

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертацію Вовчек Наталії Олександрівни
«**Морфологічні та біохімічні показники прісноводних риб за дії іонів кобальту**», представленої на здобуття ступеня доктора філософії за спеціальністю
091 Біологія

Загальна оцінка роботи. Важкі метали є одними з найнебезпечніших забруднювачів довкілля через свою токсичність, здатність накопичуватися у воді та біоакумулюватися в організмах гідробіонтів. Серед них кобальт привертає особливу увагу, оскільки, з одного боку, це важливий мікроелемент (складова вітаміну B₁₂, кофактор багатьох ферментів), а з іншого – за підвищених концентрацій кобальт стає токсичним і небезпечним для гідробіонтів. У природних водах концентрація кобальту зазвичай низька, проте за несприятливих умов (антропогенне забруднення, техногенні аварії тощо) його вміст може різко зростати, призводячи до накопичення в компонентах гідроекосистем і негативного впливу на водні організми. Риби, як невід’ємна частина водних екосистем і об’єкт рибного господарства, є чутливими біоіндикаторами стану довкілля. Оцінка токсичного впливу іонів важких металів на риб за допомогою біологічних показників дозволяє точно виявляти зміни в організмах і прогнозувати екологічні наслідки, будучи економічно вигіднішою та інформативнішою, ніж тільки хімічний аналіз води. В цьому контексті, тема дисертації є важливою і має значну теоретичну та практичну цінність.

Метою дисертаційної роботи було здійснити порівняльну характеристику змін окремих морфологічних і біохімічних показників організму риб (карася та щуки) за дії підвищених концентрацій іонів Co²⁺ у воді. Для досягнення мети авторка роботи сформувала вісім ключових задач, на вирішення яких направлено дисертаційне дослідження.

Дисертаційна робота викладена українською мовою на 160 сторінках комп’ютерного набору, складається зі вступу, огляду літератури, опису матеріалів і методів досліджень, розділів отриманих результатів, аналізу та узагальнення результатів досліджень, висновків та списку використаних джерел. Робота містить 45 рисунків, 4 таблиці. Бібліографічний список складає 243 джерел, з них 227 – англійською мовою. Дисертаційна робота структурована, має необхідні складові, загальноприйняті для аналогічних досліджень.

Актуальність. Актуальність підтверджується тим, що робота спрямована на вирішення важливого науково-прикладного завдання – дослідити, як іони кобальту в сублетальних концентраціях впливають на організм прісноводних риб. Така інформація необхідна для екологічного моніторингу якості води та розуміння механізмів токсичної дії важких металів. Отримані результати можуть бути використані для розробки

біомоніторингових підходів у гідроекології та рибництві, що також підтверджує високу актуальність теми дослідження.

Новизна. У дисертаційній роботі Наталії Вовчек отримано результати, що відзначаються значною науковою новизною. Вперше встановлено характер впливу підвищених (сублетальних) концентрацій іонів кобальту у воді на морфологічні та низку біохімічних показників двох видів прісноводних риб – карася та щуки. Зокрема, вперше проаналізовано особливості накопичення кобальту в організмі дослідних видів риб та його вплив на їхню кровоносну систему і метаболізм: показано, як важкий метал впливає на кількість еритроцитів, рівень гемоглобіну, гематокрит, а також на вміст метаболітів енергетичного обміну (глюкозу, лактат, піруват). Розширено наукові знання про показники оксидативного стресу в крові риб (дієнові кон'югати, МДА) як біомаркери інтоксикації кобальтом та про особливості функціонування ферментних систем (антиоксидантних та метаболічних ферментів) за дії цього металу. Важливим новим результатом є виявлення ролі системи крові риб у формуванні їхньої токсикорезистентності до кобальту та обґрунтування можливості використання ряду гемато-біохімічних показників для оцінки стану довкілля. На основі статистичного факторного аналізу авторкою запропоновано мінімальний діагностичний набір біомаркерів у крові риб для біомоніторингу забруднення водного середовища кобальтом. Зокрема, виділено дві групи показників: (1) метаболічні та ферментативні – активність лактатдегідрогенази, аланінамінотрансферази та аспартатамінотрансферази, загальний вміст білка, концентрація пірувату; (2) показники оксидативного стресу – концентрація дієнових кон'югатів, вміст малонового діальдегіду та активність супероксиддисмутази. Така систематизація біомаркерів є новим підходом, що має значення для екологічної фізіології: вперше запропоновано конкретні індикатори стану риб, які найбільш чутливо реагують на інтоксикацію іонами кобальту. Отримані авторкою нові наукові факти доповнюють та поглиблюють існуючі знання про дію важких металів на водяні організми, і безсумнівно становлять вагомий внесок у розвиток науки у галузі біології (особливо екології та біохімії риб, гідробіології).

