

ТОКСИКОЛОГІЧНА ОЦІНКА КОРМІВ ІЗ РІЗНИМИ РІВНЯМИ МІКРОЕЛЕМЕНТІВ З ВИКОРИСТАННЯМ ЛЮМІНЕСЦЕНТНИХ МІКРООРГАНІЗМІВ *PHOTOBACTERIUM PHOSPHOREUM*

Курбацька Олена Володимирівна

аспірант

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», м. Харків, Україна

ORCID: 0000-0003-1348-2638

olimp988429@ukr.net

Оробченко Олександр Леонідович

доктор ветеринарних наук, старший науковий співробітник

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», м. Харків, Україна

ORCID: 0000-0002-0885-7776

toxi-lab@ukr.net

Надання токсико-гігієнічної оцінки токсичним контамінантам різного походження (в тому числі й мікроелементам) широко проводиться у країнах Європи, Азії та Америки. Нині для цих цілей важливу роль відіграє біотестування з використанням про- та еукаріотичних організмів у якості тест-моделей, при чому на перший план висувуються біотести з використанням живих біолюмінесцентних бактерій, які вирізняються з поміж інших тим, що як параметр життєдіяльності вимірюється інтенсивність їх світіння. Метою даної роботи було провести токсикологічну оцінку кормів із різними рівнями мікроелементів з використанням люмінесцентних мікроорганізмів *Photobacterium phosphoreum*. За умов дослідження мікроелементів у якості «матриці» було використано кукурудзяну крупу, що не володіла токсичними властивостями. Мікроелементи використовували у формі Державних стандартних зразків, а саме: Ферум, Кобальт, Манган, Селен, Нікель, Хром і Бром. У якості тест-культури використовували ліофілізовану культуру *Photobacterium phosphoreum* (штам ІМВ В-7071; Sq3), отриману із Депозитарію мікроорганізмів Інституту мікробіології і вірусології імені Д.К. Заболотного Національної академії наук України (м. Київ). Перед внесенням мікроелементів у корм попередньо досліджували «матрицю» на їх вміст (фон). Токсиканти вносили в «матрицю» у різних концентраціях з урахуванням «фонових» показників (по 5 серій), що готували шляхом розведення в дистильованій воді, залежно від максимально допустимого рівня. В результаті виконання роботи встановлено можливість використання люмінесцентних мікроорганізмів *Photobacterium phosphoreum* (штам ІМВ В-7071; Sq3) для експресної токсикологічної оцінки кормів з різними рівнями мікроелементів, що базується на зниженні інтенсивності світіння. Проте, якщо для Co, Mn, Ni, Se, Cr і Br за умов дослідження корму з вмістом мікроелементів на максимально допустимих рівнях (МДР) (2,0; 120,0; 3,0; 0,5; 1,0 і 10,0 мг/кг відповідно) корм характеризувався як нетоксичний, то для Fe за МДР (750,0 мг/кг) корм характеризувався як сильно токсичний, що свідчить про необхідність подальших досліджень з вивчення токсикологічної характеристики мікроелементу в організмі лабораторних і продуктивних тварин, можливо з подальшим переглядом (у бік зниження) МДР відповідного забруднювача у кормах в Україні. Перспективою подальших досліджень у цьому напрямку є токсикологічна оцінка кормів із різними рівнями пестицидів з використанням люмінесцентних мікроорганізмів *Photobacterium phosphoreum*.

Ключові слова: біолюмінесценція; комбікорми; мікроелементи; токсичність; *Photobacterium phosphoreum*

DOI <https://doi.org/10.32845/bsnau.vet.2022.2.4>

Вступ. Мікроелементи (МЕ) – це група хімічних елементів, які містяться в організмі людини й тварин у дуже малих кількостях, у межах 10^{-3} – 10^{-12} % від загальної маси тіла. Єдиною характерною рисою МЕ є їхня низька концентрація в живих тканинах. МЕ це не випадкові інгредієнти тканин і рідин живих організмів, а компоненти закономірної існуючої складної фізіологічної системи, що беруть участь у регулюванні життєвих функцій організмів на всіх стадіях розвитку (Pohorielov, 2010). Відповідно до класифікації МЕ за біологічною роллю для ссавців виділяють: життєво необхідні елементи (Цинк, Манган, Молібден, Йод, Селен, Ферум, Купрум, Кобальт), імовірно необхідні елементи (Титан, Ванадій, Хром, Нікель, Арсен, Бром, Стронцій, Кадмій) та елементи з маловивченою роллю (Цирконій, Бісмут, Рубідій та інші) (Prashanth et al., 2015).

Мікроелементи, що надходять до організму із кормом та водою в оптимальних кількостях, завдяки включенню

у біологічно активні сполуки (ензими, гормони, вітаміни) забезпечують нормальне функціонування організму (ріст, розвиток, здоров'я, розмноження) та беруть участь у багатьох фізіологічних, біохімічних і метаболічних процесах (Dias et al., 2016; Calderón Guzmán et al., 2019; Vincent, 2019; Younus et al., 2020; Gać et al., 2021; Vogt et al., 2021). Проте МЕ за певних умов можуть викликати і токсичні реакції, зокрема, за безконтрольного застосування мінеральних добавок та преміксів чи знаходження тварин на території біогеохімічних провінцій з підвищеним вмістом МЕ в компонентах раціону і воді (Balachandran et al., 2020; Magrone, 2020; Raisbeck, 2020; Wu et al., 2020; Zafalon et al., 2021; Orobchenko et al., 2022).

Саме тому надання токсико-гігієнічної оцінки токсичним контамінантам різного походження (в т. ч. й МЕ) широко проводиться у країнах Європи, Азії та Америки

(Chowdhury et al., 2018; Koch et al., 2021; Kozhanova et al., 2021). Слід зазначити, що для цих цілей нині важливу роль відіграє біотестування з використанням прота еукаріотичних організмів у якості тест-моделей, причому на перший план висуваються біотести з використанням живих біоломінесцентних бактерій, які вирізняються з поміж інших тим, що як параметр життєдіяльності вимірюється інтенсивність їх світіння (Menz et al., 2013; Fernández-Piñas et al., 2014; Ma et al., 2014; Kurbatska & Orobchenko, 2021a).

Нашими попередніми дослідженнями була розроблена методика визначення токсичності кормів з використанням бактерій *Photobacterium phosphoreum*, проте, перед впровадженням у практику ветеринарної медицини необхідно було переконатися в можливості її застосування відносно кормів з різними рівнями токсикантів (в тому числі і мікроелементів), тому метою даної роботи стало провести токсикологічну оцінку кормів із різними рівнями мікроелементів з використанням люмінесцентних мікроорганізмів *Photobacterium phosphoreum*.

Матеріал і методи досліджень.

Дослідження проводили у лабораторії токсикологічного моніторингу Національного наукового центру «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини» (м. Харків).

Для виконання даної задачі у якості забруднювачів кормів були використані мікроелементи, більша частина яких регламентована Переліком максимально допустимих рівнів небажаних речовин у кормах та кормовій сировині для тварин (Ферум, Кобальт, Манган і Селен) (On approval of the List of maximum permissible levels..., 2017), а також максимально допустимих рівнях, наведених в літературі (Kutsan, Orobchenko & Kochergin, 2014; Stehni, Orobchenko & Koreneva, 2021).

За умов дослідження мікроелементів у якості «матриці» було використано кукурудзяну крупу, що не володіла токсичними властивостями. Мікроелементи використовували у формі Державних стандартних зразків (ДСЗ), а саме: Ферум, Кобальт, Манган, Селен, Нікель, Хром і Бром. Перед внесенням неорганічних елементів у корм попередньо досліджували «матрицю» на їх вміст. Токсиканти вносили в «матрицю» у різних концентраціях (по 5 серій), що готували шляхом розведення в дистильованій воді, залежно від максимально допустимого рівня (таблиця 1).

Наважку контрольної і дослідних «матриць» масою 10,0 г вносили до скляних флаконів, у дослідні проби вносили відповідну кількість ДСЗ мікроелементів і додавали 96° етанол об'ємом 20,0 см³ та екстрагували, залишаючи на 24 години, потім центрифугували при (1,5-2,0) тис. об./хв 10 хв, після чого відбирали надосадову рідину, яку в об'ємі 0,02 см³ додавали до (попередньо підготовленої і внесеної у кювету люмінометра) культуральної рідини в об'ємі 1,0 см³.

У якості тест-культури використовували ліофілізовану культуру *Photobacterium phosphoreum* (штам ІМВ В-7071; Sq3) (*Ph. phosphoreum*), отриману із Депозитарію мікроорганізмів Інституту мікробіології і вірусології імені Д.К. Заболотного Національної академії наук України (м. Київ). Культивування фотобактерій під час досліду здійснювали у термостаті за температури (27±1) °С у пробірках на рідкому та щільному поживному середовищі, розробленому на основі наших попередніх досліджень (Orobchenko et al., 2020), протягом (22±2) год.

Інтенсивність світіння *Ph. phosphoreum* досліджували на люмінометрі EMILITE – 1003 А (БиоХимМак, російська федерація), спектральний діапазон люмінометра становив 350-950 нм. Під час тестування відмічали час експозиції та реєстрували зміни інтенсивності люмінесценції на приладі через (20-25) хв. Вимірювання проводили парами контроль-дослід. Для отримання вірогідних значень досліджувати по 6 повторностей контрольних і дослідних проб.

Для кількісної оцінки ступеня токсичності зразка відносно впливу різних рівнів мікроелементів на люмінесценцію бактерій *Ph. phosphoreum* використовували індекс токсичності (Т) – безрозмірну величину, що дорівнює співвідношенню (формула 1):

$$T = \frac{I_0 - I}{I_0} \times 100, \quad (1)$$

де I_0 та I – відповідно інтенсивність світіння контролю й досліду,

100 – коефіцієнт перерахунку.

