

Анотація

Дем'янчук О.І. Вплив альфа-кетоглютарату на дрозоділ та мишей: параметри поведінки, оксидативного стресу та енергетичного обміну. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 Біологія. – Прикарпатський національний університет імені Василя Стефаника, МОН України, Івано-Франківськ, 2025.

Дисертація присвячена вивченню здатності альфа-кетоглютарату (АКГ), важливого клітинного метаболіту, впливати на старіння та метаболічні порушення, які, зазвичай, асоціюються зі старінням, у модельних тварин, плодової мушки *Drosophila melanogaster* та лабораторних мишей *Mus musculus*. У попередніх роботах на низці модельних об'єктів (дріжджах, плодових мушках, нематодах та мишах) показано, що додавання альфа-кетоглютарату до їжі збільшувало тривалість життя та уповільнювало старіння цих організмів, проте детально механізми дії АКГ не встановлені. Окремі дослідження вказують на те, що АКГ може модулювати про-/антиоксидантний захист та діяти як міметик калорійного обмеження. Метою цієї роботи було оцінити здатність екзогенного альфа-кетоглютарату модулювати тривалість життя, поведінку та метаболізм плодової мушки та лабораторних мишей за умов фізіологічного, уповільненого та прискореного старіння. Дослідження були зосереджені на розкритті механізмів дії АКГ, який додавали до їжі модельних тварин у формі розчину динатрієвої солі, та оцінці його потенційних геропротекторних властивостей. Як модельні об'єкти були обрані довгоживуча сублінія *D. melanogaster*, отримана з лінії Canton S (для оцінки впливу екзогенного АКГ на тривалість життя, параметри про-/антиоксидантного статусу та енергетичних процесів на тлі уповільненого старіння) та миші лінії *C57BL/6J* (для дослідження впливу екзогенного АКГ на когнітивні функції (поведінку) та біохімічні показники мозку на фоні споживання стандартної їжі та висококалорійної їжі, що були використані як модель фізіологічного та прискореного старіння, відповідно). Таким чином, робота складалася з двох частин. У першій частині досліджувався

вплив АКГ на тривалість життя довгоживучої сублінії мух та зміни у фізіологічних та біохімічних процесах, які він зумовлював. У другій частині дослідження вивчався вплив АКГ на когнітивні функції мишей і біохімічні показники (енергетичного обміну, про-/антиоксидантного статусу, автофагії та дотичних сигнальних регуляторних шляхів) у корі головного мозку мишей на фоні споживання стандартної їжі та висококалорійної їжі.

Дорослих мух утримували на живильному середовищі, які містило різні концентрації базових компонентів, сахарози та дріжджів, та 10 мМ АКГ (взято ту концентрацію, яка у попередніх дослідженнях проявила геропротекторну дію). Як фізіологічні показники дрозофіл визначали тривалість життя, індуковану рухову активність і стійкість (виживання) 25-денних мух до дії різних стресорів. Миші споживали АКГ у формі 1% розчину натрієвої солі АКГ, доданого до питної води. Вплив АКГ на поведінку мишей оцінювали через проведення тесту відкритого поля. Гомеостаз активних форм кисню (АФК) у модельних об'єктів оцінювали за рівнем пероксидів ліпідів, тіолів, глутатіону та активністю антиоксидантних і пов'язаних з ними ферментів, а також оцінювали рівень транскриптів генів, які пов'язані з антиоксидантною відповіддю, методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) зі зворотною транскрипцією з агарозним гель-електрофорезом. Зміни енергетичного статусу оцінювали за рівнем енергетичних метаболітів (глюкози, глікогену, триацилгліцеролів), активністю гліколітичних ферментів та роботою комплексів електронтранспортного ланцюга мітохондрій. Для оцінки автофагії визначали відносний стаціонарний рівень іРНК генів, які пов'язані з автофагією, за допомогою ПЛР зі зворотною транскрипцією.

