіпотетично можна оцінити трансформування гранул у кластери за культивування, як предиктор наступних деструктивних змін в ооцитах [16].

Оцінено біологічну активність наноматеріалу ВДК/БСА/N-АНК за умов культивування з різними його концентраціями із сперматозоїдами та ооцит-кумулясними комплексами свиней *in vitro*. Для оцінки біологічної активності в експериментах застосовувались кріоконсервовані еякульовані сперматозоїди трьох кнурів та свіжовилучені ОКК свиней. За вивчення впливу різних концентрацій ВДК/БСА/N-АНК на життєздатність гамет кнурів найбільш активними виявились сперматозоїди за додавання 0,001%-ої концентрації ВДК/БСА/N-АНК. Додавання 0,1%-вої концентрації ВДК/БСА/N-АНК в середовище культивування *in vitro* ооцитів свиней забезпечувало формування дозрілих яйцеклітин на суттєво вищому рівні, що було на 20,2% більше, порівняно із контролем та на 18,7% вище в разі додавання 0,001%-вої концентрації ВДК/БСА/N-АНК. Показано, що найбільший позитивний вплив на деконсервовані сперматозоїди кнурів мала 0,001%-ва концентрація ВДК/БСА/N-АНК, яка забезпечила зростання їх активності на 13,3%. Встановлено, що додавання наноматеріалу ВДК/БСА/N-АНК в 0,1%-й концентрації збільшує рівень дозрівання на 20,2% [21].

Проаналізовано вплив наноматеріалу ВДК А-300, який попередньо прожарювали 2 години за температури 200°C на життєздатність деконсервованих сперматозоїдів бугаїв та кнурів у кінцевій концентрації 0,001%. Показано різний вплив використаного нами наноматеріалу в якості добавки до середовища із деконсервованими сперматозоїдами. Так, наноматеріал в 0,001% концентрації сповільнив зниження активності деконсервованих еякульованих сперматозоїдів, що проявилось у подовженні загального часу виживаності гамет кнурів та бугаїв до 6 годин.

Результати наших досліджень щодо взаємодії репродуктивних клітин з наночастинками ВДК є продовженням завдань, які стосуються не тільки кріоконсервації гамет, але й одержання ембріонів свиней *in vitro*. Встановлено, що рівень формування *in vitro* ембріонів свиней досягає 37,5% (27 із 72 осіменених яйцеклітин) в результаті додавання 0,001% ВДК до середовища культивування ембріонів. Загальний час виживаності розморожених еякульованих сперматозоїдів кнурів після додавання 0,001% ВДК подовжено до 5,5 годин. Здійснена оцінка *in vitro*

біологічної активності 0,001%-ї концентрації ВДК ембріонів свиней. Показана перспективність використання ВДК для удосконалення середовищ культивування гамет та ембріонів *in vitro* [24].

Вивчено вплив наноматеріалу ВДК, модифікованого вуглеводом сахарозою (ВДК/сахароза) на ефективність мейотичного дозрівання ооцитів корів *in vitro*. Нативні та деконсервовані ооцит-кумулясні комплекси (ОКК) корів розділяли на чотири групи: три дослідні, в яких культивування проводили в середовищі, що містило 0,1, 0,01 та 0,001% наноматеріалу ВДК/сахароза та контрольну, без додавання наноматеріалу. Встановлено, що найбільш дієвою для підвищення рівня дозрівання є додавання 0,001% концентрації ВДК/сахароза, що забезпечує отримання 76,8% ооцитів, які досягли стадії метафази II мейозу. Додавання в середовище для культивування деконсервованих гамет корів ВДК/сахароза (0,001%) та подальше запліднення *in vitro* попередньо дозрілих поза організмом деконсервованих яйцеклітин корів сприяє збільшенню кількості отриманих ембріонів до 33,3 [10].