Інтерпретували дані за трьома граничними рівнями індексу токсичності (таблиця 2).

Індекс токсичності «Т» відображає концентрацію важкого металу, яка викликає пригнічення світіння біосенсора (бактерії *Ph. phosphoreum*) за фіксованого часу експозиції досліджуваного зразка. В якості верхнього

Таблиця 1

Мікроелементи, які підлягали дослідженню відносно інтенсивності світіння люмінесцентних бактерій

Назва забруднювача	Досліджувані рівні (доза), мг/кг корму	МДР, мг/кг корму
Ферум	75,0; 150,0; 750,0; 3750,0; 7500,0	750,0*
Кобальт	0,2; 0,4; 2,0; 10,0; 20,0	2,0*
Манган	12,0; 24,0; 120,0; 600,0; 1200,0	120,0*
Селен	0,05; 0,1; 0,5; 2,5; 5,0	0,50*
Нікель	0,3; 0,6; 3,0; 15,0; 30,0	3,0**
Хром	0,1; 0,5; 1,0; 5,0; 10,0	1,0**
Бром	1,0; 5,0; 10,0; 50,0; 100,0	10,0***

* – відповідно до On approval of the List of maximum permissible levels..., 2017;

** – відповідно до Kutsan, Orobchenko & Kochergin, 2014;

*** – відповідно до Stehni, Orobchenko & Koreneva, 2021.

граничного показника визначено зниження інтенсивності світіння бактерій на 50 % порівняно з контролем, що відображається індексом токсичності 50 і дозволяє віднести зразки з індексом токсичності 50 і вище до категорії «високотоксичні». Нижня межа індексу токсичності становить 20, що означає зниження світіння бактерій на 20 % порівняно з контролем і дозволяє віднести зразки з індексом токсичності 20 і нижче до «нетоксичних». Усі значення «Т» від 20 до 50 дозволяють класифікувати зразки як «токсичні», у яких, якщо правильно виконати розбавлення з нетоксичним аналогом, токсичність може бути зменшена.

Для отримання більш вірогідних даних дослідження були проведені у 6-ти повторностях. Результати даних досліджень дозволили розробити науково-методичні рекомендації (Kurbatska & Orobchenko, 2021b).

Отримані результати обробляли методами варіаційної статистики з використанням пакета програм дисперсійного аналізу (ANOVA) StatPlus 5(6.7.0.3) (AnalystSoft Inc., США). Вірогідність отриманих результатів оцінювали за критерієм Фішера за рівня вірогідності 95,0 % ($p < 0,05$).

Результати досліджень.

Вплив Феруму на люмінесценцію *Ph.phosphoreum* в залежності від концентрації, відображено у рисунку 1. За умов внесення екстрактів кормів з різними рівнями Феруму до тест-культури *Ph.phosphoreum* на 5 хв після внесення за 75,0 мг/кг корму спостерігали посилення інтенсивності світіння *Ph.phosphoreum* ($p < 0,05$) на

10,4 %, а за рівня 150,0 мг/кг інтенсивність світіння була нижчою за контроль на 38,3 % ($p < 0,05$), тоді як на рівнях 750,0-7500,0 мг/кг корму світіння *Ph.phosphoreum* не виявляли взагалі.

На 10 хв експерименту за рівня мікроелементу 75,0 мг/кг корму не спостерігали вірогідних відхилень інтенсивності світіння *Ph.phosphoreum* від контролю, за рівня 150,0 мг/кг інтенсивність світіння була нижчою за контроль на 41,4 % ($p < 0,05$), тоді як на рівнях 750,0-7500,0 мг/кг корму світіння *Ph.phosphoreum* не виявляли взагалі. На 15, 20, 25 і 30 хв досліді за рівня мікроелементу 75,0 мг/кг корму не спостерігали вірогідних відхилень інтенсивності світіння *Ph.phosphoreum* від контролю. За рівня Феруму 150,0 мг/кг корму інтенсивність світіння була нижчою за контроль на 15, 20, 25 і 30 хв досліді на 44,2; 42,3; 43,4 і 47,0 % ($p < 0,05$). На рівнях Феруму 750,0-7500,0 мг/кг корму світіння *Ph.phosphoreum* не виявляли взагалі, починаючи з 5 хв експерименту (рис. 1).

Відсоток зниження інтенсивності світіння *Ph.phosphoreum* відповідав індексу токсичності (Т), що дозволило провести токсикологічну оцінку корму з різними рівнями Феруму. Так, за вмісту мікроелементу 75,0 і 150,0 мг/кг корму індекс токсичності на (20-25) хв (рекомендований термін реєстрації показників флуоресценції) у середньому становив 0,84 і 42,9; а за вмісту 750,0 (показник МДР), 3750,0 і 7500,0 мг/кг корму індекс токсичності складав 100,0 %. Отримані дані дозволяють стверджувати, що корми з вмістом Феруму менше

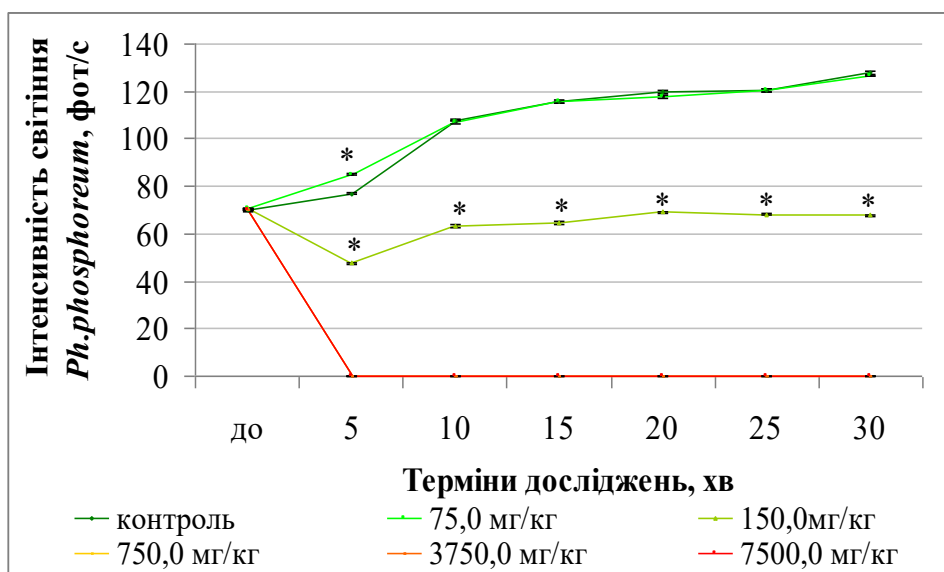


Рис. 1. Динаміка інтенсивності світіння *Ph.phosphoreum* за умов унесення в корм різних доз Феруму ($M \pm m$, $n=6$, * – $p < 0,05$ – відносно контролю)

Таблиця 2

Класифікація токсичності речовини за величиною Т

Рівень індексу токсичності	Значення Т	Висновок про ступінь токсичності
1	менше 20	зразок нетоксичний
2	від 20 до 50	зразок токсичний
3	більше 50	зразок сильно токсичний

75,0 мг/кг включно є не токсичними (індекс токсичності менше 20), за вмісту 150,0 мг/кг – токсичними (індекс токсичності від 20 до 50) і за 750,0 і вище – корми сильно токсичні (індекс токсичності більше 50).

Вплив Кобальту на люмінесценцію *Ph.phosphoreum* в залежності від концентрації, відображено у рисунку 2. За умов внесення екстрактів кормів з різними рівнями Кобальту до тест-культури *Ph.phosphoreum* на 5 хв після внесення за 0,2; 0,4 і 2,0 мг/кг корму спостерігали посилення інтенсивності світіння *Ph.phosphoreum* ($p < 0,05$) на 16,9; 11,9 і 9,7 %, а за рівнів 10,0 і 20,0 мг/кг інтенсивність світіння була нижчою за контроль на 11,0 і 18,0 % ($p < 0,05$) (рис. 2).

На 10 хв експерименту за вмісту Кобальту 0,2; 0,4 і 2,0 мг/кг корму спостерігали посилення інтенсивності світіння *Ph.phosphoreum* ($p < 0,05$) на 29,7; 21,2 і 19,6 %, а за рівнів 10,0 і 20,0 мг/кг інтенсивність світіння була нижчою за контроль на 4,7 і 7,7 % ($p < 0,05$) (рис. 2).

На 15 хв досліді за вмісту Кобальту 0,2; 0,4 і 2,0 мг/кг корму спостерігали посилення інтенсивності світіння *Ph.phosphoreum* ($p < 0,05$) на 15,7; 13,1 і 7,2 %, а за рівнів 10,0 і 20,0 мг/кг інтенсивність світіння була нижчою за контроль на 19,3 і 23,3 % ($p < 0,05$) (рис. 2).

На 20 хв досліді за вмісту Кобальту 0,2 і 0,4 мг/кг корму спостерігали посилення інтенсивності світіння *Ph.phosphoreum* ($p < 0,05$) на 18,2 і 12,6 %, а за рівня 2,0 мг/кг корму посилення інтенсивності світіння було не вірогідним (2,8 %), тоді як за рівнів 10,0 і 20,0 мг/кг інтенсивність світіння *Ph.phosphoreum* була нижчою за контроль на 20,8 і 28,3 % ($p < 0,05$) (рис. 2).