У ході виконання цієї роботи виявлено, що екзогенний АКГ не впливав на тривалість життя довгоживучої сублінії *D. melanogaster* на стандартному середовищі, яке містило 5% сахарози та 5% дріжджів (5С:5Д), але збільшував тривалість життя на середовищах з низьким вмістом білків і високим вмістом сахарози (9С:1Д). Мухи середнього віку (25 днів), які споживали стандартне середовище (5С:5Д) без та з додаванням 10 мМ АКГ протягом трьох тижнів, не

відрізнялися між собою у значеннях таких фізіологічних показників, як рухова активність і стійкість до голодування, теплового стресу і хімічних стресорів. Проте мухи, що споживали 10 мМ АКГ, мали нижчу активність деяких антиоксидантних ферментів (каталази та глутатіон-S-трансферази) і нижчий рівень триацилгліцеролів. Водночас, у цих мух не змінювалася активність ферментів, які відновлюють НАДФ⁺, активність ключових ферментів гліколізу, робота мітохондріального електронтранспортного ланцюга та рівень маркерів оксидативного стресу. Таким чином, споживання екзогенного АКГ практично не впливало на основні енергозабезпечуючі процеси, а саме гліколіз та окисне фосфорилування, але послаблювало антиоксидантний захист та запобігало накопиченню запасних ліпідів у довгоживучих мух *D. melanogaster*. Для перевірки, чи екзогенний альфа-кетоглутарат діє через Nrf2-сигнальний шлях, було оцінено рівень транскриптів генів, які контролюються цим білком. Альфа-кетоглутарат призводив до збільшення відносного стаціонарного рівня іРНК гену *Cyp6a2*, але не впливав на рівень транскриптів генів *Ugt37A2* та *GstD2*. Це вказує на незначний вплив АКГ на Nrf2-сигнальний шлях.

На наступному етапі роботи, нами було оцінено ефекти АКГ у дорослих мишей за споживання висококалорійних дієт, використаних як фактор, який прискорює старіння та сприяє розвитку метаболічних порушень. Вперше було продемонстровано, що споживання з питною водою екзогенного АКГ протягом 12 тижнів може викликати в мишей (самці) тривожну поведінку на фоні базової їжі та висококалорійної їжі з високим вмістом жиру (смазьцю) та фруктози. Миші, які споживали базову та висококалорійну їжу з додаванням АКГ у тесті відкритого поля проводили менше часу у внутрішній зоні установки для тестування, порівняно з контрольною групою. Це свідчить про тривожну поведінку та зниження дослідницької активності. Подібно до плодівих мух, у корі головного мозку мишей АКГ на тлі базової їжі суттєво не впливав на маркери оксидативного стресу, але призводив до зменшення активності ферментів антиоксидантного захисту. Також альфа-кетоглутарат не впливав на рівень глюкози, активність гліколітичних ферментів та роботу комплексів

мітохондріального електронтранспортного ланцюга у корі головного мозку мишей. Подібно, як і АКГ, їжа з високим вмістом жирів і фруктози призводила до зниження активності ферментів, які здійснюють глутатіонзалежну детоксикацію ксенобіотиків і продуктів перекисного окислення ліпідів, а саме глутатіонпероксидази і глутатіон-S-трансферази, та зростання рівня пероксидів ліпідів та активності NAD(P)H:хіноноксидоредуктази 1 (NQO1). Базова їжа з додаванням АКГ призводила до вищого співвідношення відновленого до окисленого глутатіону, вищої активності NQO1 та вищих рівнів мРНК UDP-глюкозо-6-дегідрогенази та фактору транскрипції EB (TFEB), який є маркером автофагії. Як висококалорійна їжа з високим вмістом фруктози та жиру, так і базова їжа з додаванням АКГ, а також їхня комбінація сприяли зниженню рівнів транскриптів PDK4 (ключовий регулятор потоку циклу Кребса), гліцин-N-метилтрансферази (фермент детоксикації), PGC-1 α (ключовий регулятора цикл Кребса, мітохондріального біогенезу і β -окислення жирних кислот).