Проаналізовано результати з оцінки біологічної активності наноматеріалу, синтезованого на основі ВДК за модифікації його рафінозою (ВДК/рафіноза), під час *in vitro* культивування сперматозоїдів та ооцитів свиней. Для оцінки біологічної активності в експериментах застосовувались кріоконсервовані еякульовані сперматозоїди трьох кнурів із Банку генетичних ресурсів тварин нашого інституту та свіжовилучені ооцит-кумулясні комплекси свинок. За дослідження впливу різних концентрацій ВДК/рафінози встановлено, що 0,001%-ої концентрація має найменший вплив на зниження життєздатності деконсервованих сперматозоїдів кнурів. Додавання наноматеріалу ВДК/рафіноза у різних концентраціях не сприяла зростанню життєздатності сперматозоїдів, порівняно із контролем. А додавання ВДК/рафіноза в середовище для культивування *in vitro* ооцитів свиней у концентрації 0,001% сприяло відновленню мейозу та розвитку до стадії МII вірогідно більшої кількості гамет ( $p < 0,01$  критерій Ст'юдента). Так рівень дозрівання в досліджуваній групі досяг 84,8%, що на 15,5% більше, порівняно із контрольною групою. Це свідчить про позитивний вплив ВДК/рафіноза в концентрації 0,001% на ооцити свинок за культивування *in vitro* [28].

Вивчено вплив нанобіоматеріалу, синтезованого на основі високодисперсного кремнезему та модифікованого сахарозою (ВДК/сахароза), на ефективність мейотичного дозрівання ооцитів свиней та їх подальший ембріональний розвиток поза організмом. Ооцит-кумулясні комплекси свиней розділяли на чотири групи: три дослідні, в яких культивування проводили в середовищі, що містило 0,1, 0,01 та 0,001% ВДК/сахароза та контрольну – без додавання наноматеріалу. Встановлено, що найбільш дієвою для підвищення рівня дозрівання є додавання 0,001% ВДК/сахароза, що забезпечує отримання 80,9% ооцитів, які досягли стадії метафази II мейозу. З метою дослідження повноцінності дозрівання *in vitro* ооцитів свиней проводили їх запліднення кріоконсервованими еякульованими сперматозоїдами кнура. Встановлено, що у дослідних групах, які дозрівали із 0,1 та 0,01% ВДК/сахароза зигот було сформовано поза організмом на 8,3% та 5,4% менше, ніж у контрольній (11,3%), відповідно. Вищий на 12,2% рівень дроблення ембріонів спостерігали в групі, яка дозрівала із 0,001% ВДК/сахароза, порівняно із контролем і цей показник становив 23,5%. Показано, що застосування ВДК/сахароза у системі ембріогенетичних досліджень сприяє цілеспрямованій стимуляції біологічних процесів в ооцитах. Доведено, що додавання ВДК/сахароза у концентрації 0,001% до складу середовища для культивування ОКК позитивно впливає на ефективність дозрівання ооцитів свиней та забезпечує вищий рівень дроблення ембріонів поза організмом (23,5%) [7].

**Висновки.** 1. Показана доцільність проведення комплексних нанобіотехнологічних досліджень як однієї із визначальних умов при збереженні генофонду порід. Проаналізовано результати з оцінки біологічної активності наноматеріалів, синтезованих на основі ВДК за модифікації його біомолекулами, під час культивування *in vitro* з гаметами сільськогосподарських тварин.

2. У розвиток аграрної нанобіотехнології в Україні визначальний внесок зробив доктор сільськогосподарських наук, професор Володимир Юхимович Недава. З іменем ученого пов'язані новаторські рішення, які визначили подальший розвиток нанотехнологічних та біотехнологічних досліджень у тваринництві України на кілька десятиріч уперед – застосування високодисперсного кремнезему та його модифікацій, ініціація нової галузі знань нанобіотехнологія, актуалізація проблеми збереження генофонду тварин тощо. Учений заклав фундамент нових комплексних знань з нанобіотехнології, визначив основні компоненти її структурного статусу та опрацював нові теоретичні підходи до організації селекційного процесу з урахуванням практичного використання біотехнологічних методів.

3. Розроблено схему застосування наноматеріалів під час кріоконсервації еякульованих сперматозоїдів кнурів вітчизняних порід. Здійснено оцінку *in vitro* біологічної активності трьох концентрацій (0,1%-, 0,01%- та 0,001%-ї) наноматеріалу на основі ВДК та біомолекул. Показано, що стимулюючий ефект наноматеріалів на життєздатність кріоконсервованих сперматозоїдів залежить від природи поверхні наноматеріалу.