На 25 хв досліді за вмісту Кобальту 0,2 і 0,4 мг/кг корму спостерігали посилення інтенсивності світіння *Ph.phosphoreum* ($p < 0,05$) на 17,9 і 12,1 %, а за рівня 2,0 мг/кг корму посилення інтенсивності світіння було не вірогідним (1,4 %), тоді як за рівнів 10,0 і 20,0 мг/кг інтенсивність світіння *Ph.phosphoreum* була нижчою за контроль на 21,8 і 29,4 % ($p < 0,05$) (рис. 2).

І на останньому терміні досліджень за вмісту Кобальту 0,2 і 0,4 мг/кг корму реєстрували посилення інтенсивності світіння *Ph.phosphoreum* ($p < 0,05$) на 14,5 і 7,3 %, а за рівнів 2,0; 10,0 і 20,0 мг/кг корму інтенсивність світіння *Ph.phosphoreum* була нижчою за контроль на 2,0 % (не вірогідно); 27,9 і 35,2 % ($p < 0,05$) відповідно (рис. 2).

Відсоток зниження інтенсивності світіння *Ph.phosphoreum* відповідав індексу токсичності (Т), що дозволило провести токсикологічну оцінку корму з різними рівнями Кобальту. Так, за вмісту мікроелементу 0,2; 0,4 і 2,0 (показник МДР) мг/кг корму індекс токсичності на (20-25) хв (рекомендований термін реєстрації показників флуоресценції) був від'ємний і у середньому становив мінус 18,0; 12,4 і 2,1; а за вмісту 10,0 і 20,0 мг/кг корму середній індекс токсичності складав 21,3 і 28,9. Отримані дані дозволяють стверджувати, що корми з вмістом Кобальту менше 0,2 до 2,0 мг/кг включно є не токсичними (індекс токсичності менше 20), за вмісту від 10,0 до 20,0 мг/кг – токсичними (індекс токсичності від 20 до 50).

Вплив Мангану на люмінесценцію *Ph.phosphoreum* в залежності від концентрації, відображено у рисунку 3.

За умов внесення екстрактів кормів з різними рівнями Мангану до тест-культури *Ph.phosphoreum* на 5 хв після внесення за 12,0 і 24,0 мг/кг корму не спостерігали вірогідних відхилень інтенсивності світіння *Ph.phosphoreum*, а за рівнів 120,0 і 600,0 мг/кг інтенсивність світіння була нижчою за контроль на 24,9 і 61,3 % ($p < 0,05$), тоді як за рівня Мангану в кормі 1200,0 мг/кг світіння *Ph.phosphoreum* не виявляли взагалі. Слід зазначити, що світіння *Ph.phosphoreum* за рівня Мангану в кормі 1200,0 мг/кг не спостерігали до кінця досліді (рис. 3).

На 10 хв експерименту за рівня Мангану 12,0 мг/кг корму спостерігали вірогідне підвищення інтенсивності світіння *Ph.phosphoreum* (на 7,6 %) відносно контролю, за рівня 24,0 мг/кг не спостерігали вірогідних відхилень інтенсивності світіння, а за рівнів 120,0 і 600,0 мг/кг

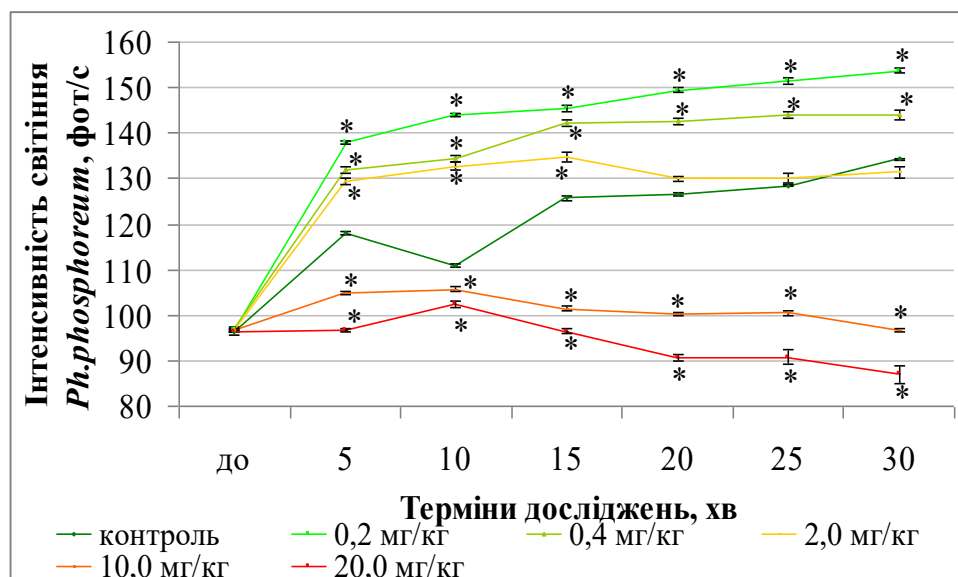


Рис. 2. Динаміка інтенсивності світіння *Ph.phosphoreum* за умов унесення в корм різних доз Кобальту ($M \pm m$, $n=6$, * – $p < 0,05$ – відносно контролю)

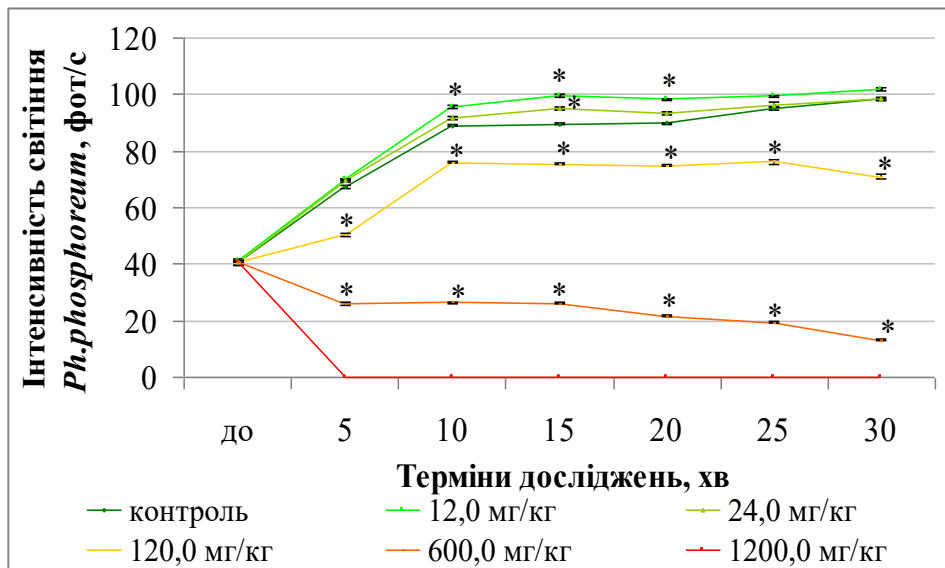


Рис. 3. Динаміка інтенсивності світіння *Ph.phosphoreum* за умов унесення в корм різних доз Мангану ($M \pm m$, $n=6$, * – $p < 0,05$ – відносно контролю)

інтенсивність світіння була нижчою за контроль на 14,6 і 70,2 % ($p < 0,05$) (рис. 3).

На 15 хв експерименту за рівнів Мангану 12,0 і 24,0 мг/кг корму спостерігали підвищення інтенсивності світіння *Ph.phosphoreum* (на 11,2 і 6,4 %) відносно контролю ($p < 0,05$), а за рівнів 120,0 і 600,0 мг/кг інтенсивність світіння була нижчою за контроль на 15,6 і 70,7 % ($p < 0,05$) (рис. 3).

На 20 хв експерименту за рівня Мангану 12,0 мг/кг корму спостерігали вірогідне підвищення інтенсивності світіння *Ph.phosphoreum* (на 9,4 %) відносно контролю, за рівня 24,0 мг/кг не спостерігали вірогідних відхилень інтенсивності світіння, а за рівнів 120,0 і 600,0 мг/кг інтенсивність світіння була нижчою за контроль на 16,4 і 75,8 % ($p < 0,05$) (рис. 3).

На 25 хв досліджу за рівнів Мангану 12,0 і 24,0 мг/кг корму не спостерігали вірогідних відхилень інтенсивності світіння *Ph.phosphoreum*, а за рівнів 120,0 і 600,0 мг/кг інтенсивність світіння була нижчою за контроль на 19,9 і 79,5 % ($p < 0,05$). Аналогічну картину спостерігали і на останньому терміні досліджень: за рівнів Мангану 12,0 і 24,0 мг/кг корму не спостерігали вірогідних відхилень інтенсивності світіння *Ph.phosphoreum*, а за рівнів 120,0 і 600,0 мг/кг інтенсивність світіння була нижчою за контроль на 27,7 і 86,5 % ($p < 0,05$) (рис. 3).

Відсоток зниження інтенсивності світіння *Ph.phosphoreum* відповідав індексу токсичності (Т), що дозволило провести токсикологічну оцінку корму з різними рівнями Мангану. Так, за вмісту мікроелементу 12,0 і 24,0 мг/кг корму індекс токсичності на (20-25) хв (рекомендований термін реєстрації показників флуоресценції) був від'ємний і у середньому становив мінус 7,0; і 2,6 відповідно; а за вмісту 120,0 мг/кг (показник МДР), 600,0 і 1200,0 мг/кг корму середній індекс токсичності складав 18,2; 77,6 і 100,0. Отримані дані дозволяють стверджувати, що корми з вмістом Мангану менше 12,0

до 120,0 мг/кг включно є не токсичними (індекс токсичності менше 20), а за вмісту від 600,0 до 1200,0 мг/кг – сильно токсичними (індекс токсичності більше 50).