В іншій серії експериментів вивчали вплив АКГ у комбінації з кафетерійним раціоном, який містив типові оброблені продукти харчового раціону людини. На відміну від експерименту з їжею з високим вмістом фруктози та жиру, у експерименті з кафетерійним раціоном, мишей (самок) спочатку утримували на кафетерійну раціоні протягом 8 тижнів, а потім на наступні 4 тижні частина мишей до харчового раціону отримувала 1% АКГ з питною водою. Кафетерійна їжа знижувала антиоксидантний захист у корі головного мозку самок C57BL/6J середнього віку. Додавання АКГ до базової їжі сприяло поведінці мишей із симптомами схожими на тривогу. Комбінація кафетерійної їжі та АКГ посилювала поведінкові зміни у мишей, зокрема зниження дослідницької активності. Найсильнішим ефектом АКГ було індукція пов'язаних з аутофагією генів та генів-мішеней білка FOXO, транскрипційного фактору залученого в регуляцію обміну вуглеводів та антиоксидантного захисту. Припускаємо, що спостережувана дія АКГ на поведінку та клітинні функції може бути також опосередкована активацією АКГ-залежних гідроксилаз і деметилаз. Поживні речовини кафетерійного раціону можуть посилити цю дію, зберігаючи пул АКГ.

Таким чином, добавки АКГ можуть принести користь здоров'ю мозку шляхом модулювання оксидативного стресу та посилення аутофагії, хоча його потенціал викликати поведінку, подібну до тривоги, підкреслює необхідність подальших досліджень.

Отже, АКГ продовжує тривалість життя довгоживучої плодової мушки дрозофіли в умовах обмеження доступності білків, але не за оптимізованих умов (збалансованого харчування білками і вуглеводами). Також АКГ послаблює антиоксидантний захист, не впливаючи суттєво на енергетичний метаболізм як у мух, так і мишей на тлі базової їжі. Водночас, АКГ може викликати тривожну поведінку у мишей збільшення відносного стаціонарного рівня іРНК генів, які пов'язані з аутофагією, у корі головного мозку на тлі споживання базової їжі. Додавання АКГ до висококалорійної їжі частково коригує її метаболічні ефекти на мозок мишей, з більше вираженим захисним впливом АКГ на тлі їжі з високим вмістом жиру та фруктози, ніж на тлі кафетерійного раціону. Останній факт може бути пов'язаний як з складом їжі, так з тривалістю споживання та фізіологічними особливостями мишей (вік, стать). Разом, результати свідчать про те, що геропротекторні та стрес-протекторні властивості альфа-кетоглутарату залежать від складу їжі та фізіологічних особливостей модельних тварин.

Ключові слова: альфа-кетоглутарат, старіння, тривалість життя, висококалорійна їжа, кафетерійний раціон, мозок, аутофагія, антиоксидантна система, оксидативний стрес, активні форми кисню, *Drosophila melanogaster*, миші, енергетичний метаболізм, мітохондрії, поведінка; харчування.

Annotation

Demianchuk O.I. Influence of alpha-ketoglutarate on *Drosophila* and mice: parameters of behavior, oxidative stress and energy metabolism.

Dissertation for the degree of Doctor of Philosophy in the specialty 091 Biology – Vasyl Stefanyk Precarpathian National University, Ministry of Education and Science of Ukraine, Ivano-Frankivsk, 2025.

This dissertation is devoted to the study of the ability of alpha-ketoglutarate (AKG), an important cellular metabolite, to influence aging and metabolic disorders commonly associated with aging in model animals, the fruit fly *Drosophila melanogaster* and laboratory mice *Mus musculus*. Previous studies on model organisms (yeast, fruit flies, nematodes, and mice) have shown that the addition of alpha-ketoglutarate to food increased the lifespan and slowed down the aging of these organisms, but the mechanisms of AKG action have not been established in detail. Some studies indicate that AKG can modulate pro-/antioxidant defense and act as a caloric restriction mimetic. The aim of this study was to evaluate the ability of exogenous alpha-ketoglutarate to modulate the lifespan, behavior and metabolism of fruit flies and laboratory mice under physiological, delayed and accelerated aging conditions. The research was focused on revealing the mechanisms of action of AKG, which was added to the food of model animals in the form of a disodium salt solution, and assessing its potential geroprotective properties. The long-lived subline *D. melanogaster* derived from the Canton S line (to evaluate the effect of exogenous AKG on lifespan, parameters of pro-/antioxidant status and energy processes under delayed aging) and C57BL/6J mice (to study the effect of exogenous AKG on cognitive functions (behavior) and brain biochemical parameters under consumption of standard food and high-calorie food, which were used as a model of physiological and accelerated aging, respectively). Thus, the study consisted of two parts. The first part of the study was the investigation of the effect of AKG on the lifespan of a long-lived subline of fruit flies and the AKG-induced changes in physiological and biochemical processes. In the second part of the study, we examined the effect of AKG on the cognitive functions of mice and biochemical parameters (energy metabolism, pro-/antioxidant status, autophagy and related signaling regulatory pathways) in the cerebral cortex of mice after consumption of standard and high-calorie food.

