

## ВІДГУК

офіційного опонента кандидата біологічних наук,  
старшого наукового співробітника Коновця Ігоря Миколайовича  
на дисертаційну роботу **Хатіба Іхаба**  
**«Фізіолого-біохімічні механізми адаптації коропових риб на прикладі**  
***Danio rerio* до впливу органофосфатних та триазинових пестицидів»,**  
подану на здобуття наукового ступеня доктора філософії в галузі знань 09  
«Біологія» (спеціальність 091 – «Біологія»).

Актуальність теми дослідження, її зв'язок з науковими програмами, планами, темами, грантами.

Дисертаційна робота Хатіба І. присвячена одній з пріоритетних екологічних проблем – дослідженню толерантності організму риб до негативної дії фосфорорганічних пестицидів та s-хлоротриазинів за умов індивідуальної та сумісної експозиції. Відомо, що хлорпірифос, гліфосат та тербутилазин, а також їх метаболіти, що утворюються внаслідок хімічного та біологічного перетворення в водних екосистемах, все частіше виявляються у зразках води і донних відкладів. Відсутність даних щодо можливих адитивних і синергічних ефектів цих забруднювачів значно ускладнює передбачення їх впливу на живі організми і оцінку ризику негативної дії. Оскільки риби є досить ефективними індикаторами довготривалих токсичних впливів за різноманітних змін умов середовища існування завдяки високій чутливості, здатності до акумуляції токсикантів та відносно тривалому періоду життя, дослідження порушень у протіканні молекулярних та біохімічних процесів дозволяє визначити негативні ефекти фосфорорганічних пестицидів та s-хлоротриазинів в екологічно релевантних концентраціях як на організмовому, так і популяційному рівні.

Робота виконувалась у межах проекту «Розробка методології інтегральної оцінки біобезпеки забруднення оточуючого середовища пестицидами для цільових та нецільових організмів» (10.2020–12.2022),

конкурсу «Підтримка досліджень провідних та молодих учених», НФДУ, керівник – Фальфушинська Г.І. №90/02/0270 0120U104364.

#### Наукова новизна результатів дослідження.

Встановлено, що важливими механізмами негативної дії фосфорорганічних пестицидів та хлоротриазинів на коропових риб є окисний і карбонільний стрес, що супроводжується розладами у функціонуванні ендокринної та імунної систем. Показано, що хлорпірифос є сильнішим прооксидантом у порівнянні з гліфосатом, про що свідчить вищий рівень накопичених продуктів окисної деструкції ліпідів та протеїнів при значно нижчих концентраціях. При цьому проявляються ознаки цитотоксичної дії та ураження лізосомальних і мітохондріальних мембран. Доведено, що гліфосат в екологічно релевантній концентрації викликає у *Danio rerio* гормезисну відповідь, спрямовану на активацію захисних сил організму, знешкодження активних форм радикалів, видалення продуктів окисного ушкодження та активацію детоксикаційних процесів. Виявлено, що поєднання тербутилазину і малатіону призводить до найбільш істотного карбонільного стресу. З'ясовано, що фосфорорганічні та триазиновий пестициди викликають у *Danio rerio* ознаки морфо-функціональних порушень мітохондрій та лізосом. Ці порушення є універсальними незалежно від природи діючого чинника і пов'язані зі змінами у проникності мембран, розладами ланцюга транспорту електронів, розвитком псевдо-гіпоксичного стану та надмірною генерацією активних форм кисню, які в свою чергу на вищих рівнях біологічної організації можуть проявлятися як метаболічні та імунні розлади.

#### Практичне значення отриманих результатів.

Одержані результати дають можливість обрати оптимальний набір показників для ідентифікації та визначення ризиків забруднення водних екосистем пестицидами. Цей набір включає показники імунної системи (IgM), ендокринних розладів (вітелогенін Vtg), репарації ДНК (RAD51) та цитотоксичності (LDH) на першому етапі, з можливістю подальшої



деталізації оцінки стану організму за показниками окисного стресу (ТБК-АП, Nrf2, загальної антиоксидантної здатності, GSSG), стрес-гормону кортизолу та ключового ензиму апоптозу Cas3.

### Обґрунтованість наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації.

Теоретичною основою дослідження послуговували фундаментальні положення та наукові праці вітчизняних і зарубіжних вчених у галузі екологічної фізіології та водної токсикології. Наукові положення висвітлені в роботі є достатньо обґрунтованими та достовірними, змістовними і несуперечливими. Наукові положення дисертації викладено в логічній послідовності та всебічно обґрунтовані. Висновки є логічним завершенням і загальним підсумком здійснених автором досліджень. Зміст дисертації Хатіба І. свідчить про достатнє володіння автором методами математичної статистики (кореляційний, дисперсійний, регресійний аналізи, теплова матриця), що дозволило провести глибокий аналіз отриманих даних. Зазначене дозволяє зробити висновок про обґрунтованість і достовірність, представлених у роботі наукових положень висновків і рекомендацій, про високий науковий рівень та наукову підготовленість здобувача.