Вплив Селену на люмінесценцію *Ph.phosphoreum* в залежності від концентрації, відображено у рисунку 4.

За умов внесення екстрактів кормів з різними рівнями Селену до тест-культури *Ph.phosphoreum* на 5 хв після внесення за 0,05 мг/кг корму не спостерігали вірогідних відхилень інтенсивності світіння *Ph.phosphoreum*, а за рівнів 0,1; 0,5; 2,5 і 5,0 мг/кг інтенсивність світіння була нижчою за контроль на 12,6; 9,7; 25,6 і 36,7 % ($p < 0,05$) (рис. 4).

На 10 хв експерименту за 0,05 мг/кг корму не спостерігали вірогідних відхилень інтенсивності світіння *Ph.phosphoreum*, а за рівнів 0,1; 0,5; 2,5 і 5,0 мг/кг інтенсивність світіння була нижчою за контроль на 6,2; 15,7; 24,3 і 41,9 % ($p < 0,05$) (рис. 4).

На 15 хв експерименту за рівнів Селену 0,05; 0,1; 0,5; 2,5 і 5,0 мг/кг інтенсивність світіння *Ph.phosphoreum* була нижчою за контроль на 5,5; 10,0; 20,0; 26,8 і 45,9 % ($p < 0,05$) (рис. 4).

На 20 хв експерименту за 0,05 мг/кг корму не спостерігали вірогідних відхилень інтенсивності світіння *Ph.phosphoreum*, а за рівнів 0,1; 0,5; 2,5 і 5,0 мг/кг інтенсивність світіння була нижчою за контроль на 15,3; 16,3; 27,9 і 49,8 % ($p < 0,05$) (рис. 4).

На 25 хв досліджу за 0,05 мг/кг корму не спостерігали вірогідних відхилень інтенсивності світіння *Ph.phosphoreum*, а за рівнів 0,1; 0,5; 2,5 і 5,0 мг/кг інтенсивність світіння була нижчою за контроль на 9,6; 20,2; 27,4 і 50,5 % ($p < 0,05$). І на останньому терміні досліджень за рівня Селену 0,05 мг/кг корму не спостерігали вірогідних відхилень інтенсивності світіння *Ph.phosphoreum*, а за рівнів 0,1; 0,5; 2,5 і 5,0 мг/кг інтенсивність світіння була нижчою за контроль на 10,6; 20,6; 29,6 і 51,8 % ($p < 0,05$) (рис. 4).

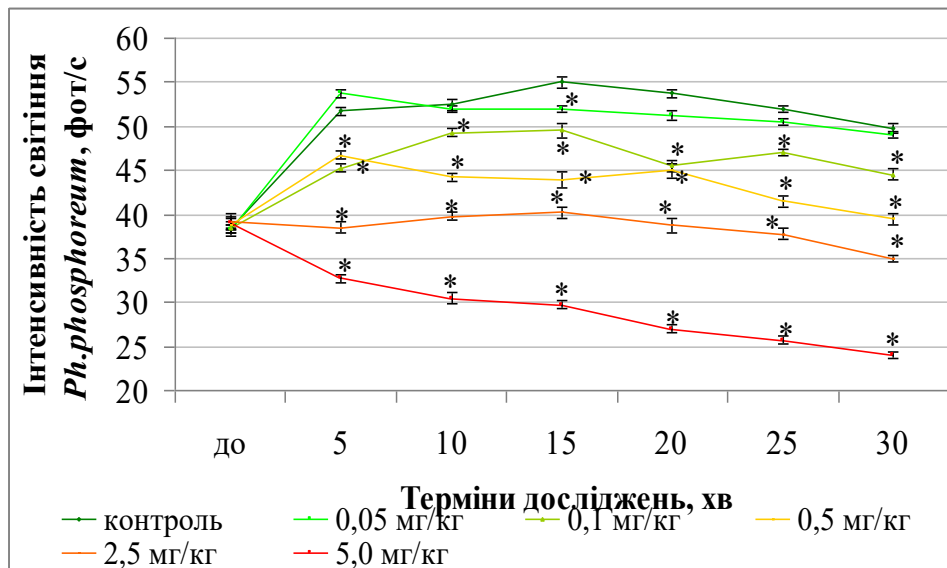


Рис. 4. Динаміка інтенсивності світіння *Ph.phosphoreum* за умов унесення в корм різних доз Селену ($M \pm m$, $n=4$, * – $p < 0,05$ – відносно контролю)

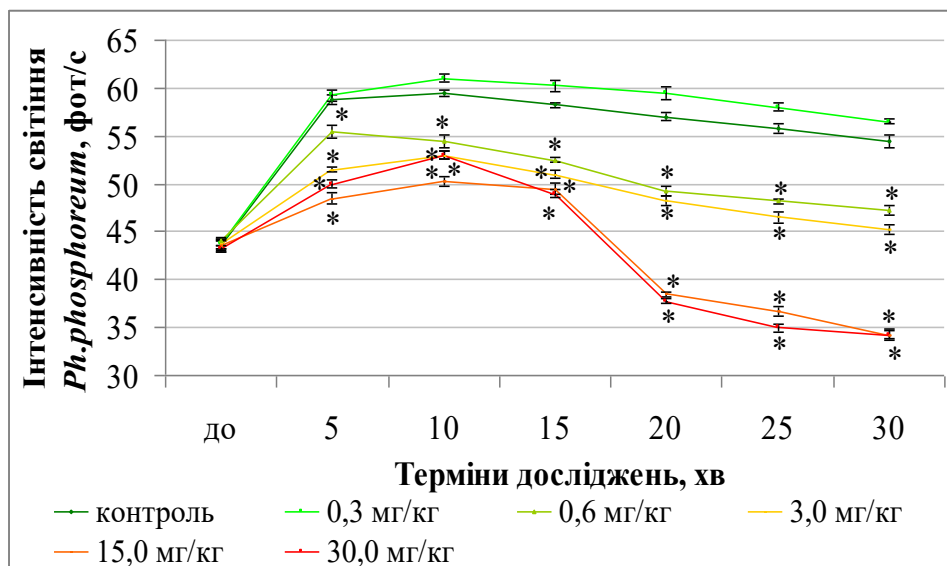


Рис. 5. Динаміка інтенсивності світіння *Ph.phosphoreum* за умов унесення в корм різних доз Нікелю ($M \pm m$, $n=6$, * – $p < 0,05$ – відносно контролю)

Відсоток зниження інтенсивності світіння *Ph.phosphoreum* відповідав індексу токсичності (Т), що дозволило провести токсикологічну оцінку корму з різними рівнями Селену. Так, за вмісту мікроелементу 0,05; 0,1; 0,5 (показник МДР); 2,5 і 5,0 мг/кг корму індекс токсичності на (20-25) хв (рекомендований термін реєстрації показників флуоресценції) у середньому становив 3,8; 12,5; 18,2 (показник МДР); 27,7 і 50,1 відповідно. Отримані дані дозволяють стверджувати, що корми з вмістом Селену менше 0,05 до 0,5 мг/кг включно є не токсичними (індекс токсичності менше 20), за вмісту Селену 2,5 мг/кг – токсичні (індекс токсичності від 20 до 50) і за 5,0 мг/кг сильно токсичні (індекс токсичності більше 50).

Вплив Нікелю на люмінесценцію *Ph.phosphoreum* в залежності від концентрації, відображено у рисунку 5. За умов внесення екстрактів кормів з різними рівнями Нікелю до тест-культури *Ph.phosphoreum* на 5 хв після внесення за 0,3 мг/кг корму не спостерігали вірогідних відхилень інтенсивності світіння *Ph.phosphoreum*, а за рівнів 0,6; 3,0; 15,0 і 30,0 мг/кг інтенсивність світіння була нижчою за контроль на 5,5; 12,3; 17,4 і 14,9 % ($p < 0,05$). На 10 хв експерименту за рівня Нікелю 0,3 мг/кг корму не спостерігали вірогідних відхилень інтенсивності світіння *Ph.phosphoreum*, а за рівнів 0,6; 3,0; 15,0 і 30,0 мг/кг інтенсивність світіння була нижчою за контроль на 8,4; 10,9; 15,5 і 10,9 % ($p < 0,05$).

На 15 хв експерименту за рівня Нікелю 0,3 мг/кг корму не спостерігали вірогідних відхилень інтенсивності світіння *Ph.phosphoreum*, а за рівнів 0,6; 3,0; 15,0 і 30,0 мг/кг інтенсивність світіння була нижчою за контроль на 9,9; 12,4; 15,0 і 15,9 % ($p<0,05$) (рис. 5).

На 20 хв експерименту за рівня Нікелю 0,3 мг/кг корму не спостерігали вірогідних відхилень інтенсивності світіння *Ph.phosphoreum*, а за рівнів 0,6; 3,0; 15,0 і 30,0 мг/кг інтенсивність світіння була нижчою за контроль на 13,6; 15,4; 32,4 і 33,8 % ($p<0,05$) (рис. 5).

На 25 хв експерименту за рівня Нікелю 0,3 мг/кг корму не спостерігали вірогідних відхилень інтенсивності світіння *Ph.phosphoreum*, а за рівнів 0,6; 3,0; 15,0 і 30,0 мг/кг інтенсивність світіння була нижчою за контроль на 13,5; 16,6; 34,1 і 37,2 % ($p<0,05$) (рис. 5).

На 30 хв експерименту за рівня Нікелю 0,3 мг/кг корму не спостерігали вірогідних відхилень інтенсивності світіння *Ph.phosphoreum*, а за рівнів 0,6; 3,0; 15,0 і 30,0 мг/кг інтенсивність світіння була нижчою за контроль на 13,3; 17,0; 37,2 і 37,2 % ($p<0,05$) (рис. 5).