Adult flies were maintained on nutrient medium containing different concentrations of basic components, sucrose and yeast, and 10 mM AKG (the concentration that showed a geroprotective effect in previous studies). As physiological parameters of *Drosophila*, we determined the lifespan, climbing activity,

and resistance (survival) of 25-day-old flies to various stressors. Mice consumed AKG in the form of a 1% solution of AKG sodium salt added to drinking water. The effect of AKG on the behavior of mice was assessed by conducting an open field test. The homeostasis of reactive oxygen species (ROS) in the model objects was assessed by the level of lipid peroxides, thiols, glutathione and the activity of antioxidant and related enzymes, and the expression of genes related to the antioxidant response was evaluated by reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) with agarose gel electrophoresis. Changes in energy status were assessed by the level of storage metabolites (glucose, glycogen, triacylglycerols), the activity of glycolytic enzymes, and the functioning of electron transport chain complexes. To evaluate autophagy, the relative steady-state levels of the autophagy-related genes were assessed by reverse transcription PCR.

In this work, it was found that exogenous AKG did not affect the lifespan of the long-lived subline *D. melanogaster* on a standard medium containing 5% sucrose and 5% yeast (5C:5D), but increased the lifespan on media with low protein and high sucrose (9C:1D). Middle-aged flies (25 days old) consuming standard medium (5C:5D) without and with the addition of 10 mM AKG for three weeks did not differ in the values of such physiological parameters as climbing activity and resistance to starvation, heat stress and chemical stressors. However, flies consuming 10 mM AKG had lower activity of some antioxidant enzymes (catalase and glutathione-S-transferase) and lower levels of triacylglycerols. At the same time, AKG did not affect the activity of enzymes that reduce NADPH⁺, activity of key glycolysis enzymes, functioning of the mitochondrial electron transport chain, and level of oxidative stress markers. Thus, the consumption of exogenous AKG had virtually no effect on the main energy-supplying processes, namely glycolysis and oxidative phosphorylation, but weakened antioxidant defense and prevented the accumulation of storage lipids in long-lived *D. melanogaster* flies. To test whether exogenous AKG acts through the Nrf2 signaling pathway, the transcript levels of genes controlled by this protein were evaluated. Alpha-ketoglutarate led to an increase in the relative steady-state level of

Cyp6a2 gene mRNA, but did not affect the level of transcripts of *Ugt37A2* and *GstD2* genes. This indicates a minor effect of AKG on the Nrf2 signaling pathway.

At the next stage of our work, we evaluated the effects of AKG in adult mice consuming high-calorie diets, which are used as a factor that accelerates aging and promotes the development of metabolic disorders. For the first time, it was demonstrated that consumption of exogenous AKG with drinking water for 12 weeks can induce anxiety behavior in mice (males) on basal food and high-calorie food high in fat (lard) and fructose. In the open field test, the mice that consumed the basic food or high fat high fructose food with the addition of AKG spent less time in the inner area compared to the control group. This indicates anxious behavior and reduced exploratory activity. Similarly to fruit flies, in the cerebral cortex of mice fed AKG on basal food, markers of oxidative stress were not significantly affected, but the activities of antioxidant defense enzymes were decreased. Also, alpha-ketoglutarate did not affect glucose levels, glycolytic enzyme activity, and the functioning of mitochondrial electron transport chain complexes in the cerebral cortex of mice.

Similarly to AKG, a diet high in fat and fructose resulted in a decrease in the activity of enzymes involved in the glutathione-dependent detoxification of xenobiotics and lipid peroxidation products, namely glutathione peroxidase and glutathione S-transferase, and an increase in lipid peroxide levels and NAD(P)H:quinone oxidase 1 (NQO1) activity. The basal diet supplemented with AKG resulted in a higher ratio of reduced to oxidized glutathione, higher NQO1 activity, and higher mRNA levels of UDP-glucose-6-dehydrogenase and transcription factor EB (TFEB), which is a marker of autophagy. Both high-calorie foods high in fructose and fat and the basic food with the addition of AKG, as well as their combination, contributed to a decrease in the levels of transcripts of PDK4 (a key regulator of Krebs cycle flux), glycine-N-methyltransferase (a detoxification enzyme), PGC-1 α (a key regulator of Krebs cycle, mitochondrial biogenesis and β -oxidation of fatty acids).