Практичне значення одержаних результатів. Встановлено, що фізіолого-біохімічні показники тканин риб чутливо відображають стан водяних організмів за різних гідроекологічних умов, тому їх можна використовувати як індикатори для контролю якості водного середовища. Отримана авторкою інформація про зміни морфологічних та біохімічних параметрів риб під впливом іонів важких металів може бути покладена в основу швидких діагностичних методів виявлення токсичного ураження гідробіонтів. Це має безпосереднє прикладне значення, зокрема, для розробки систем екологічного моніторингу забруднення водойм важкими металами у практиці рибництва та природоохоронного контролю. Крім того, дисертанткою отримано цікаві дані про можливий стимулюючий ефект низьких доз кобальту. З'ясовано, що окремі важкі метали (зокрема кобальт)

можуть виступати активними регуляторами обміну речовин у риб, завдяки чому їх за певних умов доцільно використовувати у практиці годівлі риб для стимулювання росту і розвитку. Цей висновок відкриває перспективи прикладного використання отриманих знань у аквакультурі (наприклад, у розробці добавок до кормів або умов утримання риб, що підвищують їх продуктивність).

Водночас, результати дисертації впроваджені в освітній процес – матеріали роботи можуть використовуватися при викладанні курсів «Водна токсикологія», «Екологічна фізіологія і біохімія», «Екологічний моніторинг» тощо. Таким чином, практичне значення роботи є вагомим: результати дослідження мають прикладну цінність для екологічного моніторингу та рибицтва, а також потенційно для біотехнологій в аквакультурі. Впровадження рекомендацій, отриманих у дисертації, сприятиме підвищенню ефективності контролю забруднення водойм та оптимізації умов утримання риб у господарствах.

Зв'язок роботи з науковими програмами, плановими науково-дослідними роботами. Робота виконана у межах держбюджетної НДР «Дослідження токсикорезистентності прісноводних риб до дії чинників водного середовища» Державний реєстраційний номер 0122U001543.

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 13 праць, в тому числі 7 статей у фахових виданнях, 2 з яких індексуються у наукометричних базах даних Scopus, та 6 матеріалів тез доповідей на з'їздах та конференціях.

Результати дисертаційного дослідження доповідались на міжнародних та всеукраїнських конференціях, зокрема: Міжнародній науково-практичній конференції «Тернопільські біологічні читання – Ternopil Bioscience – 2022», Тернопіль, Україна, 4–5 листопада 2022 р.; Міжнародній науково-практичній конференції «Тернопільські біологічні читання – Ternopil Bioscience – 2023», Тернопіль, Україна, 11–13 травня 2023 р.; Міжнародній науково-практичній конференції «Тернопільські біологічні читання – Ternopil Bioscience – 2024» Тернопіль, Україна, 18–19 квітня 2024 р.; VII Міжнародній науково-практичній конференції «Сучасні проблеми біології, екології та хімії», Запоріжжя, Україна, 25-27 квітня 2024 р.; IX з'їзді Гідроекологічного товариства України. Дніпро, Україна, 18-20 вересня 2024 р. Міжнародній науково-практичній конференції «Тернопільські біологічні читання – Ternopil Bioscience – 2025» Тернопіль, Україна, 1-2 травня 2025 р.

Оцінка змісту роботи, її обґрунтованості та достовірності.

Анотація. Наведено стислу характеристику дисертаційної роботи, коротко представлено основні отримані результати і наведено перелік опублікованих робіт. Є переклад анотації англійською мовою.

Вступ. У вступі наведено актуальність дослідження, висвітлено не вирішені раніше проблемні питання, які потребують вивчення та доопрацювання, саме на них і направлена дисертаційна робота. У вступній частині сформовано мету і завдання роботи. Визначено наукову нішу дослідження та обґрунтовано вибір моделі експерименту і біологічних

показників. Наведено використані методи дослідження. Відмічена наукова новизна отриманих результатів. Підкреслено практичне значення одержаних результатів для науки. Відмічено особистий внесок здобувача. Надана інформація про публікації та апробацію результатів дисертації на конференціях.

Розділ 1. Огляд літератури. Наведено інформацію про важкі метали як забруднювачі навколишнього середовища. Розглянуто питання щодо ролі та поширення Кобальту. Описано методи аналізу та контролю кобальту в гідроекосистемах. Проаналізовано метаболізм кобальту в організмі водяних тварин. Особливу увагу приділено токсичність кобальту для гідробіонтів. Наведено сучасні літературні дані.