Відсоток зниження інтенсивності світіння *Ph.phosphoreum* відповідав індексу токсичності (Т), що дозволило провести токсикологічну оцінку корму з різними рівнями Нікелю. Так, за вмісту мікроелементу 0,3 мг/кг корму індекс токсичності на (20-25) хв (рекомендований термін реєстрації показників флуоресценції) був від'ємний і у середньому становив мінус 4,2; а за вмісту мікроелементу 0,6; 3,0 (показник МДР); 15,0 і 30,0 мг/кг корму індекс токсичності у середньому становив 13,5; 16,0 (показник МДР); 33,3 і 35,5 відповідно. Отримані дані дозволяють стверджувати, що корми з вмістом Нікелю менше 0,3 до 3,0 мг/кг включно є не токсичними (індекс токсичності менше 20), а за вмісту від 15,0 до 30,0 мг/кг – токсичними (індекс токсичності від 20 до 50).

Вплив Хрому на люмінесценцію *Ph.phosphoreum* в залежності від концентрації, відображено у рисунку 6.

За умов внесення екстрактів кормів з різними рівнями Хрому до тест-культури *Ph.phosphoreum* на 5 хв після внесення спостерігали зниження інтенсивності світіння відносно контролю ($p<0,05$) за рівнів мікроелементу 0,1; 0,5; 1,0; 5,0 і 10,0 мг/кг на 11,1; 14,5; 15,5; 16,9 і 19,87 %.

На 10 хв експерименту інтенсивність світіння *Ph.phosphoreum* була також нижчою за контроль ($p<0,05$) на всіх рівнях мікроелементу: за 0,1 мг/кг корму – на 11,0 %, за 0,5 мг/кг корму – на 15,2 %, за 1,0 мг/кг корму – на 17,1 %, за 5,0 мг/кг корму – на 17,6 % і за 10,0 мг/кг корму – на 21,4 %. Аналогічну картину спостерігали до кінця дослідження. Так, на 15 хв експерименту інтенсивність світіння *Ph.phosphoreum* була також нижчою за контроль ($p<0,05$) на всіх рівнях Хрому: за 0,1 мг/кг корму – на 13,2 %, за 0,5 мг/кг корму – на 19,1 %, за 1,0 мг/кг корму – на 19,5 %, за 5,0 мг/кг корму – на 21,8 % і за 10,0 мг/кг корму – на 23,6 % (рис. 6).

На 20 хв після внесення спостерігали зниження інтенсивності світіння відносно контролю ($p<0,05$) за рівнів мікроелементу 0,1; 0,5; 1,0; 5,0 і 10,0 мг/кг на 13,5; 18,1; 19,1; 23,3 і 24,7 % (рис. 6).

На 25 хв після внесення екстрактів кормів спостерігали зниження інтенсивності світіння *Ph.phosphoreum* відносно контролю ($p<0,05$) за рівнів мікроелементу 0,1; 0,5; 1,0; 5,0 і 10,0 мг/кг на 12,0; 16,3; 17,8; 21,2 і 23,1 % (рис. 6).

І на останньому терміні досліджень спостерігали зниження інтенсивності світіння *Ph.phosphoreum* відносно контролю ($p<0,05$) за рівнів Хрому 0,1; 0,5; 1,0; 5,0 і 10,0 мг/кг на 8,5; 15,6; 17,1; 18,1 і 23,1 % (рис. 6).

Відсоток зниження інтенсивності світіння *Ph.phosphoreum* відповідав індексу токсичності (Т), що дозволило провести токсикологічну оцінку корму з різними рівнями Хрому. Так, за вмісту мікроелементу 0,1; 0,5; 1,0 (показник МДР) мг/кг корму індекс токсичності на (20-25) хв (рекомендований термін реєстрації показників флуоресценції) у середньому становив 12,8; 17,2

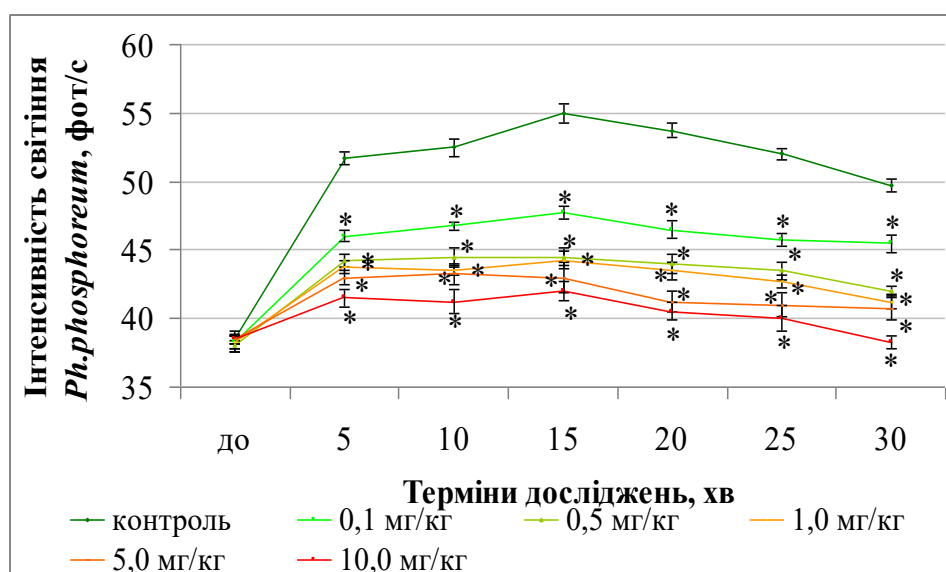


Рис. 6. Динаміка інтенсивності світіння *Ph.phosphoreum* за умов унесення в корм різних доз Хрому ($M \pm m$, $n=6$, * – $p<0,05$ – відносно контролю)

і 18,4; а за вмісту 5,0 і 10,0 мг/кг корму середній індекс токсичності складав 22,2 і 23,9. Отримані дані дозволяють стверджувати, що корми з вмістом Хрому менше 0,1 до 1,0 мг/кг включно є не токсичними (індекс токсичності менше 20), за вмісту від 5,0 до 10,0 мг/кг – токсичними (індекс токсичності від 20 до 50).

Вплив Броду на люмінесценцію *Ph.phosphoreum* в залежності від концентрації, відображено у рисунку 7. За умов внесення екстрактів кормів з різними рівнями Броду до тест-культури *Ph.phosphoreum* на 5 хв після внесення за 1,0 і 5,0 мг/кг корму не спостерігали вірогідних відхилень інтенсивності світіння *Ph.phosphoreum*, а за рівнів 10,0; 50,0 і 100,0 мг/кг інтенсивність світіння була нижчою за контроль на 8,7; 16,4 і 18,4 % ($p < 0,05$) (рис. 7).

На 10 хв експерименту за рівня Броду 1,0 мг/кг корму спостерігали вірогідне підвищення інтенсивності світіння *Ph.phosphoreum* (на 10,4 %) відносно контролю, за рівня мікроелементу 5,0 мг/кг корму не спостерігали вірогідних відхилень інтенсивності світіння *Ph.phosphoreum*, а за рівнів 10,0; 50,0 і 100,0 мг/кг інтенсивність світіння була нижчою за контроль на 6,7; 11,9 і 19,0 % ($p < 0,05$) (рис. 7).

На 15 хв досліді за рівнів Броду 1,0 і 5,0 мг/кг корму не спостерігали вірогідних відхилень інтенсивності світіння *Ph.phosphoreum*, а за рівнів 10,0; 50,0 і 100,0 мг/кг інтенсивність світіння була нижчою за контроль на 12,2; 14,5 і 20,0 % ($p < 0,05$) (рис. 7).

На 20 хв досліді за рівнів Броду 1,0 і 5,0 мг/кг корму не спостерігали вірогідних відхилень інтенсивності світіння *Ph.phosphoreum*, а за рівнів 10,0; 50,0 і 100,0 мг/кг інтенсивність світіння була нижчою за контроль на 19,5; 20,5 і 23,3 % ($p < 0,05$) (рис. 7).

На 25 хв експерименту за рівня Броду 1,0 мг/кг корму спостерігали вірогідне підвищення інтенсивності світіння *Ph.phosphoreum* (на 5,3 %) відносно контролю, за рівня мікроелементу 5,0 мг/кг корму не спостерігали вірогідних відхилень інтенсивності світіння

Ph.phosphoreum, а за рівнів 10,0; 50,0 і 100,0 мг/кг інтенсивність світіння була нижчою за контроль на 12,5; 23,1 і 23,1 % ($p < 0,05$). Аналогічну картину спостерігали і на останньому терміні досліджень: за рівня Броду 1,0 мг/кг корму спостерігали вірогідне підвищення інтенсивності світіння *Ph.phosphoreum* (на 5,3 %) відносно контролю, за рівня мікроелементу 5,0 мг/кг корму не спостерігали вірогідних відхилень інтенсивності світіння *Ph.phosphoreum*, а за рівнів 10,0; 50,0 і 100,0 мг/кг інтенсивність світіння була нижчою за контроль на 11,6; 15,6 і 21,1 % ($p < 0,05$) (рис. 7).