4. Низка наукових робіт професора Володимира Юхимовича Недави засвідчують його талановиті організаторські та наукові риси характеру, які мають продовження і в наші часи. В. Ю. Недава ініціював розробку концепції обробки ВДК сперми сільськогосподарських тварин, визначив їхнє призначення у системі збереження генетичних ресурсів сільськогосподарських тварин, обґрунтував значення застосування таких матеріалів як основної ланки збереження сільськогосподарських тварин.

**Подяка.** За науковий супровід роботи висловлюємо вдячність кандидату біологічних наук Наталії Павлівні Галаган.

## БІБЛІОГРАФІЯ

1. Алюшин, М. Т. Аэросил и его применение в фармацевтической практике / М. Т. Алюшин, М. Н. Погорелый // Фармация. – 1971. – № 6. – С. 73–77.
2. Белоус, А. М. Крiоконсервация репродуктивных клеток / А. М. Белоус, В. И. Грищенко, Ю. С. Паращук / АН УССР, Институт проблем криобиологии и криомедицины. – К. : Наукова думка, 1986. – 207 с.
3. Історія Інституту розведення і генетики тварин у подіях, фактах, біографіях учених / НААН, ІРГТ ; наук. ред. К. В. Копилов. – ПП Люксар, 2012. – 368 с.
4. Буркат, В. П. Сучасна біотехнологія в тваринництві / В. П. Буркат, С. І. Ковтун // Біотехнологія. – 2008. – Т. 1, № 3. – С. 7–12.
5. Буркат, В. П. Нариси з історії інституту / В. П. Буркат, І. С. Бородай. – К. : Аграрна наука, 2008. – 556 с.
6. Галаган, Н. П. Наноматериалы на основе высокодисперсного кремнезема и биомолекул в средах с репродуктивными клетками / Н. П. Галаган // Сорбенты как факторы качества жизни и здоровья : материалы II Всеросс. науч. конф. – Москва-Белгород, 2006. – С. 55–59.
7. Аналіз ефективності розвитку поза організмом ембріонів свиней за використання нанобіоматеріалу / А. Б. Зюзюн, О. В. Щербак, С. І. Ковтун, А. О. Свергунов, Г. О. Свергунова // Фактори експериментальної еволюції організмів : зб. наук. пр. / НААН України. – К. : Логос, 2019. – Т. 25. – С. 231–236. DOI: <https://doi.org/10.7124/FEEO.v25.1168>.
8. Застосування наноматеріалу в ембріогенетичній системі *in vitro* отримання ембріонів свиней / А. Б. Зюзюн, О. В. Щербак, О. С. Осипчук, С. І. Ковтун, В. В. Дзіцюк // Фактори експериментальної еволюції організмів : зб. наук. пр. / НААН України – К. : Логос, 2015. – Т. 17. – С. 164–168.
9. Використання наноматеріалів для ефективного формування ембріонів свиней *in vitro* / С. І. Ковтун, О. В. Щербак, А. Б. Зюзюн, П. А. Троцький, Т. В. Галицька // Досягнення і проблеми генетики, селекції та біотехнології : зб. наук. пр. / НАН України, НААН України, НАМН України, Укр. т-во генетиків і селекціонерів ім. М. І. Вавилова. – Т. 4 : присвячено 125-річчю від дня народження М. І. Вавилова. – 2012. – С. 513–518.