Розділ 2. Матеріали і методи дослідження. Наведено повну характеристику об'єктів дослідження (карась сріблястий і щука звичайна), описано умови утримання риб у модельному експерименті та параметри експозиції (іони кобальту у концентраціях 0,1 та 0,25 мг/дм³ протягом 14 діб). Деталізовано методики відбору тканин, визначення вмісту металу, морфометричних параметрів, загальних гематологічних показників, біохімічних маркерів енергетичного обміну, оцінки перекисного окиснення ліпідів, а також активності ферментів антиоксидантного захисту та метаболізму. Наведено схему дослідів та умови їх проведення. Детально описано умови утримання риб та відбір зразків тканин. Вказано методику визначення вмісту металів у тканинах риб. Деталізовано методи біохімічних досліджень: дослідження загальних показників крові, визначення продуктів перекисного окиснення ліпідів, дослідження ферментів антиоксидантного захисту, дослідження ензимів енергетичного обміну та переамінування, статистичні методи обробки результатів дослідження.

Розділ 3. Вплив підвищених концентрацій іонів Co^{2+} на морфологічні показники риб. Оцінено морфометричні зміни у карася і щуки під дією іонів кобальту. Встановлено, що показники змінюються видоспецифічно: у карася – зменшення індексів вгодованості, у щуки – зміна розмірів голови та плавців, зростання печінково-соматичного індексу. Зафіксовано реакції, які свідчать про перебудову соматичної структури риб у відповідь на токсичне навантаження.

Розділ 4. Зміни гематологічних показників риб за дії підвищених концентрацій іонів кобальту у воді. Досліджено вміст кобальту у крові риб та зміни загальних гематологічних показників (еритроцити, гемоглобін, гематокрит). Виявлено зростання рівня глюкози, лактату, пірувату. Проаналізовано фракційний склад білків сироватки крові, зокрема співвідношення альбумін/глобуліни. Встановлено видоспецифічні адаптаційні реакції кровотворної системи.

Розділ 5. Показники оксидативного стресу в крові риб як біомаркери інтоксикації іонами кобальту. Вивчено рівень продуктів перекисного окиснення ліпідів (МДА, дієнові кон'югати, гідропероксиди) та активність антиоксидантних ферментів (каталази, супероксиддисмутази). Показано, що

щука виявляє більшу чутливість до іонів кобальту, ніж карась. Зафіксовано індукцію стресу у крові риб, що вказує на активацію механізмів захисту від АФК.

Розділ 6. Особливості функціонування ферментних систем в організмі прісноводних риб за дії іонів кобальту. Проаналізовано активність ферментів переамінування (АсАТ, АлАТ) та енергетичного обміну (ЛДГ, СДГ, цитохромоксидаза) у тканинах печінки, зябер, м'язів та плазмі крові. Виявлено як активацію, так і пригнічення ферментів залежно від виду риб, концентрації кобальту та локалізації ферментативних систем. Доведено вплив Co^{2+} на енергозабезпечення клітин.

Розділ 7. Аналіз та узагальнення результатів дослідження.

Узагальнено експериментальні дані, проведено факторний аналіз. Виокремлено два блоки чутливих біомаркерів інтоксикації кобальтом – метаболічний і антиоксидантний. Обґрунтовано можливість використання цих показників для моніторингу якості водного середовища та діагностики стану гідробіонтів.

Висновки. Наведено 11 висновків, що повністю відповідають поставленим задачам. Дисертанткою сформульовано нові положення щодо реакцій прісноводних риб на сублетальні дози іонів кобальту, виявлено специфічні маркери інтоксикації та адаптації. Висновки обґрунтовані, базуються на експериментальних даних, статистичному аналізі та є завершенням поставлених завдань.

З огляду на матеріал є деякі запитання, неточності або зауваження:

1. Зазвичай в кінці розділів з власними дослідженнями прийнято наводити перелік опублікованих праць в яких опубліковані наведені результати. В дисертації цього немає.

2. У дисертації як модельну токсичну речовину використано $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, що при дисоціації у водному середовищі утворює не лише іони кобальту (Co^{2+}), але й хлорид-іони (Cl^-). Враховуючи те, що хлориди також можуть впливати на осмотичний баланс, іонний транспорт та зяброві структури у риб, чи розглядали Ви можливий супутній вплив Cl^- на результати експерименту?

3. Чи відбувалась диференціація риб за віком та статтю? Адже, фізіолого-біохімічні показники риб різного віку та різної статі можуть різнитись. Чому саме були обрані такі концентрації для постановки дослідів?

4. Упродовж усього експериментального періоду (14 діб) риби утримувалися без годівлі. Відомо, що навіть короткочасне голодування у риб може призводити до змін біохімічних і гематологічних показників: зниження глюкози й загального білка, зміни активності ферментів енергетичного обміну, посилення проявів окисного стресу. Чи враховували Ви вплив голодування як потенційного стресового фактора, здатного модифікувати біохімічні реакції риб на дію іонів кобальту? Яким чином було забезпечено коректне розмежування ефектів токсиканта і ефектів голоду в контрольних та експериментальних групах?