Відсоток зниження інтенсивності світіння *Ph.phosphoreum* відповідав індексу токсичності (Т), що дозволило провести токсикологічну оцінку корму з різними рівнями Броду. Так, за вмісту мікроелементу 1,0 мг/кг корму індекс токсичності на (20-25) хв (рекомендований термін реєстрації показників флуоресценції) був від'ємний і у середньому становив мінус 2,9; а за вмісту мікроелементу 5,0; 10,0 (показник МДР); 50,0 і 100,0 мг/кг корму індекс токсичності у середньому становив 3,3; 16,0 (показник МДР); 21,8 і 23,2 відповідно. Отримані дані дозволяють стверджувати, що корми з вмістом Броду менше 1,0 до 10,0 мг/кг включно є не токсичними (індекс токсичності менше 20), а за вмісту від 50,0 до 100,0 мг/кг – токсичними (індекс токсичності від 20 до 50).

Обговорення.

До люмінесцентних належить 12 видів бактерій, які класифіковані чотирма родами: *Vibrio*, *Photobacterium*, *Shewanella*, *Xenorhabdus*. Більшість представників цієї групи є морськими видами, серед яких трапляються як вільноживучі, так і симбіотичні форми (Burtseva et al., 2020) і застосовують їх в основному з метою токсикологічної оцінки об'єктів екологічного нагляду: води (питні, технічні, зливні), ґрунти тощо. Тому у більшості досліджень інтерпретацію результатів науковці проводять відносно концентрації того чи іншого металу у кінцевому

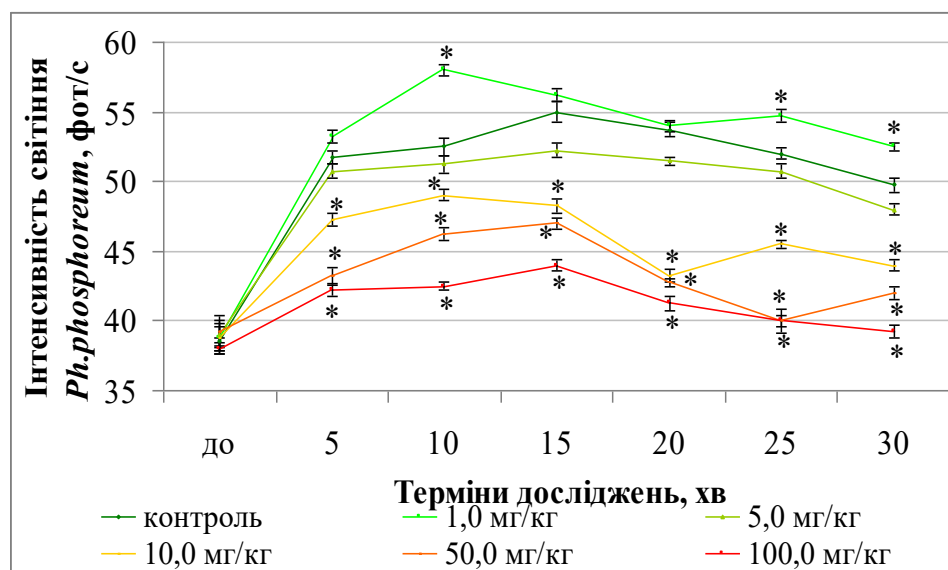


Рис. 7. Динаміка інтенсивності світіння *Ph.phosphoreum* за умов унесення в корм різних доз Броду ($M \pm m$, $n=6$, * – $p < 0,05$ – відносно контролю)

досліджуваному розчині та набування за певний час 50 % інгібування світіння фотобактерій (EC_{50}).

Пригнічення люмінесценції фотобактерій під дією Феруму встановлено ще у 1982 році (Makemson & Hastings, 1982) на прикладі *Vibrio harveyi*. У роботі (Sorokina et al., 2013) наведено, що додавання Феруму у концентраціях від 0,56 до 56,0 мг/л до культури *Ph.phosphoreum*, вирощеної в синтетичному середовищі, не впливало на ріст культури, проте за концентрації 56,0 мг/л спричиняло незначне зменшення світіння, тоді як у дослідях з *Vibrio fischeri* за концентрації Феруму 7,0 мг/л через 15 хв спостерігали 50 % пригнічення світіння. Якщо порівняти отримані нами дані відносно впливу Феруму протягом 30 хв на інтенсивність світіння *Ph.phosphoreum* (штам IMB B-7071; Sq3), то отримуємо наступне: в перерахунку рівнів Феруму у кормах (75,0; 150,0; 750,0; 3750,0 і 7500,0 мг/кг корму) маємо кінцеві концентрації мікроелементу в досліджуваному екстракті (37,5; 75,0; 375,0; 1875,0 і 3750,0 мг/л відповідно). За концентрації Феруму 37,5 мг/л інтенсивність світіння пригнічувалася не значно, а за 75,0 мг/л – не набувала 50 % зниження інтенсивності, тобто, отримані дані є близькими до даних (Sorokina et al., 2013), тоді як за концентрацій 375,0-3750,0 мг/л світіння бактерій було взагалі відсутнє, що вказує на високу токсичність зразків.

У нашому досліді концентрації Кобальту в кінцевому досліджуваному екстракті складали 0,1; 0,2; 1,0; 5,0 і 10,0 мг/л (відповідно рівням у кормі – 0,20; 0,40; 2,0; 10,0 і 20,0 мг/кг), при цьому максимальний відсоток пригнічення інтенсивності світіння був на рівні 28,9 %, тобто 50 % зниження інтенсивності світіння *Ph. phosphoreum* на обраних для експерименту рівнях не було. За даними (Kahru, 1993) 50 % зниження інтенсивності світіння за дії Кобальту фотобактерії досягають за концентрації 135-177 мг/л, а в дослідженнях (Mohseni et al., 2018) – за концентрації 16-45,9 мг/л. Тобто отримані нами дані близькі до результатів Mohseni et al., 2018, проте є нижчими за показники Kahru, 1993.

Концентрації Мангану у кінцевому досліджуваному екстракті в нашому експерименті складали 6,0; 12,0; 60,0; 300,0 і 600,0 мг/л (відповідно рівням у кормі – 12,0; 24,0; 120,0; 600,0 і 1200,0 мг/кг), при цьому протягом 30 хв спостерігали повне пригнічення інтенсивності світіння за 600,0 мг/л. Згідно з результатами (Teodorovic et al., 2009), значення EC_{50} Мангану для *V. fischeri* за експозиції 30 хв становить в середньому 351,0 мг/л, а у дослідженнях (Reimer, 1999) для даної культури EC_{50} мікроелементу становила 73,1-124,3 мг/л. Тобто отримані нами дані близькі до даних літератури.

У нашому досліді концентрації Селену в кінцевому досліджуваному екстракті складали 0,025; 0,05; 0,25; 1,25 і 2,50 мг/л (відповідно рівням у кормі – 0,05; 0,10; 0,5; 2,5 і 5,0 мг/кг), при цьому максимальний відсоток пригнічення інтенсивності світіння *Ph. phosphoreum* був на рівні 50,1 % за концентрації 2,5 мг/л. Arias-Barreiro et al., 2010 встановили EC_{50} Селену відносно фотобактерії *E. coli-roGFP2* на рівні 3,1 мг/л, що узгоджується з результатами наших досліджень. Attar & Afshar, 2010 дослідили вплив концентрацій Селену (100, 20, 10, 1,

0,1, 0,001 мг/л) на світіння *Vibrio fischeri* DSM 7744, встановили тенденцію до зменшення інтенсивності люмінесценції за дії селену від 0,001 до 100 мг/л (дані відносно EC_{50} Селену в даній роботі не наведені).

Концентрації Нікелю у кінцевому досліджуваному екстракті в нашому експерименті складали 0,15; 0,30; 1,5; 7,50 і 15,0 мг/л (відповідно рівням у кормі – 0,3; 0,6; 3,0; 15,0 і 30,0 мг/кг), при цьому максимальний відсоток пригнічення інтенсивності світіння був на рівні 35,5 %, тобто 50 % зниження інтенсивності світіння *Ph. phosphoreum* на обраних для експерименту рівнях не було. За даними (Yang et al., 2022) 50 % зниження інтенсивності світіння штаму *Vibrio qinghaiensis* Q67 в досліджуваній воді відбувалося за концентрації Нікелю на рівні $5,941 \pm 0,044$ мг/л, що є нижчим за отримані нами дані. А в роботі (Lopez-Roldan et al., 2012) 50 % зниження інтенсивності світіння люмінесцентних бактерій залежно від часу становило на 15 хв – 0,13 – 256,0 мг/л і на 30 хв – 42,2 мг/л, тобто можна констатувати певну узгодженість з отриманими нами даними.

Концентрації Хрому у кінцевому досліджуваному екстракті в нашому експерименті складали 0,05; 0,25; 0,5; 2,50 і 5,0 мг/л (відповідно рівням у кормі – 0,1; 0,5; 1,0; 5,0 і 10,0 мг/кг), при цьому максимальний відсоток пригнічення інтенсивності світіння був на рівні 23,9 %, тобто 50 % зниження інтенсивності світіння *Ph. phosphoreum* на обраних для експерименту рівнях не було. За даними (Yang et al., 2022) 50 % зниження інтенсивності світіння штаму *Vibrio qinghaiensis* Q67 в досліджуваній воді відбувалося за концентрації Нікелю на рівні $1,313 \pm 0,008$ мг/л, а *Photobacterium phosphoreum* T3 і *Photobacterium phosphoreum* 502 на рівні – $8,608 \pm 0,146$ та $20,936 \pm 0,154$ мг/л, що частково узгоджується з отриманими нами даними. А в роботі (Lopez-Roldan et al., 2012) 50 % зниження інтенсивності світіння люмінесцентних бактерій залежно від часу становило на 15 хв – 15,3 мг/л і на 30 хв – 16,0 мг/л, тобто можна констатувати певну узгодженість з отриманими нами даними.

