

## **ВІДГУК ОФІЦІЙНОГО ОПОНЕНТА**

доктора біологічних наук, професора

**Курбатової Інни Миколаївни**

на дисертаційну роботу

**Хатіба Іхаба**

**«Фізіолого-біохімічні механізми адаптації коропових риб на прикладі *Danio rerio* до впливу органофосфатних та триазинових пестицидів»,**  
представлену до захисту на здобуття ступеня доктора філософії з галузі знань  
09 Біологія зі спеціальності 091 Біологія

### **Актуальність теми дисертаційної роботи.**

Хімічне забруднення визнано головним ризиком для водних екосистем, а його контроль і нівелювання є ключовими завданнями для досягнення відповідного рівня екологічних та токсикологічних показників стану європейських водойм, згідно з вимогами Водної рамкової. Пестициди є типовими забруднювачами, які потрапляють у водне середовище через своє широке використання в сільському господарстві та в домашніх умовах для боротьби з бур'янами, хворобами та шкідниками. У всьому світі ~ 64% сільськогосподарських вододілів знаходяться під загрозою забруднення пестицидами з, як мінімум, кількома діючими інгредієнтами.

Зі збільшенням різноманітності агрохімікатів забруднення води змінюється від домінування одного активного інгредієнта до комплексного забруднення кількома агентами. Багато хімічних і фізичних стресорів демонструють комбіновані ефекти, які можуть бути більшими (синергія) або нижчими (антагонізм), ніж сума ефектів, передбачених моделями одного. Незважаючи на важливість неадитивних взаємодій складних сумішей забруднюючих речовин, більшість стандартизованих критеріїв якості води та протоколів оцінки ризику зосереджуються на токсичності окремих хімічних речовин. Незважаючи на те, що неможливо перевірити всі можливі комбінації

агрохімікатів, зосередження на інтерактивних ефектах і базових токсичних механізмах поширених супутніх забруднювачів, таких як органофосфатні та триазинові пестициди, може надати важливу інформацію для покращення оцінки екологічних ризиків для прісноводних екосистем, які постраждали в наслідок сільськогосподарської діяльності. Оцінка забруднювачів на основі біологічного впливу є особливо важливою через її вищу чутливість, менші витрати та покращену прогностичну силу оцінки ризику порівняно з хімічним моніторингом, а використання біомаркерів і видів біоіндикаторів дає пряме уявлення про біологічно релевантні реакції на забруднювачі та пов'язані з ними небезпеки для навколишнього середовища та здоров'я людини. Тому актуальність роботи не викликає сумнівів.

### **Наукова новизна та зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.**

У ході виконання роботи здобувачем встановлено, що у *D. rerio* окисний і карбонільний стрес поряд із розладами ендокринної та імунної систем є важливими механізмами токсичності фосфорорганічних пестицидів та триазинів. Доведено, що хлорпірифос при значно нижчих тестових концентраціях є сильнішим прооксидантом для смугастого даніо у порівнянні з раундапом відповідно до вищого рівня накопичених продуктів окисної деструкції ліпідів та протеїнів, за низкою ознак цитотоксичності (напр. вихід лактатдегідрогенази у кров) та ураження лізосомальних і мітохондріальних мембран. Також доведено, що раундап в екологічно реальній концентрації викликає у даніо 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 у даніо. З'ясовано, що фосфорорганічні та триазиновий пестициди викликають у даніо ознаки морфо-функціональних порушень

мітохондрій та лізосом, як універсальну відповідь, незалежну від природи діючого чинника, пов'язаних із порушеннями 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.

Важливим результатом роботи є те, що на підставі застосування методів машинного навчання вперше визначено мінімальний набір показників для оцінки ризиків пестицидного забруднення для нецільових організмів, який включає на першому етапі показники імунної системи (IgM), ендокринних розладів (вітелогенін Vtg), репарації ДНК (RAD51) та цитотоксичності (LDH), з подальшою деталізацією оцінки стану організму на підставі визначення показників окисного стресу (ТБК-АП, Nrf2, загальної антиоксидантної здатності, GSSG), стрес-гормону кортизолу та ключового ензиму апоптозу Cas3.