10. Використання нанобіотехнологічних методів для оптимізації технології культивування ооцитів корів поза організмом / С. І. Ковтун, А. Б. Зюзюн, О. В. Щербак, П. А. Троцький // Фактори експериментальної еволюції організмів : зб. наук. пр. / НААН України. – К. : Логос, 2018. – Т. 22. – С. 257–261.
11. Застосування наноматеріалів у системі збереження біорізноманіття сільськогосподарських тварин України / С. І. Ковтун, О. В. Щербак, П. А. Троцький, Т. В. Галицька, А. Б. Зюзюн // Фактори експериментальної еволюції організмів : зб. наук. пр. / НААН України. – К. : Логос, 2013. – Т. 13. – С. 57–61.
12. Ковтун, С. І. Оцінка біологічної активності нанобіоматеріалів / С. І. Ковтун, Н. П. Галаган, О. В. Щербак // Розведення і генетика тварин. – К., 2016. – Вип. 52. – С. 186–193.
13. Кріоконсервация спермы сельскохозяйственных животных / А. Д. Курбатов, Е. М. Платов, Н. В. Корбан, Л. Г. Мороз, В. А. Наук. – Л. : Агропромиздат, 1988. – 256 с.
14. Использование азросилов в практике искусственного осеменения / В. Е. Недава, А. А. Чуйко, Л. А. Бегма, А. А. Бегма, В. И. Богомаз // Зоотехния. – 1990. – № 8. – С. 63–65.
15. Об использовании высокодисперсных кремнеземов в средах для замораживания спермы баранов / В. Е. Недава, О. И. Смирнова, М. П. Журавель, Н. П. Галаган, В. И. Богомаз, А. А. Чуйко, А. П. Синельник, В. П. Михнюк // Сельскохозяйственная биология. – 1992. – № 4. – С. 220–225.
16. Влияние наночастиц высокодисперсного кремнезема на морфологию и интрацитоплазматическую локализацию липидных капель в ооцитах свиней / Д. А. Новичкова, Т. И. Кузьмина, О. В. Щербак, Н. П. Галаган, О. А. Епишко // Розведення і генетика тварин. – К., 2017. – Вип. 53 – С. 284–292.
17. Патент № 1144698 СССР. МКИ А 61 Д 7/02. Способ обработки спермы сельскохозяйственных животных / А. А. Чуйко, В. Е. Недава, В. К. Пикалов, Л. А. Бегма, В. И. Богомаз, А. А. Бегма, В. М. Огенко. – Заявл. 03.06.1983; опубл. 15.03.85 ; Бюл. № 10. – 5 с.
18. Патент № 1727816 А 1 СССР. МКИ А 61 Д 19/02. Среда для разбавления спермы баранов / Н. П. Галаган, А. П. Синельник, В. Е. Недава, М. П. Журавель, О. И. Смирнова, А. А. Чуйко, В. И. Богомаз, В. К. Пикалов, Э. А. Бакай, Н. В. Коваленко, Л. Ф. Лукомская. – Заявл. 18.07.88; опубл. 23.04.92; Бюл. № 15. – 3 с.
19. Медицинская химия и клиническое применение диоксида кремния / А. А. Чуйко, В. К. Погорельый, А. А. Пентюк, М. А. Андрейчин, Л. А. Белякова. – К. : Наукова думка, 2003. – 415 с.
20. Біотехнологічна модель одержання зародків кролів *in vitro* з використанням наноматеріалу / О. В. Щербак, С. І. Ковтун, А. Б. Зюзюн, О. С. Осипчук // Біологія тварин. – 2015. – Т. 17, № 2. – С. 172–178.
21. Вивчення біологічної активності наноматеріалу в умовах культивування сперматозоїдів та ооцитів свиней *in vitro* / О. В. Щербак, А. Б. Зюзюн, О. С. Осипчук, С. І. Ковтун, Н. П. Галаган, П. А. Троцький // Фактори експериментальної еволюції організмів : зб. наук. пр. / НААН України – К. : Логос, 2017. – Т. 20. – С. 256–260.
22. Щербак, О. В. Вплив наноматеріалів на життєздатність кріоконсервованих сперматозоїдів бугаїв / О. В. Щербак, Л. М. Гончаренко // Вісник Степу : наук. зб. – Кіровоград : Центр.-Укр. вид-во, 2011. – Ювіл. вип. : Матеріали VII Всеукр. наук.-практ. конф. молодих вчених і спеціалістів "Агропромислове виробництво України – стан та перспективи розвитку", 24 бер. 2011 р. – С. 145–147.
23. Щербак, О. В. Ефективність застосовування наноматеріалів у технології раціонального використання генетичних ресурсів свиней / О. В. Щербак // Розведення і генетика тварин. – К., 2014. – Вип. 48. – С. 277–284.
24. Застосування наночастинок діоксиду кремнію в технології формування ембріонів свиней *in vitro* / О. В. Щербак, Н. П. Галаган, П. А. Троцький, С. І. Ковтун // Наносистеми, наноматеріали, нанотехнології : зб. наук. праць. – К., 2017. – Том 15, вип. 2 – С. 381–388.