У нашому досліді концентрації Брому в кінцевому досліджуваному екстракті складали 0,5; 2,5; 5,0; 25,0 і 50,0 мг/л (відповідно рівням у кормі – 1,0; 5,0; 10,0; 50,0 і 100,0 мг/кг), при цьому максимальний відсоток пригнічення інтенсивності світіння був на рівні 23,2 %, тобто 50 % зниження інтенсивності світіння *Ph. phosphoreum* на обраних для експерименту рівнях не було. За даними (Garcia, Gathergood & Scammells, 2005) 50 % зниження інтенсивності світіння *Photobacterium phosphoreum* в досліджуваному екстракті відбувалося за концентрації Брому на рівні 93,9 мг/л, що частково узгоджується з отриманими нами даними.

Посилення світіння фотобактерій, зокрема, під дією малих доз Кобальту, Мангану, Нікелю та Брому ми пов'язуємо з так званим явищем гормезису (стимуляція будь-якої системи організму зовнішніми впливами, що мають силу, недостатню для прояву шкідливих факторів) (Belz & Cedergreen, 2010; Varan et al., 2019).

Слід зазначити, що під час дослідження більшості мікроелементів не вдалося досягти 50 % інгібування світіння *Ph.phosphoreum*, що обумовлено наявними (вироб-

ничими) рівнями їх у кормах та недоцільністю використання вищих доз МЕ у кормах.

Висновки.

Досліджено вплив різних рівнів мікроелементів на інтенсивність світіння *Ph.phosphoreum* (штам ІМВ В-7071; Sq3) та надана токсикологічна оцінка кормам за відсотком зниження інтенсивності світіння, що дозволяє використовувати даний тест під час токсикологічної оцінки кормів забруднених МЕ.

Корми з вмістом Феруму менше 75,0 мг/кг включно, Кобальту менше 0,2 до 2,0 мг/кг включно, Мангану менше 12,0 до 120,0 мг/кг включно, Селену менше 0,05 до 0,5 мг/кг включно, Нікелю менше 0,3 до 3,0 мг/кг включно, Хрому менше 0,1 до 1,0 мг/кг включно та Броду менше 1,0 до 10,0 мг/кг включно характеризувалися як не токсичні. Корми з вмістом Феруму 150,0 мг/кг, Кобальту від 10,0 до 20,0 мг/кг, Селену 2,5 мг/

кг, Нікелю від 15,0 до 30,0 мг/кг та Хрому від 5,0 до 10,0 мг/кг характеризувалися як токсичні, тоді як корми з вмістом Феруму від 750,0 до 7500,0 мг/кг, Мангану від 600,0 до 1200,0 мг/кг, Селену 5,0 мг/кг та Броду від 50,0 до 100,0 мг/кг характеризувалися як сильно токсичні.

Перспективою подальших досліджень у цьому напрямку є токсикологічна оцінка кормів із різними рівнями пестицидів з використанням люмінесцентних мікроорганізмів *Photobacterium phosphoreum*.

Подяка. Автори виражають щире подяку Головач Тетяні Миколаївні, кандидату біологічних наук, завідувачу Депозитарію мікроорганізмів Інституту мікробіології і вірусології імені Д.К. Заболотного Національної академії наук України України за люб'язно наданий для дослідження штаму *Photobacterium phosphoreum* (ІМВ В-7071; Sq3).

Бібліографічні посилання:

1. Pohorielov, M. V. (2010). Makro- ta mikroelementy (obmin, patolohiia ta metody vyznachennia): monohrafiia [Macro- and microelements (exchange, pathology and methods of determination): monograph]. SumDU, Sumy, Ukraine, 147 (in Ukrainian).
2. Prashanth, L., Kattapagari, K. K., Chitturi, R. T., Baddam, V. R., & Prasad, L. K. (2015). A review on role of essential trace elements in health and disease. *J. NTR Univ. Health Sci.* 4(2), 75-85. <https://doi.org/10.4103/2277-8632.158577>
3. Vincent, J. B. (2019). Effects of chromium supplementation on body composition, human and animal health, and insulin and glucose metabolism. *Curr. Opin. Clin Nutr. Metab. Care.* 22(6), 483-489. <https://doi.org/10.1097/MCO.0000000000000604>
4. Calderón Guzmán, D., Juárez Olguín, H., Osnaya Brizuela, N., Hernández Garcia, E., & Lindoro Silva, M. (2019). The Use of Trace and Essential Elements in Common Clinical Disorders: Roles in Assessment of Health and Oxidative Stress Status. *Nutr. Cancer.* 71(1), 13-20. <https://doi.org/10.1080/01635581.2018.1557214>
5. Dias, R. S., Montanholi, Y. R., Lopez, S., Smith, B., Miller, S. P., & France, J. (2016). Utilization of macrominerals and trace elements in pregnant heifers with distinct feed efficiencies. *J. Dairy Sci.* 99(7), 5413-5421. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10796>
6. Younus, N., Zuberi, A., Rashidpour, A., & Metón, I. (2020). Dietary cobalt supplementation improves growth and body composition and induces the expression of growth and stress response genes in *Tor putitora*. *Fish Physiol Biochem.* 46(1), 371-381. <https://doi.org/10.1007/s10695-019-00723-5>
7. Vogt, A. S., Arsiwala, T., Mohsen, M., Vogel, M., Manolova, V., & Bachmann, M. F. (2021). On Iron Metabolism and Its Regulation. *Int. J. Mol. Sci.* 22(9), 4591. <https://doi.org/10.3390/ijms22094591>
8. Gać, P., Czerwińska, K., Macek, P., Jaremków, A., Mazur, G., Pawlas, K., & Poręba, R. (2021). The importance of selenium and zinc deficiency in cardiovascular disorders. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 82, 103553. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2020.103553>
9. Orobchenko, O., Koreneva, Y., Paliy, A., Rodionova, K., Korenev, M., Kravchenko, N., Pavlichenko, O., Tkachuk, S., Nechyporenko, O., & Nazarenko, S. (2022). Bromine in chicken eggs, feed, and water from different regions of Ukraine. *Potravinarstvo Slovak Journal of Food Sciences*, 16, 42-54. <https://doi.org/10.5219/1710>
10. Balachandran, R. C., Mukhopadhyay, S., McBride, D., Veevers, J., Harrison, F.E., Aschner, M., Haynes, E. N., & Bowman, A. B. (2020). Brain manganese and the balance between essential roles and neurotoxicity. *J. Biol. Chem.* 295(19), 6312-6329. <https://doi.org/10.1074/jbc.REV119.009453>
11. Wu, J., Yang, J. J., Cao, Y., Li, H., Zhao, H., Yang, S., & Li, K. (2020). Iron overload contributes to general anaesthesia-induced neurotoxicity and cognitive deficits. *J. Neuroinflammation.* 17(1), 110. <https://doi.org/10.1186/s12974-020-01777-6>
12. Raisbeck, M. F. (2020). Selenosis in Ruminants. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 36(3), 775-789. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2020.08.013>
13. Magrone, T. (2020). Nickel-Induced Damage: Pathogenesis and Therapeutical Approaches. *Endocr. Metab. Immune Disord. Drug Targets.* 20(7), 967. <https://doi.org/10.2174/1871530320666200707151502>
14. Zafalon, R. V. A., Pedreira, R. S., Vendramini, T. H. A., Rentas, M. F., Pedrinelli, V., Rodrigues, R. B. A., Risolia, L. W., Perini, M. P., Amaral, A. R., de Carvalho Balieiro, J. C., Pontieri, C. F. F., & Brunetto, M. A. (2021). Toxic element levels in ingredients and commercial pet foods. *Sci. Rep.* 11(1), 21007. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-00467-4>
15. Kozhanova, N., Sarsembayeva, N., Lozowicka, B., & Kozhanov, Z. (2021). Seasonal content of heavy metals in the «soil-feed-milk-manure» system in horse husbandry in Kazakhstan. *Vet. World.* 14(11), 2947-2956. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2021.2947-2956>
16. Koch, F., Kowalczyk, J., Wagner, B., Klevenhusen, F., Schenkel, H., Lahrssen-Wiederholt, M., Pieper, R. (2021). Chemical analysis of materials used in pig housing with respect to the safety of products of animal origin. *Animal.* 15(9), 100319. <https://doi.org/10.1016/j.animal.2021.100319>
17. Chowdhury, R., Ramond, A., O'Keeffe, L. M., Shahzad, S., Kunutsor, S. K., Muka, T., Gregson, J., Willeit, P., Warnakula, S., Khan, H., Chowdhury, S., Gobin, R., Franco, O. H., & Di Angelantonio, E. (2018). Environmental toxic