Показовим є той факт, що 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, що свідчить про актуальність та науковий проведений досліджень.

### **Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертаційній праці.**

Подані в дисертації наукові положення, результати дослідження та висновки чіткі й обґрунтовані. Опрацьовано значний обсяг сучасної наукової літератури з даної тематики. Наукові положення та висновки дисертанта підтверджуються значним обсягом експериментального матеріалу, отриманого з застосуванням сучасних токсикологічних, біохімічних та фізіологічних

методів досліджень. Особливої уваги заслуговує рівень статистичної обробки даних та використання методів машинного навчання.

### **Значення одержаних дисертантом результатів для науки й практики.**

У результаті підготовки дисертації була проведена комплексна робота з дослідження впливу широковживаних органофосфатних та триазинових пестицидів на фізіолого-біохімічні показники коропоної риби *Danio rerio*. За її результатами підбрано та апробовано мінімальний набір біомаркерів організму даніо для інтегральної оцінки біобезпеки забруднення середовища пестицидами, який включає показники імунної системи (IgM), ендокринних розладів (вітелогенін Vtg), репарації ДНК (RAD51) та цитотоксичності (LDH) у тканинах смугастого даніо. За результатами розробленої схеми використання набору біомаркерів отримано патент України на корисну модель для експрес-діагностики оцінки якості води. У кінцевому результаті це сприятиме зниженню ризиків негативного впливу хімічних речовин на біорізноманіття, популяції тварин та стан здоров'я людини.

### **Повнота оприлюднення й викладення результатів в опублікованих працях.**

Належною й переконливою вважаємо апробацію роботи. За матеріалами дисертаційного дослідження опубліковано 7 праць, в тому числі 4 статті у фахових виданнях, які індексуються у наукометричних базах даних Scopus та/або WoS, 5 матеріалів і тези доповідей на з'їздах та конференціях, 1 патент на корисну модель. Індекс Гірша згідно з наукометричною базою даних Scopus – 4 (author ID:57223683104)..

### **Структура та обсяг дисертації.**

Дисертація викладена на 187 сторінках комп'ютерного набору, складається зі вступу, огляду літератури, опису матеріалів і методів досліджень, отриманих

результатів (2 розділи), аналізу та узагальнення результатів досліджень, висновків та списку використаних джерел. Робота містить 38 рисунків, 5 таблиць. Бібліографічний список складає 290 джерел.

У «Вступі» дисертант показує актуальність роботи, стисло висвітлює сучасний стан вивченості теми, обґрунтовує необхідність виконання роботи, чітко формулює мету та завдання досліджень, вказує наукову новизну, практичне значення і апробацію результатів, наведених у дисертації, її обсяг і структуру.

У Розділі І «Огляд літератури» здобувач з використанням конкретних прикладів описує просторове поширення широко використовуваних пестицидів у водоймах та порівнює активність і нормованість їх використання в різних країнах. У наступних підпунктах розділу описує особливості біоаккумуляції і метаболізму органофосфатних та триазинових пестицидів в організмі риб. Вважаємо за необхідне відзначити опрацювання значної кількості наукової літератури, яка безпосередньо стосується досліджуваної теми, що вказує на високу обізнаність та наукову відповідальність автора.

В розділі 2 «Матеріали та методи дослідження» детально описано дизайн експерименту, умови утримання риб та проведення досліджень. Наведена вся необхідна інформація стосовно методів визначення параметрів антиоксидантно-прооксидантної системи, цито- і нейротоксичності, метаболічного стану та біотрансформації; маркерів ендокринних розладів, апоптозу й аутофагії. Вичерпно охарактеризовано математичні методи, які застосовувалися для обробки одержаних даних.