25. Kovtun, S. Analysis of the impact of nanomaterials on the viability of sperm / S. Kovtun, O. Shcherbak, S. Shekhovtsov // Scientific conference with international participation Animal Science – challenges and innovations Proceedings Institute of Animal Science – Kostinbrod Sofia, Bulgaria, 1–3 november 2017. – P. 410–413.

26. Nanobiotechnologies in the System of Farm Animals' Gene Pool Preservation / S. I. Kovtun, N. P. Galagan, O. V. Shcherbak, N. Y. Klymenko, and O. S. Osypchuk // Nanocomposites, Nanophotonics, Nanobiotechnology, and Applications. Selected Proceedings of the Second FP7 Conference and International Summer School Nanotechnology: from fundamental research to innovations, August 25 – September 1, 2013, Bukovel, Ukraine, Edited by Olena Fesenco, Leonid Yatsenco. Springer Proceedings in Physics 156, 2015. – P. 215–221. DOI: [https://doi.org/10.1007/978-3-319-06611-0\\_18](https://doi.org/10.1007/978-3-319-06611-0_18).

27. Nanocomposites in Technology of Cryopreservation of Sperm Boar / S. I. Kovtun, N. P. Galagan, O. V. Shcherbak, O. S. Osypchuk, and N. Y. Klymenko // Nanoplasmonics, Nanooptics, Nanocomposites, and Surface Studies. Selected Proceedings of the Second FP7 Conference and the Third International Summer School Nanotechnology: From Fundamental Research to Innovations, August 23–30, 2014, Yaremche-Lviv, Ukraine, Edited by Olena Fesenco, Leonid Yatsenco. Springer Proceedings in Physics 167, 2015. – P. 387–394. DOI: [https://doi.org/10.1007/978-3-319-18543-9\\_26](https://doi.org/10.1007/978-3-319-18543-9_26).

28. Features of the influence of UFS/Raffinose nanocomposites on in vitro cultivation of gamets of swine / O. V. Shcherbak, A. B. Zyuzyun, A. O. Sverhunov, A. O. Sverhunova // Nanophotonics, Nanooptics, Nanobiotechnology, and Their Applications. NANO 2018. Springer Proceedings in Physics, vol 222. Springer, Cham, Ukraine edited by Olena Fesenco and Leonid Yatsenko, 2019. – P. 255–263. DOI: [https://doi.org/10.1007/978-3-030-17755-3\\_17](https://doi.org/10.1007/978-3-030-17755-3_17).

## REFERENCES

1. Alyushin, M. T., and M. N. Pogorelyj. 1971. Ajerosil i ego primenenie v farmacevticheskoj praktike – Aerosil and its use in pharmaceutical practice. *Farmaciya – Pharmacy*. 6:73–77 (in Russian).

2. Belous, A. M., V. I. Gryshhenko, and Yu. S. Parashhuk. 1986. *Kriokonservaciya reproduktivnikh kletok – Cryopreservation of reproductive cages*. AN USSR, Instytut problem kriobiologii i kriomedycyny – Academy of Sciences of the Ukrainian SSR, Institute of Problems of Cryobiology and Cryomedicine. K.: Naukova Dumka. 207 (in Russian).

3. Bojko, Yu. M., I. S. Boroday, and O. V. Shcherbak. 2012. *Istoriya Instytutu rozvedennya i genetyky tvaryn u podiyax, faktakh, biografiyakh uchenykh – History of the Institute of Animal Breeding and Genetics in the events, facts, biographies of scientists*. Luxar. 368 (in Ukrainian).