### Структура роботи.

Структура та обсяг дисертаційної роботи Хатіба І., що рецензується, обумовлені метою та завданнями дослідження. Дисертація викладена на 186 сторінці комп'ютерного набору, містить дві анотації (українською та англійською мовами), вступ, огляд літератури, опис матеріалів та методів досліджень, результати роботи та їх обговорення, аналіз та узагальнення результатів, висновки та перелік використаних джерел. Роботу проілюстровано 38 рисунками та 5 таблицями. Бібліографічний список складає 294 джерел, з них 292 – англійською мовою.

Дисертація написана послідовно за формально-логічною структурою з дотриманням наукового стилю викладення в ній матеріалів досліджень, наукових положень та висновків, що забезпечує доступність їх сприйняття.

В огляді наукової літератури розглянуті сучасні дані щодо забруднення природних водойм фосфорорганічними та триазиновими пестицидами, особливостям біоаккумуляції та впливом цих широко використовуваних пестицидів на рибу. Важлива увага приділяється окисному та карбонільному стресу як основним неспецифічним негативним проявам цього впливу, токсичній дії на мітохондрії та лізосоми, ендокринним розладам, спричиненим пестицидами. Літературний огляд є інформативним і логічно пов'язаним з завданнями дослідження.

Розділ 2 «Матеріали і методи» є деталізованим і добре відображає практичні процедури з постановки лабораторних експериментів та статистичного аналізу. Дисертант використав широкий арсенал сучасних біохімічних та клітинно-біологічних методів. Масиви даних опрацьовано за допомогою широкого спектру методів математичної статистики, що дозволило зробити достовірні узагальнення. Авторкою застосовані перевірені класичні методи токсикологічного, біохімічного, фізико-хімічного та математичного аналізу.

У розділі 3 «Аналіз реакцій молекулярних стресорних систем, цитотоксичності та метаболічного арешту у тканинах даніо за впливу екологічно реальної (15 та 0,1 мкг/л) та субтоксичної (500 та 3 мкг/л) концентрацій раундапу та хлорпиріфосу» подаються результати експериментальних досліджень, які стосуються впливу екологічно релевантних і субхронічних концентрацій гліфосату та хлорпиріфосу на метаболічні процеси в тканинах *Danio rerio*, реакцію молекулярних стресорних систем та прояви цитотоксичних ефектів. На основі отриманих даних напрацьований методологічний підхід до оцінки меж толерантності коропових риб до впливу фосфорорганічних пестицидів, який включає інтегральний набір фізіологічних і молекулярних маркерів. Стрес-тестування дозволило диференціювати особливості життєвого статусу організму залежно від природи діючого чинника та прогнозувати рівень толерантності до новітніх викликів.



Розділ 4 «Мультибіомаркерна оцінка стресорних систем, цитотоксичності та метаболічного арешту у тканинах даніо за впливу екологічно реальних та субтоксичних концентрацій малатіону та тербутилазину» присвячений реакції організму риб за дії цих токсикантів на систему антиоксидантного захисту, інтенсивність метаболічних процесів у печинці, прояви цито- та генотоксичної дії. Показано, що тербутилазин та малатіон у екологічно релевантних концентраціях здійснюють суттєвий вплив на стан системи антиоксидантного захисту, морфологічні та функціональні показники мітохондрій та лізосом, а також імунітет, що відображається в активації апоптозу та аутофагії. За збільшення концентрації пестицидів у середовищі посилюються ознаки цитотоксичності в крові риб та спостерігається дисбаланс між вмістом анти- та прооксидантних речовин.

П'ятий розділ узагальнює одержані результати. Показана провідна роль показників окисного стресу як маркерів впливу гербіцидів та інсектицидів класу органофосфатів та триазинів на організм коропових риб.

Одержані Хатібом І. дані ґрунтовно проаналізовані, обговорені, пов'язані з літературними джерелами. Висновки дисертації повністю витікають з експериментальних даних.

#### Академічна доброчесність.

Ознак порушення автором академічної доброчесності, зокрема випадків оприлюднення, частково або повністю, наукових результатів, отриманих іншими особами, як результатів власного дослідження або відтворення опублікованих текстів інших авторів без зазначення їх авторства не виявлено.