In another series of experiments, the effect of AKG in combination with a cafeteria diet containing typical processed foods of the human diet was studied. In contrast to the experiment with high fat high fructose diet, in the cafeteria diet

experiment, mice (females) were first kept on a cafeteria diet for 8 weeks, and then for the next 4 weeks, a group of mice received 1% AKG with drinking water in addition to their diet. Cafeteria diet decreased antioxidant defense in the cerebral cortex of middle-aged C57BL/6J females. The addition of AKG to the basic food promoted the behavior of mice with anxiety-like symptoms. The combination of cafeteria diet and AKG enhanced behavioral changes in mice, including a decrease in exploratory activity. The strongest effect of AKG was the induction of autophagy-related genes and the target genes of FOXO protein, a transcription factor involved in the regulation of carbohydrate metabolism and antioxidant defense. We suggest that the observed effects of AKG on behavior and cellular functions may also be mediated by the activation of AKG-dependent hydroxylases and demethylases. The nutrients in the cafeteria diet may enhance this effect by preserving the AKG pool. Thus, AKG supplementation may benefit brain health by modulating oxidative stress and enhancing autophagy, although its potential to induce anxiety-like behaviors highlights the need for further research.

Thus, AKG prolongs the life of fruit flies under protein restriction, but not under normal conditions (balanced diet of proteins and carbohydrates). AKG also weakens antioxidant defense in flies and mice without affecting energy metabolism. This may indicate the absence of geroprotective properties of alpha-ketoglutarate.

Thus, AKG prolongs the lifespan of the long-lived fruit fly *Drosophila* under conditions of limited protein availability, but not under optimized conditions (balanced protein and carbohydrate nutrition). Also, AKG weakens antioxidant defense without significantly affecting energy metabolism in both flies and mice on a standard diet. At the same time, AKG can cause anxiety behavior in mice by increasing the relative steady-state level of autophagy-related genes in the cerebral cortex after consumption of chow. The addition of AKG to high-calorie food partially corrects its metabolic effects on the brain of mice, with a more pronounced protective effect of AKG on high fat high fructose diet than on the cafeteria diet. The latter fact may be related to both the composition of the food and the duration of consumption and physiological characteristics of the mice (age, sex). Taken together, the results indicate that the

geroprotective and stress-protective properties of alpha-ketoglutarate depend on the composition of the food and physiological characteristics of the model animals.

Keywords: alpha-ketoglutarate, aging, life span, high caloric food, cafeteria diet, brain, autophagy, antioxidant system, oxidative stress, reactive oxygen species, *Drosophila melanogaster*, mice, energy metabolism, mitochondria, behavior, nutrition.

Список опублікованих праць за темою дисертації

Наукові праці в яких опубліковані наукові результати дисертації:

Видання, що входять до науково-метричної бази даних Scopus:

1. Demianchuk O., Vatashchuk M., Gospodaryov D., Hurza V., Ivanochko M., Derkachov V., Berezovskyi V., Lushchak O., Storey K.B., Bayliak M., & Lushchak V.I. High-fat high-fructose diet and alpha-ketoglutarate affect mouse behavior that is accompanied by changes in oxidative stress response and energy metabolism in the cerebral cortex. *Biochimica et biophysica acta. General subjects*. 2024. № 1868(1). 130521. Q1

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2023.130521>

URL: <https://www.scopus.com/record/display.uri?eid=2-s2.0-85180010013&origin=resultlist>

2. Demianchuk O., Lylyk M., Balatskiy V., Gospodaryov D., & Bayliak M. Alpha-ketoglutarate supplementation in long-lived *Drosophila melanogaster*: Impact on lifespan and metabolic responses. *Archives of insect biochemistry and physiology*. 2024. № 116(1). e22116. Q2

DOI: <https://doi.org/10.1002/arch.22116>

URL: <https://www.scopus.com/record/display.uri?eid=2-s2.0-85192910713&origin=resultlist>

Фахові видання України (категорія Б)

3. Demianchuk O.I. & Gospodaryov D.V. Alpha-ketoglutarate induces nuclear receptors rather than nrf2 in the fruit fly *Drosophila melanogaster*. *Biotechnologia acta*. 2024. № 17(2). P. 27-28.

