

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу **ІХАБА ХАТІБА**
на тему: «**ФІЗІОЛОГО-БІОХІМІЧНІ МЕХАНІЗМИ АДАПТАЦІЇ**
КОРОПОВИХ РИБ НА ПРИКЛАДІ *DANIO RERIO* ДО ВПЛИВУ
ОРГАНОФОСФАТНИХ ТА ТРИАЗИНОВИХ ПЕСТИЦИДІВ»

представленої на здобуття наукового ступеня
доктора філософії за спеціальністю 091 – Біологія.

Актуальність теми. Пестициди, потрапляючи в організм людини і накопичуючись там у великих кількостях, приводять до розвитку багатьох хронічних захворювань і гострих отруєнь, а також до збільшення кількості вроджених аномалій розвитку і дитячої смертності. Ще однією негативною властивістю пестицидів є те, що вони можуть виводитися з організму і передаватися дітям разом з молоком матері, що годує.

Пестициди є не тільки дуже токсичними речовинами, але і досить стійкими. Стійкість пестицидів порівнюють із радіоактивними ізотопами і оцінюють також по періоду напіврозпаду — час, за який концентрація пестицидів зменшується в 2 рази. Самими стійкими є хлорорганічні, органофосфатні та триазинові пестициди.

Найнебезпечнішими вважаються пестициди, зроблені з рослин, типу інсектициду піретруму. Пестициди викликають багато проблем, пов'язаних із забрудненням, оскільки при розпиленні можуть потрапляти на навколишню територію, на людей і накопичуватися в ґрунті і корисних рослинах. Визначення їх рівня в навколишньому середовищі є однією з актуальних задач що постає перед сучасною наукою.

У зв'язку з цим дисертаційна робота **Хатіба Іхаба** на тему: «**Фізіолого-біохімічні механізми адаптації коропових риб на прикладі *Danio rerio* до впливу органофосфатних та триазинових пестицидів»**, є актуальною та має

теоретичне та практичне значення для лабораторної діагностики та для інтегральної оцінки біобезпеки забруднення середовища пестицидами.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.

Дисертаційна робота є частиною наукового проєкту «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, №90/02/0270 0120U104364.

Ступінь обґрунтованості наукових положень.

Метою дисертаційної роботи дослідити відповідь стресочутливих систем рибки *Danio rerio* та встановити ліміти толерантності організму до впливу фосфорорганічних пестицидів та s-хлоротриазинів залежно від концентрації та поєданого впливу суміші пестицидів.

Досягнення мети дисертант отримав шляхом поставлених та сформульованих п'яти пунктів наукових *задач* стосовно наукової тематики: Оцінити стан антиоксидантно-прооксидантної системи коропоної риби *Danio rerio* за впливу фосфорорганічних пестицидів та s-хлоротриазинів. Визначити вплив фосфорорганічних пестицидів та s-хлоротриазинів на показники імунної та ендокринної системи і енергетичного забезпечення у тканинах смугастого даніо. Дослідити морфо-функціональні характеристики мітохондрій та лізосом даніо. Оцінити ефективність системи антиоксидантного захисту, детоксикації та репаративних процесів у клітинах даніо. За допомогою загальних статистичних лінійних моделей та методів машинного навчання визначити мінімальний набір біомаркерів для оцінки ризиків забруднення довкілля фосфорорганічними пестицидами та s-хлоротриазинами для нецільових організмів та обґрунтувати переваги комплексно аналізу перед визначеннями специфічних біомаркерів їх впливу.

Для виконання роботи здобувачем було застосовані різноманітні та сучасні *методи досліджень*: спектрофотометричні, флуоресцентні, імуноферментні, полімеразна ланцюгова реакція в реальному часі, статистичні методи та методи машинного навчання.

Обрані методики, що застосовувалися для виконання дисертаційної роботи відповідають меті та завданням, поставленим перед здобувачем і дають можливість провести дослідження з використанням сучасних методів на високому науковому рівні.

Висновки дисертаційної роботи повністю обґрунтовані і відповідають отриманим результатам власних досліджень.

Науковою новизною дисертаційної роботи Хатіба Іхаба є встановлені дані що у *D. rerio* окисний і карбонільний стрес поряд із розладами ендокринної та імунної систем є важливими механізмами токсичності фосфорорганічних пестицидів та хлоротриазинів. Доведено, що хлорпірифос є сильнішим прооксидантом для смугастого данію у порівнянні з раундапом відповідно до вищого рівня накопичених продуктів окисної деструкції ліпідів та протеїнів при значно нижчих тестових концентраціях хлорпірифосу, ніж раундапу, низкою ознак цитотоксичності (напр. вихід лактатдегідрогенази у кров) та ураження лізосомальних і мітохондріальних мембран. З'ясовано, що фосфорорганічні та триазиновий пестициди викликають у данію 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. На підставі застосування методів машинного навчання вперше визначено мінімальний набір показників для оцінки ризиків пестицидного забруднення для нецільових організмів.