4. Burkat, V. P., and S. I. Kovtun. 2008. Suchasna biotekhnolohiya v tvarynnytstvi – Modern biotechnology in animal husbandry. *Biotekhnolohiya – Biotechnology*. 1(3):7–12 (in Ukrainian).

5. Burkat, V. P., and I. S. Borodaj. 2008. *Narysy z istoriyi instytutu: monografiya – Essays from the history of the institute: monograph*. Kyiv, Agrarna nauka, 556 (in Ukrainian).

6. Galagan, N. P. 2006. Nanomateryaly na osnove vysokodispersnogo kremnezema i biomolekul v sredakh s reproduktivnymi kletkami – Nanomaterials Based on Fine Silica and Biomolecules in Media with Reproductive Cells. Materialy nauch. konf. *Sorbenty kak faktory kachestva zhyzni i zdorovya – Sorbents as factors of quality of life and health: materials of II All-Russian. scientific conf*. Moskva-Belgorod. 55–59 (in Russian).

7. Zyuzyun, A. B., O. V. Shcherbak, S. I. Kovtun, A. O. Svergunov, and G. O. Svergunova. 2019. Analiz efektyvnosti rozvytku poza organizmom embrioniv svynej za vykorystannya nanobiomaterialu – Analysis of the efficiency of development of porcine embryos outside the body using nanobiomaterial. *Faktory eksperymentalnoyi evolyuciyi organizmiv: Zb. nauk. pr. Nacionalna akademiya nauk Ukrayiny – Factors of experimental evolution of organisms: coll. Science. National Academy of Sciences of Ukraine*. K., Logos. 25:231–236. DOI: <https://doi.org/10.7124/FEE0.v25.1168> (in Ukrainian).