- metal contaminants and risk of cardiovascular disease: systematic review and meta-analysis. *BMJ*. 362, k3310. <https://doi.org/10.1136/bmj.k3310>
18. Kurbatska, O. V., & Orobchenko, O. L. (2021a). Express method for determination of general feed toxicity using bioluminescent microorganisms *Photobacterium phosphoreum*. *Scientific and Technical Bulletin of State Scientific Research Control Institute of Veterinary Medical Products and Fodder Additives and Institute of Animal Biology*. 22(2), 217–224. <https://doi.org/10.36359/scivp.2021-22-2.24>
 19. Menz, J., Schneider, M., & Kümmerer, K. (2013). Toxicity testing with luminescent bacteria – characterization of an automated method for the combined assessment of acute and chronic effects. *Chemosphere*. 93(6), 990–996. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.05.067>
 20. Fernández-Piñas, F., Rodea-Palmares, I., Leganés, F., González-Pleiter, M., & Angeles Muñoz-Martín, M. (2014). Evaluation of the ecotoxicity of pollutants with bioluminescent microorganisms. *Adv Biochem Eng Biotechnol*. 145, 65–135. https://doi.org/10.1007/978-3-662-43619-6_3
 21. Ma, X. Y., Wang, X. C., Ngo, H. H., Guo, W., Wu, M. N., & Wang, N. (2014). Bioassay based luminescent bacteria: interferences, improvements, and applications. *Sci Total Environ*. 468–469, 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.08.028>
 22. Kutsan, O. T., Orobchenko, O. L., & Kochergin, Yu. A. (2014). Toksiko-biohimichna charakteristika neorganichnih elementiv ta zastosuvannya rentgenofluorescentnogo analizu u veterinarniy meditsini (navchalnii posybnik), [Toxic-biochemical characteristic of inorganic elements and application of X-ray fluorescence analysis in veterinary medicine (methodical manual)]. Planet Print, Kharkiv, Ukraine, 300. ISBN 978-966-2046-43-4 (In Ukrainian)
 23. Stehni, B. T., Orobchenko, O. L., & Koreneva, Yu. M. (2021). Diahnostyka ta profilaktyka otruiennia Bromom silskohospodarskoi ptytsi : Metodychni rekomendatsii [Diagnosis and prevention of Bromine poisoning of poultry: Methodical recommendations]. Styl-Yzdat, Kharkiv, Ukraine, 20. (In Ukrainian)
 24. On approval of the List of maximum permissible levels of undesirable substances in feed and feed raw materials for animals of the Ministry of Agrarian Policy of Ukraine; Order, List dated March 19, 2012 No. 131 as amended on October 11, 2017 Order No. 550). (in Ukrainian) <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z0503-12#Text>
 25. Orobchenko, O. L., Kurbatska, O. V., Kutsan O. T., & Kalashnik N. V. (2020). Nutrient medium for the cultivation of photoluminescent microorganisms *Photobacterium Phosphoreum*. Declaratory patent of Ukraine for a utility model № 143070 IPC (51) C12N 1/20; applicant and patent holder National Research Center «Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine»; stated 21.01.2020 (u 2020 00341); publ. 10.07.2020, 13/2020. 4. (In Ukrainian) Спеціалізована БД «Винаходи (корисні моделі) в Україні» (uipv.org)
 26. Kurbatska, O. V., & Orobchenko, O.L. (2021b). Ekspres-metodyka vyznachennia zahalnoi toksychnosti kormiv z vykorystanniam fotoluminescentnykh mikroorhanizmiv *Ph. Phosphoreum*. Naukovo-metodychni rekomendatsii [Express methodology for determining the general toxicity of feed using photoluminescent microorganisms *Ph. Phosphoreum*. Scientific and methodological recommendations]. Styl-Yzdat, Kharkiv, Ukraine, 24. (In Ukrainian)
 27. Burtseva, O., Kublanovskaya, A., Baulina, O., Fedorenko, T., Lobakova, E. & Chekanova, K. (2020). The strains of bioluminescent bacteria isolated from the White Sea finfishes: genera *Photobacterium*, *Aliivibrio*, *Vibrio*, *Shewanella*, and first luminous *Kosakonia*. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. 208, 111895. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2020.111895>
 28. Makemson, J. C., & Hastings, J. W. (1982). Iron represses bioluminescence and affects catabolite repression of luminescence in *Vibrio harveyi*. *Current Microbiology*. 7, 181–186. <https://doi.org/10.1007/BF01568972>
 29. Sorokina, E. V., Yudina, T. P., Bubnov, I. A., & Danilov, V. S. (2013). Assessment of iron toxicity using a luminescent bacterial test with an *Escherichia coli* recombinant strain. *Microbiology*. 82(4), 439–444. <https://doi.org/10.1134/s0026261713040115>
 30. Kahru, A. (1993). In Vitro Toxicity Testing Using Marine Luminescent Bacteria (*Photobacterium phosphoreum*): the Biotox™ test. *Alternatives to Laboratory Animals*. 21(2), 210–215. <https://doi.org/10.1177/026119299302100216>
 31. Mohseni, M., Abbaszadeh, J., Maghool, S.-S., & Chaichi, M.-J. (2018). Heavy metals detection using biosensor cells of a novel marine luminescent bacterium *Vibrio* sp. MM1 isolated from the Caspian Sea. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 148, 555–560. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.11.002>
 32. Teodorovic, I., Planojevic, I., Knezevic, P., Radak, S., & Nemet, I. (2009). Sensitivity of bacterial vs. acute *Daphnia magna* toxicity tests to metals. *Open Life Sciences*. 4(4), 482–492. <https://doi.org/10.2478/s11535-009-0048-7>
 33. Reimer, P. S. (1999) Environmental effects of manganese and proposed freshwater guidelines to protect aquatic life in British Columbia [MSc thesis]. Vancouver, B.C., University of British Columbia. 56. <https://www2.gov.bc.ca/assets/gov/environment/air-land-water/water/waterquality/water-quality-guidelines/approved-wqgs/manganese-tech.pdf>
 34. Arias-Barreiro, C. R., Okazaki, K., Koutsaftis, A., Inayat-Hussain, S. H., Tani, A., Katsuhara, M., Kimbara, K., & Mori, I. C. (2010). A Bacterial Biosensor for Oxidative Stress Using the Constitutively Expressed Redox-Sensitive Protein roGFP2. *Sensors*. 10(7), 6290–6306. <https://doi.org/10.3390/s100706290>
 35. Attar, H., & Afshar, S. (2010). Design of Sensible Biosensor for Rapid Detection of Biocides in Potable Water. *Asian Journal of Biotechnology*. 2, 120-126. <https://doi.org/10.3923/ajbkr.2010.120.126>
 36. Yang, J., Hu, S., Liao, A., Weng, Y., Liang, S., & Lin, Y. (2022). Preparation of freeze-dried bioluminescent bacteria and their application in the detection of acute toxicity of bisphenol A and heavy metals. *Food Sci Nutr*. 10(6), 1841–1853. <https://doi.org/10.1002/fsn3.2800>
 37. Lopez-Roldan, R., Kazlauskaitė, L., Ribo, J., Riva, M. C., González, S., & Cortina, J. L. (2012). Evaluation of an automated luminescent bacteria assay for in situ aquatic toxicity determination. *Science of The Total Environment*, 440, 307–313. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.05.043>

38. Garcia, M. T., Gathergood, N., & Scammells, P. J. (2005). Biodegradable ionic liquids : Part II. Effect of the anion and toxicology. *Green Chemistry*. 7(1), 9. <https://doi.org/10.1039/b411922c>
39. Baran, A., Tarnawski, M., Koniarz, T., & Szara, M. (2019). Content of nutrients, trace elements, and ecotoxicity of sediment cores from Rożnów reservoir (Southern Poland). *Environmental Geochemistry and Health*. 41, 2929–2948 <https://doi.org/10.1007/s10653-019-00363-x>
40. Belz, R. G., & Cedergreen, N. (2010). Parthenin hormesis in plants depends on growth conditions. *Environmental and Experimental Botany*. 69(3), 293–301. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2010.04.010>

Kurbatska O. V., PhD student, National Scientific Center «Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine», Kharkiv, Ukraine

Orobchenko O. L., Dr. Vet. Sciences, Senior Researcher, National Scientific Center «Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine», Kharkiv, Ukraine

Toxicological evaluation of feeds with different levels of trace elements using luminescent microorganisms *Photobacterium phosphoreum*

Toxicological and hygienic assessment of toxic contaminants of various origins (including trace elements) is widely carried out in the countries of Europe, Asia and America. Currently, for these purposes, an important role is played by biotesting using proto- and eukaryotic organisms as test models, with biotests using live bioluminescent bacteria, which are distinguished from others by the fact that the intensity of their glow is measured as a parameter of vital activity, comes to the fore. The purpose of this work was to conduct a toxicological evaluation of feeds with different levels of trace elements using the luminescent microorganisms *Photobacterium phosphoreum*. Under the conditions of trace elements research, corn grits, which did not possess toxic properties, were used as a «matrix». Trace elements were used in the form of State standard samples, namely: iron, cobalt, manganese, selenium, nickel, chromium and bromine. As a test culture, a lyophilized culture of *Photobacterium phosphoreum* (strain IMV B-7071; Sq3) was used, obtained from the Depository of Microorganisms of the Institute of Microbiology and Virology named after D.K. Zabolotny of the National Academy of Sciences of Ukraine (Kyiv). Before introducing trace elements into the feed, the «matrix» was first examined for their content (background). Toxicants were added to the «matrix» in different concentrations, taking into account the «background» indicators (5 series each), which were prepared by diluting in distilled water, depending on the maximum permissible level. As a result of the work, it was established the possibility of using luminescent microorganisms *Photobacterium phosphoreum* (strain IMV B-7071; Sq3) for rapid toxicological evaluation of feeds with different levels of trace elements, based on a decrease in the intensity of luminescence. However, if for Co, Mn, Ni, Se, Cr and Br under the conditions of the study of feed with the content of trace elements at the maximum residue limits (MRL) (2.0; 120.0; 3.0; 0.5; 1.0 and 10.0 mg/kg, respectively) the feed was characterized as non-toxic, then for Fe according to the MRL (750.0 mg/kg) the feed was characterized as highly toxic, which indicates the need for further studies to study the toxicological characteristics of the trace element in the body of laboratory and productive animals, possibly with further revision (downwards) of the MRL of the relevant pollutant in feed in Ukraine. The prospect of further research in this direction is the toxicological assessment of feed with different levels of pesticides using the luminescent microorganisms *Photobacterium phosphoreum*.

Key words: bioluminescence; feed; trace elements; toxicity; *Photobacterium phosphoreum*.