Важливість для науки і народного господарства одержаних автором дисертації результатів, рекомендацій щодо їх використання.

Автором вперше в Україні запропоновано 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 способів оцінки якості води.

Дисертаційна робота *Хатіба Іхаба* є завершеною науковою працею, виконаною відповідно до поставленої мети та завдань.

Повнота викладання результатів дисертації в опублікованих працях, їх кількість та якість.

Матеріали дисертації доповідались та обговорювались 4 конференціях різного рівня.

Основні положення за темою дисертаційної роботи викладені в 7 працях, в тому числі 4 статтях у фахових виданнях, які індексуються у наукометричних базах даних Scopus та/або WoS, 5 матеріалах і тез доповідей на конференціях, 1 патент на корисну модель.

Особистий внесок у розв'язанні наукової проблеми чи у вирішенні конкретного наукового завдання. Матеріали дисертаційної роботи *Хатіба Іхаба* є корисними та актуальними для науковців та спеціалістів задіяних в сфері біології та екології.

Наукові положення, висновки й пропозиції, логічно сформульовані у дисертації, обґрунтовані і впливають з отриманих результатів.

Хатіб Іхаб особисто провів аналіз літературних джерел за тематикою дисертаційного дослідження, за участі співавторів наукових публікацій

здійснив підготовку та проведення експериментальних досліджень, а також самостійно провів науковий аналіз та інтерпретацію отриманих результатів, сформував висновки.

Аналіз змісту дисертації та її методичний рівень. Основний зміст дисертації викладено на 186 сторінці 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 294 джерел, з них 292 – англійською мовою.

Аналіз структури дисертаційної роботи дає змогу зробити висновок, що у ній представлені усі необхідні розділи.

Зокрема, у **вступі** чітко і послідовно описані питання мети і завдань досліджень, об'єкт і предмет досліджень, наукова новизна і практичне значення одержаних результатів, особистий внесок здобувача, публікації автора (ст. 16-23).

Розділ 1. Огляд літератури включає 4 підрозділи дисертації (ст. 24–59), а саме: просторове поширення широко використовуваних пестицидів у водоймах; біоаккумуляція фосфорорганічних та триазинових пестицидів у риби; вплив фосфорорганічних та триазинових пестицидів на риби

Огляд літератури написаний автором грамотно, логічно і послідовно. В огляді літератури наведені дані останніх досліджень за темою дисертації.

Зазначимо, що результати експериментів та висновки багатьох дослідників, що вивчали ці питання, ґрунтовно проаналізовані й лаконічно викладені.

Розділ 2. Матеріали та методи виконання роботи (ст. 60–69).

У даному розділі автором викладено обґрунтовані шляхи досягнення поставленої мети. Дотримуючись методичної і логічної послідовності,

дисертант розробив схеми проведення експериментальних досліджень. У цьому розділі описано основні методики досліджень, які є як сучасними, так і класичними. Це дало можливість автору отримати об'єктивний науковий матеріал. Проведено комплекс досліджень, що сприяє глибокому розкриттю основних положень дисертації і свідчить про продуману концепцію роботи. В даному розділі описуються умови утримання дослідних риб, методи біохімічних досліджень, що склалися з наступних підпунктів: визначення показників антиоксидантно-прооксидантної системи, показників системи антиоксидантного захисту, визначення активних форм кисню та показників окисного ушкодження, цито- та нейротоксичності, маркерів апоптозу та аутофагії, показників метаболічного стану та біотрансформації, маркерів ендокринних розладів, проведення ПЛР та математичних методів обробки даних.

Розділ 3. (ст. 70-93). Третій розділ присвячений аналізу реакцій молекулярних стресорних систем, цитотоксичності та метаболічного арешту у тканинах даніо за впливу екологічно реальних та субтоксичних концентрацій досліджуваних пестицидів у суміші та окремо.

Здобувач описує стан системи антиоксидантного захисту печінки; стан лізосом та мітохондрій гепатоцитів, стан імунної, гормональної та біотрансформаційної систем, прояви цито- та генотоксичності у тканинах, експресію таргетних генів у печінці; інтегральний аналіз реакцій даніо за впливу гербіцидів та інсектицидів. В кінці кожного підпункту здобувач порівнює свої дані з аналогічними даними отриманими іншими дослідниками.