8. Zyuzyun, A. B., O. V. Shherbak, and O. S. Osypchuk. 2015. Zastosuvannya nanomaterialu v embriogenetichnij systemi in vitro otrymannya embrioniv svynej – The use of nanomaterial in the embryogenic system in vitro of pig embryos. *Fakty eksperymentalnoyi evolyuciyi organizmiv: Zb. nauk. pr. Nacionalna akademiya nauk Ukrayiny – Factors of experimental evolution of organisms: coll. Science. National Academy of Sciences of Ukraine*. Kyiv, Logos. 17:164–168 (in Ukrainian).
9. Kovtun, S. I., O. V. Shherbak, and A. B. Zyuzyun. 2012. Vykorystannya nanomaterialiv dlya efektyvnogo formuvannya embrioniv svynej in vitro – The use of nanomaterials for the efficient formation of pig embryos in vitro. *Dosyagnennya i problemy genetyky, selekciyi ta bioteknologiyi– Achievements and problems of genetics, selection and biotechnology*. 4:513–518 (in Ukrainian).
10. Kovtun, S. I., A. B. Zyuzyun, O. V. Shherbak, and P. A. Troczkyj. 2018. Vykorystannya nanobioteknologichnykh metodiv dlya optymizaciyi tekhnologiyi kul'tyvuvannya oocytiv koriv poza organizmom – The use of nanobiotechnological methods for optimizing the technology of culturing oocytes of cows outside in vitro. *Fakty eksperymentalnoyi evolyuciyi organizmiv: Zb. nauk. pr. Nacionalna akademiya nauk Ukrayiny – Factors of experimental evolution of organisms: coll. Science. National Academy of Sciences of Ukraine*. K., Logos. 22:257–261 (in Ukrainian).
11. Kovtun, S. I., O. V. Shherbak, and P. A. Troczkyj. 2013. Zastosuvannya nanomaterialiv u systemi zberezheniya bioriznomanittya silskogospodarskykh tvaryn Ukrayiny – Application of nanomaterials in the system of biodiversity conservation of agricultural animals of Ukraine. *Fakty eksperymentalnoyi evolyuciyi organizmiv: Zb. nauk. pr. Nacionalna akademiya nauk Ukrayiny – Factors of experimental evolution of organisms: coll. Science. National Academy of Sciences of Ukraine*. K., Logos. 13:57–61 (in Ukrainian).
12. Kovtun, S. I., N. P. Galagan, and O. V. Shherbak. 2016. Ocinka biologichnoyi aktyvnosti nanobiomaterialiv – Assessment of biological activity of nanobiomaterials. *Rozvedennya i genetyka tvaryn – Animal breeding and genetics*. 52:186–193 (in Ukrainian).
13. Kurbatov, A. D., E. M. Platov, N. V. Korban, L. G. Moroz, and V. A. Nauk. 1988. *Kriokonservacija spermy sel'skoho-zajstvennykh zhyvotnykh – Cryopreservation semen of farm animals*. L.: Agropromizdat. 256 (in Russian).
14. Nedava, V. E., A. A. Chujko, L. A. Begma, A. A. Begma, and V. I. Bogomaz. 1990. Ispol'zovaniye ajerosilov v praktyke isskustvennogo osemnenyya – The use of aerosil in the practice of artificial insemination. *Zootehnija – Zootechnia*. 8:63–65 (in Russian).
15. Nedava, V. E., O. I. Smyrnova, and M. P. Zhuravel. 1992. Ob ispol'zovanyyi vysokodispersnykh kremnozemo v sredax dlya zamorazhyvaniya spermy baranov – On the use of finely dispersed silicas in media for freezing sheep sperm. *Sel'skoho-zajstvennaja biologija – Agricultural biology*. 4:220–225 (in Russian).
16. Novychkova, D. A., T. Y. Kuzmyna, O. V. Shherbak, N. P. Galagan, and O. A. Epyshko. 2017. Vlyyaniye nanochastyc vysokodispersnogo kremnezema na morfologyyu i intracytoplazmatycheskuyu lokalizacyyu lypidnykh kapel v oocytakh svynej – The effect of fine silica nanoparticles on the morphology and intracytoplasmic localization of lipid droplets in pig oocytes. *Rozvedennya i henetyka tvaryn – Animal breeding and Genetics*. 53:284–292 (in Russian).
17. Chujko, A. A., V. E. Nedava, V. K. Pikalov, L. A. Begma, V. I. Bogomaz, A. A. Begma, and V. M. Ogenko. *Patent № 1144698 SSSR. MKI A 61 D 7/02. Sposob obrabotki spermy sel'skoho-zajstvennykh zhyvotnykh – Patent No. 1144698 of the USSR. MKI A 61 D 7/02. Method for processing sperm of farm animals. Zajavl. 03.06.1983; opubl. 15.03.85, Byul – Claim 06.03.1983; publ. 03.15.85, Byul. 10:5* (in Russian).
18. Galagan, N. P., A. P. Sinel'nik, V. E. Nedava, M. P. Zhuravel', O. I. Smirnova, A. A. Chuyko, V. I. Bogomaz, V. K. Pikalov, E. A. Bakay, N. V. Kovalenko, and L. F. Lukomskaya. *Patent № 1727816 A 1 SSSR. MKI A 61 D 19/02. Sreda dlya razbavleniya spermy baranov – Patent No. 1727816 A 1 of the USSR. MKI A 61 D 19/02. Sheep semen dilution medium. Zayavl. 18.07.88; opubl. 23.04.92, Byul – Claim 07.18.88; publ. 04.23.92, Byul. 15:3* (in Russian).