5. У дисертаційному дослідженні аналіз морфометричних показників риб засвідчив вірогідні зміни під впливом солей двовалентного кобальту. Водночас, риби протягом 14 діб експерименту не годувались, що саме по собі могло вплинути на масу тіла, вгодованість та інші соматичні характеристики. Яким чином у роботі враховано вплив голодування на морфометричні показники?

6. У тексті дисертації для характеристики морфологічних та біохімічних змін у карася сріблястого використовується термін «печінка». Водночас, у представників родини Cyprinidae, до якої належить карась сріблястий, функції печінки й підшлункової залози виконує гепатопанкреас – орган, що морфофункціонально відрізняється від печінки щуки. Чим обумовлений вибір терміна «печінка» у дисертаційній роботі? Чи вважаєте Ви доцільним використовувати точніший термін «гепатопанкреас» для коректного відображення анатомічних особливостей об'єкта дослідження?

7. У вступі (с. 26) використано словосполучення: «У зв'язку зі зростанням попиту на важкі метали, водні екосистеми опиняються під загрозою їх забруднення». Враховуючи, що термін «важкі метали» є радше токсикологічним, а «попит» стосується економіки та промислового виробництва, чи не вважаєте доцільнішим використання словосполучення «кольорові метали» або «метали промислового значення», щоб точніше передати суть явища? Яким чином обґрунтовуєте використання терміна «важкі метали» у цьому контексті?

8. У тексті дисертації спостерігається неконсистентне вживання латинської назви форелі: на стор. 64 – триніоміальна *Salmo trutta fario* (струмкова форель), а на стор. 68 – біноміальна, *Salmo trutta* (річкова форель). Враховуючи, що *Salmo trutta fario* є підвидом *Salmo trutta*, чи не вважаєте за необхідне уточнити, про який саме таксон йдеться у роботі, і уніфікувати номенклатуру у відповідності до об'єкта цитування чи порівняння? Бажано дотримуватись однієї форми подання інформації про назву виду.

9. У тексті дисертації спостерігається неспослідовне використання курсиву при поданні латинських (біноміальних) назв видів риб. Наприклад:

– стор. 9: «In model conditions, the morphometric and biochemical indicators of crucian carp (*Carassius gibelio* Bloch.) and pike (*Esox lucius* L.)» – подано без курсиву;

– стор. 44: *Oncorhynchus mykiss* – без курсиву;

– стор. 46, 88: *Danio rerio* – без курсиву.

10. У тексті дисертації (стор. 77) зазначено, що попередні дослідження проводилися на *Carassius carassius* – золотому карасі, який занесений до Червоної книги України як вид, що зникає. Чи можете Ви підтвердити, що в дослідженнях дійсно використовувався саме цей вид, а не поширеніший сріблястий карась (*Carassius gibelio*)? Якщо мова йде саме про *Carassius carassius*, чи було отримано дозвіл на роботу з червонокнижним видом, та чи проходили ці дослідження погодження з відповідними природоохоронними і біоетичними структурами?

11. На стор. 95 дисертації зазначено, що «показники сироватки крові у молоді креветки (*Litopenaeus vannamei*) поліпшувалися за дії солей двовалентного кобальту». Водночас, як відомо, у креветок, як і в інших ракоподібних, відсутня система кровообігу у вигляді замкнених судин, а замість крові функціонує гемолімфа. Чи не вважаєте, що термін «сироватка крові» некоректним у цьому контексті? Чи доречніше було б використовувати означення «гемолімфа» або «показники гемолімфи», щоб забезпечити анатомо-фізіологічну точність викладу?

Наведені запитання та побажання не зменшують наукової цінності дисертаційної роботи в цілому та носять виключно дискусійний та рекомендаційний характер.

Дисертаційна робота Вовчек Наталії Олександрівни «Морфологічні та біохімічні показники прісноводних риб за дії іонів кобальту» оформлена відповідно до вимог «Про затвердження вимог до оформлення дисертації», затвердженого наказом Міністерства освіти і науки України №40 від 12 січня 2017 року. На підставі проведеного аналізу можна зробити висновок, що за своєю актуальністю, значним обсягом виконаних досліджень, науковою новизною, достовірністю одержаних результатів, обґрунтованістю висновків, практичним значенням та оформленням відповідає вимогам «Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії», затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України №44 від 12 січня 2022 року та «Про внесення змін до деяких постанов Кабінету Міністрів України з питань підготовки та атестації здобувачів наукових ступенів», затвердженої Постановою Кабінету Міністрів України №502 від 19 травня 2023 року, а її авторка заслуговує на присвоєння ступеня доктора філософії зі спеціальності 091 Біологія.

Офіційний опонент
Проректор з наукової роботи
Дніпровського національного університету
імені Олеся Гончара
кандидат біологічних наук, доцент

Маренков О.М.