#### Повнота викладу результатів дисертації в опублікованих працях.

Хочеться відмітити значну кількість публікацій автора. За матеріалами дисертаційного дослідження опубліковано 13 наукових праць, в тому числі 4 статті у виданнях, які індексуються у наукометричними базами даних Scopus та/або WoS, 3 – у фахових виданнях категорії «Б», 5 матеріалів і тез доповідей на з'їздах і конференціях, а також деклараційний патент на

корисну модель. Дисертаційна робота написана змістовно, літературною мовою, стиль викладення матеріалу науковий, думки висловлені логічно та послідовно. Дисертаційна робота Хатіба І. є цілісним, завершеним дослідженням. Усі наукові публікації відповідають пунктам 8, 9 Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії, затверджено постановою Кабінету Міністрів України від 12 січня 2022 р. №44 (зі змінами від 21.03.2022 №341).

#### Особистий внесок здобувача.

Автором самостійно здійснювався підбір та аналіз літератури з обраної тематики, підготовка лабораторних дослідів, постановка та виконання методик дослідження, опрацювання отриманих даних. Проведення експерименту здійснювалось спільно з іншими співробітниками лабораторії, які аналізували спектр показників, не включений у зміст дисертації. Внесок учасників експерименту відображений у публікаціях.

#### Дискусійні положення й зауваження щодо змісту та оформлення дисертації.

Загалом позитивно оцінюючи дисертацію, відзначаючи її належний науковий рівень і наголошуючи на позитивних аспектах дослідження, можна висловити деякі зауваження і вказати на такі дискусійні моменти.

1. У «Матеріалах та методах» бажано було би деталізувати протокол приготування розчинів досліджених речовин, а саме вказати чи чисті діючі речовини, або які препаративні форми пестицидів були використані.
2. Автор не розділяє терміни «раундап» і «гліфосат», хоча перший є торгівельною маркою (препаративна форма), а другий – діючою речовиною, яка у свою чергу може мати суто кислотну і декілька сольових форм. Бажано було би вказати що використовувалося в дослідженнях.
3. В тексті роботи зустрічаються невідомі або неприйнятні у вітчизняній літературі вирази на кшталт «метаболічний арешт», «субтоксична концентрація» тощо.

Зазначені зауваження не зменшують загальну високу оцінку дисертації.



## **Висновок про відповідність роботи встановленим вимогам МОН України.**

Дисертаційна робота Хатіба І. «Фізіолого-біохімічні механізми адаптації коропових риб на прикладі *Danio rerio* до впливу органофосфатних та триазинових пестицидів», подана на здобуття наукового ступеня доктора філософії в галузі знань 09 «Біологія» (спеціальність 091 – «Біологія») є завершеним дослідженням, яке містить низку нових, актуальних та достовірних результатів, що спрямовані на вирішення актуального наукового завдання – дослідженню впливу фосфорорганічних пестицидів та хлоротриазинів на функціональний стан та ключові параметри окисного стресу, біотрансформації ксенобіотиків, нейро-ендокринної та імунної систем, а також морфо-функціональні характеристики мітохондрій та лізосом риб. Виконана робота дає основу для розробки протоколу визначення інтегральної оцінки біобезпеки забруднення середовища пестицидами за допомогою мінімального набору біомаркерів, який включає показники імунної системи, ендокринних розладів, репарації ДНК та цитотоксичності у тканинах риб. Під час аналізу дисертаційної роботи випадків порушення академічної доброчесності не було виявлено. За актуальністю проблем, що вирішувалися, обсягом отриманих даних, ґрунтовністю їх аналізу, а також науково-теоретичним та практичним значенням, дисертаційне дослідження Іхаба Хатіба на тему «Фізіолого-біохімічні механізми адаптації коропових риб на прикладі *Danio rerio* до впливу органофосфатних та триазинових пестицидів» відповідає та вимогам «Порядку підготовки здобувачів вищої освіти ступеня доктора філософії та доктора наук у вищих навчальних закладах (наукових установах)», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 23 березня 2016 року №216 (зі змінами і доповненнями від 03 квітня 2019 року №283), пунктам 5–7 «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 від 12 січня 2022 р. № 44, а дисертант Іхаб Хатіб заслуговує на присудження

наукового ступеня доктора філософії з галузі знань 09 – «Біологія» за спеціальністю 091 – «Біологія».

**Офіційний опонент:**

кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник,  
завідувач лабораторії біологічно активних сполук (ЦККП)  
відділу екологічної фізіології гідробіонтів та біотехнології  
Інституту гідробіології НАН України

09.07.2024 р.

  
Підпис засвідчує  
Вчений секретар  
«09» 07 2024 Коновець І. М.  