19. Chujko, A. A., V. K. Pogorelyj, A. A. Pentyuk, M. A. Andrejchyn, and L. A. Belyakova. 2003. *Medecynskaya chymyya i klynycheskoye primenenyye dyoksyda kremniya – Medical chemistry and clinical use of silicon dioxide*. Kiev, Naukova dumka. 415 (in Russian).
20. Shherbak, O. V., S. I. Kovtun, and A. B. Zyuzyun. 2015. Biotexnologichna model oderzhannya zarodkiv kroliv in vitro z vykorystanniam nanomaterialu – Biotechnological model of rabbit embryo production in vitro using nanomaterial. *Biologiya tvaryn – Animal biology*. 17(2):172–178 (in Ukrainian).
21. Shherbak, O. V., A. B. Zyuzyun, O. S. Osypchuk, S. I. Kovtun, N. P. Galagan, and P. A. Troczkyj. 2017. Vyvchennya biologichnoyi aktyvnosti nanomaterialu v umovakh kultyvuvannya spermatozoidiv ta oocytiv svynej in vitro – The study of the biological activity of nanomaterial under the conditions of cultivation of pig sperm and oocytes in vitro. *Fakty eksperymentalnoyi evolyuciyi organizmiv: Zb. nauk. pr. Nacionalna akademiya nauk Ukrayiny – Factors of experimental evolution of organisms: coll. Science. National Academy of Sciences of Ukraine*. Kyiv: Logos. 20:256–260 (in Ukrainian).
22. Shherbak, O. V., and L. M. Goncharenko. 2011. Vplyv nanomaterialiv na zhyttyezdatnist kriokonservovanykh spermatozoidiv bugayiv – Influence of nanomaterials on the viability of cryopreserved bull sperm. *Visn. Stepu : nauk. zb. «Agropromyslove vyrobnytvo Ukrayiny – stan ta perspektyvy rozvytku» – Bulletin of the Steppe: Science. zb. Kirovograd: Tsent.-Ukr. ed., 2011. – Anniversary. issue : Materials VII All-Ukrainian. scientific-practical conf. of young scientists and specialists "Agro-industrial production of Ukraine – state and prospects of development", March 24*. 145–147 (in Ukrainian).
23. Shherbak, O. V. 2014. Efektyvnist zastosovuvannya nanomaterialiv u texnologiyi racionalnogo vykorystannya genetychnykh resursiv svynej – Nanomaterials efficiency in pig genetic resource management technology. *Rozvedennya i henetyka tvaryn – Animal breeding and genetics*. 48:277–284 (in Ukrainian).
24. Shherbak, O. V., N. P. Galagan, P. A. Troczkyj, and S. I. Kovtun. 2017. Zastosuvannya nanochastynok dioksydu kremniyu v texnologiyi formuvannya embrioniv svynej in vitro – The use of silica nanoparticles in the formation of pig embryos in vitro. *Zbirnyk naukovykh pracz «Nanosystemy, nanomaterialy, nanotexnologiyi» – Nanosystems, nanomaterials, nanotechnologies: coll. Science. wash*. 15(2):381–388 (in Ukrainian).
25. Kovtun, S., O. Shcherbak, and S. Shekhovtsov. 2017. Analysis of the impact of nanomaterials on the viability of sperm. *Scientific conference with international participation Animal Science. Challenges and innovations Proceedings Institute of Animal Science*. 410–413 (in English).
26. Kovtun, S. I., N. P. Galagan, O. V. Shcherbak, N. Y. Klymenko, and O. S. Osypchuk. 2013. Nanobiotechnologies in the System of Farm Animals' Gene Pool Preservation. *Nanocomposites, Nanophotonics, Nanobiotechnology, and Applications. Selected Proceedings of the Second FP7 Conference and International Summer School Nanotechnology: from fundamental research to innovations*. 156:215–221. DOI: [https://doi.org/10.1007/978-3-319-06611-0\\_18](https://doi.org/10.1007/978-3-319-06611-0_18) (in English).
27. Kovtun, S. I., N. P. Galagan, O. V. Shcherbak, O. S. Osypchuk, and N. Y. Klymenko. 2015. Nanocomposites in Technology of Cryopreservation of Sperm Boar. *Nanoplasmonics, Nano-Optics, Nanocomposites, and Surface Studies. Selected Proceedings of the Second FP7 Conference and the Third International Summer School Nanotechnology: From Fundamental Research to Innovations*. 167:387–394. DOI: [https://doi.org/10.1007/978-3-319-18543-9\\_26](https://doi.org/10.1007/978-3-319-18543-9_26) (in English).
28. Shcherbak, O. V., A. B. Zyuzyun, A. O. Sverhunov, and A. O. Sverhunova. 2019. Features of the influence of UFS/Raffinose nanocomposites on in vitro cultivation of gamets of swine. *Nanophotonics, Nanooptics, Nanobiotechnology, and Their Applications. NANO 2018*. 222:255–263. DOI: [https://doi.org/10.1007/978-3-030-17755-3\\_17](https://doi.org/10.1007/978-3-030-17755-3_17) (in English).