DOI: <https://doi.org/10.15407/biotech17.02.027>

URL: <https://biotechnology.kiev.ua/index.php/en/journal-archive-en/2024-en/2024-no2-en/alpha-ketoglutarate-induces-nuclear-receptors-rather-than-nrf2-in-the-fruit-fly-drosophila-melanogaster-demianchuk-o-i-gospodaryov-d-v>

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

1. Demianchuk O.I., Lylyk M.P., Bayliak M.M. Effect of alpha-ketoglutarate on pro-/antioxidant status in middle-aged *Drosophila melanogaster* // *The All-Ukrainian Conference on Molecular and Cell Biology with international participation*, dedicated to the heroic struggle of the Ukrainian people against the russian invaders (Kyiv, from 15 th to 17 th of June 2022). – P. 100.

URL: [https://imbg.org.ua/docs/2022/Proceedings%20of%20the%20All-Ukrainian%20Conference%20on%20Molecular%20and%20Cell%20Biology%20with%20international%20participation%20\(Apdated\).pdf](https://imbg.org.ua/docs/2022/Proceedings%20of%20the%20All-Ukrainian%20Conference%20on%20Molecular%20and%20Cell%20Biology%20with%20international%20participation%20(Apdated).pdf)

2. Дем'янчук О.І., Лилик М.П., Шмігель Г.В., Господарьов Д.В., Байляк М.М. Вплив екзогенного альфа-кетоглутарату на тривалість життя та антиоксидантний захист *Drosophila melanogaster* // *III міжнародна науково-практична Інтернет-конференція «Проблеми та досягнення сучасної біотехнології»* (м. Харків, 24 березня 2023 р.). – С. 161-162.

URL: https://biotech.nuph.edu.ua/wp-content/uploads/2024/02/tezy_iii_konferentsii_kafedry_biotekhnolohii_nfau_.pdf

3. Дем'янчук О., Лилик М., Господарьов Д. Вплив екзогенного альфа-кетоглутарату на метаболічні показники у тілі *Drosophila melanogaster* // *VIII Міжнародної конференції «Дрозофіла в експериментальній генетиці та біології»* (м. Івано-Франківськ, 27–29 червня 2023 р.). – С. 27.

URL: <https://kbb.pnu.edu.ua/wp-content/uploads/sites/28/2023/06/0032-abstract-book-degb-2023.pdf>

4. Дем'янчук О., Ватащук М., Гурза В., Шмігель Г., Байляк М. Вплив дієти з високим вмістом жирів і фруктози та екзогенного альфа-кетоглутарату на про-/антиоксидантний статус в корі головного мозку мишей // *XXI Всеукраїнська науково-практична конференція молодих вчених*, присвячена 100-річчю від дня

народження доктора біологічних наук, професора Василя Юхимовича Шавкуна (м. Львів, 18–19 травня 2023 р.) – С. 56.

URL: https://aminbiol.com.ua/images/Journal/2023/2/AB_2023_25_2.pdf

5. Demianchuk O., Dodon D., Gospodaryov D., Bayliak M. Effect of alpha-ketoglutarate and cafeteria diet on antioxidant enzymes and markers of autophagy in the cerebral cortex of mice // *XX Міжнародна наукова конференція студентів і аспірантів «Молодь і поступ біології»* (м. Львів, 18-20 квітня 2024 р.) – С. 75-76.

URL: <https://bioweb.lnu.edu.ua/wp-content/uploads/2024/04/Zbirnyk-Molod-i-postup-biologhii-2024-2.pdf>

6. Дем'янчук О., Ватащук М., Господарьов Д., Луцак В., Байляк М. Вплив альфа-кетоглютарату на поведінку мишей, окисно-відновний баланс та автофагію в корі головного мозку на тлі кафетерійної дієти // *XXII Всеукраїнська науково-практична конференція молодих вчених*, присвячена 75-річчю від дня народження доктора ветеринарних наук, професора, члена-кореспондента НААН Ростислава ФЕДОРУКА (м. Львів, 19–20 вересня 2024 р.) – С. 139

URL: https://aminbiol.com.ua/images/Journal/2024/3/AB_2024_26_3.pdf