Розділ 4. (ст. 94-114). Четвертий розділ присвячений мультибіомаркерній оцінці стресорних систем, цитотоксичності та метаболічної відповіді у тканинах даніо за впливу екологічно реальних та субтоксичних концентрацій малатіону та тербутилазину. Даний розділ також містить порівняння результатів власних досліджень з результатами отриманими іншими авторами.

Розділ 5. (ст. 115-147). В п'ятому розділі здобувач здійснив аналіз та узагальнення результатів досліджень. У цьому розділі автор проводить логічно вибудований, глибокий та всебічний аналіз і обговорення одержаних результатів, а також порівняння з результатами одержаними іншими науковцями. Описує питання окисного стресу, деструктивних змін мітохондрій та лізосом гепатоцитів, прояви цито- та генотоксичності даніо за впливу гербіцидів та інсектицидів.

Завершується дисертаційна робота розділом «**Висновки**» (ст.148-149), де в 8 пунктах лаконічно сформульовані основні висновки по роботі.

Загальна оцінка суті дисертації, її цінність та недоліки за змістом та оформленням. Дисертаційна робота *Хаміба Іхаба* на тему: «**Фізіолого-біохімічні механізми адаптації коропових риб на прикладі *Danio rerio* до впливу органофосфатних та триазинових пестицидів**», відповідає сучасним вимогам до дисертаційних робіт: проведена значна наукова та організаційна робота, обрана актуальна тема досліджень, наукові дослідження проведені на високому методичному рівні, що дало можливість отримати цінні наукові результати, які мають теоретичне та практичне значення для науковців.

Водночас дисертаційна робота *Хаміба Іхаба* має незначні недоліки, деякі зауваження та побажання:

1. Сторінки в «Змісті» не відповідають сторінкам роботи.
2. Наявні орфографічні помилки та описки с.148, «...лазосомах...», потрібно «...лізосомах...»; с.97 «функціон;альної»... потрібно «...функціональної ...»; с. 70 «...ВІДАОВІДІ...», потрібно «...ВІДПОВІДІ...», с. 18 «...детсрукції ...», потрібно «...деструкції ...», тощо.
3. Бажано б було в «Додатках» привести копію патенту на корисну модель.

У процесі рецензування дисертаційної роботи, виникли деякі питання:

1. Чи наявна у Вас інформація про рівень забруднення водойм України пестицидами?

2. Чому в своїй роботі Ви використали саме на ці комбінації агрохімікатів (раундапу, хлорпірифосу, малатіону та тербутилазину)?

3. В яких органах риби відмічається найбільша біоаккумуляція фосфорорганічних та триазинових пестицидів?

4. Який час потрібен для оцінки стану забруднення пестицидами навколишнього середовища запропонованою Вами системою біомаркерів?

5. В чому переваги запропонованої Вами системи біомаркерів для оцінки ризиків забруднення довкілля фосфорорганічними пестицидами та s-хлоротриазинами для нецільових організмів над існуючими стандартизованими методами?

Відмічене вище зауваження не знижують позитивної оцінки дисертаційної роботи, а поставлені запитання носять уточнюючий та дискусійний характер. Сподіваємось, що висловлені оцінки та зауваження сприятимуть подальшому вдосконаленню знань дисертанта.

Висновок

Дисертантом виконані обґрунтовані дослідження, викладені у послідовній формі та зроблені аргументовані висновки, що впливають з одержаних результатів. Дисертаційна робота *Хаміба Іхаба* на тему: «**Фізіолого-біохімічні механізми адаптації корошових риб на прикладі *Danio rerio* до впливу органофосфатних та триазинових пестицидів**» оформлена згідно з наказом Міністерства освіти і науки України від 12 січня 2017 року №40 «Про затвердження Вимог до оформлення дисертації» та МОН України від 31.05.2019 № 759 зі змінам і доповненнями, є завершеною науково-дослідною роботою, яка за актуальністю обраної теми, науковою новизною, теоретичним та практичним значенням отриманих результатів, рівнем і обсягом

виконаних досліджень, повністю відповідає вимогам, що передбачені Порядком 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 її автор заслуговує присудження освітньо-наукового ступеня доктора філософії галузі знань галузі знань 09 – Біологія за спеціальністю 091 – Біологія.

Офіційний опонент:

доктор ветеринарних наук, професор,
завідувач кафедри вірусології, патанатомії та хвороб птиці,
Сумського національного
аграрного університету

Роман ПЕТРОВ