У Розділі 3 «Аналіз реакцій молекулярних стресорних систем, цитотоксичності та метаболічної відповіді у тканинах данію за впливу раундапу та хлорпірифосу» проаналізовано вплив вказаних агрохімікатів на стан антиоксидантної, імунної та гормональної систем досліджуваних тварин та проведено оцінку рівня експресії таргетних генів. На основі одержаних результатів проведено інтегральний аналіз даних з метою визначення

критичних точок впливів.

Розділ 4 «Мультибіомаркерна оцінка стресорних систем, цитотоксичності та метаболічної відповіді у тканинах даніо за малатіону та тербутилазину» відображає наслідки дії даних пестицидів на фізіологічні, біохімічні та генетичні показники в організмі риб. Автор виокремлює основні механізми, які задіюються тваринами для трансформації ксенобіотиків як за умови їх поокремої дії, так і при комбінаціях.

Розділ 6 «Аналіз та узагальнення результатів дослідження» є заключним, де Хатіб І. підбиває підсумки дослідження та узагальнює одержані результати. За допомогою методів машинного навчання він встановлює мінімальний набір біомаркерів, які з високим рівнем вірогідності дозволяють визначити природу діючого пестициду та ступінь ураження організму. До мінімального набору входять показники імунної системи (IgM), ендокринних розладів (вітелогенін), репарації ДНК (RAD51) та цитотоксичності (лактатдегідрогеназа). Проте автор зазначає, що для більш детального аналізу важливим є визначення показників окисного стресу (рівень пероксидації ліпідів, Nrf2, загальної антиоксидантної здатності, окисненого глутатіону), стрес-гормону кортизолу та ключового ензиму апоптозу каспази 3.

Висновки сформульовані конкретно, логічно випливають зі всього змісту роботи та віддзеркалюють її суть.

Список використаних джерел оформлений згідно з чинними вимогами і включає 290 джерел, переважаючу більшість яких складають англomовні статті у рецензованих виданнях.

Рецензована робота написана змістовно, літературною мовою, стиль викладення матеріалу науковий, думки висловлені логічно та послідовно.

### **Дискусійні положення та зауваження до змісту дисертації.**

1. Доцільно навести загальну схему дослідження.

2. За якими показниками контролювали гідрохімічний склад води та які методи при цьому використовували.

3. Як автор може пояснити зміни морфологічного стану мітохондрій гепатоцитів рибок *Danio Rerio*.

4. Чому токсичність тебутилазину вища за токсичність раундапу.

5. Доцільно уточнити серед наведених показників головні критерії оцінки екологічного стану водойм при забрудненні досліджуваними пестицидами.

6. В роботі зустрічаються невдалі вирази та опечатки.

### **Відсутність (наявність) порушень академічної доброчесності.**

Аналіз дисертацій та наукових публікацій Хатіба І. свідчать про сумлінне та відповідальне ставлення здобувача до виконання роботи та не дає підстав припускати, що в них мають місце порушення академічної доброчесності. Це підтверджується довідкою про перевірку дисертації на плагіат. Використана інформація із зовнішніх джерел містить посилання на них відповідно до норм законодавства про авторське право й суміжні права.

### **Висновок.**

Підсумовуючи вищесказане вважаємо, що дисертаційна робота «Фізіолого-біохімічні механізми адаптації коропових риб на прикладі *Danio rerio* до впливу органофосфатних та триазинових пестицидів» є завершеним самостійним науковим дослідженням, в якому вирішено конкретну наукову проблему, що має практичне значення, і відповідає вимогам постанови Кабінету Міністрів України від 12 січня 2022 року № 44 «Про затвердження Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії» (зі змінами) та сучасним вимогам до оформлення дисертацій, затвердженими наказом Міністерства освіти і науки України від 12 січня 2017 р. № 40 (зі змінами від 12 липня 2019 року), а її автор

Хатіб Іхаб заслуговує на присудження йому наукового ступеня доктора філософії з галузі знань 09 Біологія зі спеціальності 091 Біологія.

**Офіційний опонент**

доктор біологічних наук, професор,  
професор кафедри біології тварин  
Національного університету біоресурсів  
і природокористування України



**Інна КУРБАТОВА**

