

ВИСНОВОК

про наукову новизну, теоретичне та практичне значення результатів дисертації

на тему

«ФІЗІОЛОГО-БІОХІМІЧНІ РЕАКЦІЇ КОРОПОВИХ РИБ НА ВПЛИВ НОВІТНІХ БІОРИЗИКІВ»

здобувачки наукового ступеня доктора філософії

Горин Оксани Ігорівни

з галузі знань 09 – Біологія (спеціальність 091 – Біологія)

Актуальність теми дослідження. Проблема використання і ресурсозбереження прісних вод та водних екосистем є однією з найбільш актуальних в умовах інтенсивного антропогенного навантаження на довкілля. Спостереження останніх років свідчать про те, що гідрохімічний режим прісних водойм, який визначає якість води в них, тісно пов'язаний із концентрацією токсичних метаболітів різних водоростей, і зокрема ціанотоксинів.

Сьогодні у водоймах Європи спостерігається активне поширення ціанобактерій, зокрема представників ряду Ностокові, а також збільшення кількості випадків цвітіння води за їх участі.

Очевидно, що прісноводні водойми з підвищено стабільним температурним режимом забезпечують сприятливе середовище для експансії токсичних видів ціанобактерій на нові території з наступним їх поширенням.

Риб часто використовують для біоіндикації стану водойм. Вони проявляють здатність до накопичення токсикантів, представляють кінцеву ланку водного трофічного ланцюга і є важливим харчовим продуктом. Саме цим питанням присвячена дисертаційна робота Горин О. І., в якій авторка досліджує фізіолого-біохімічні реакції коропових риб як модельної системи щодо впливу на них ціанотоксинів.

Зважаючи на все сказане, актуальність дисертації полягає в оцінці екологічного стану водойм за фізіолого-біохімічними реакціями коропових

видів риб як ставкових представників іхтіофауни цих водойм та найбільш резистентних до несприятливих чинників водного середовища.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертація виконувалася в межах держбюджетних тем МОН України, в яких здобувачка виступала відповідальним виконавцем – «Розробка та валідація нових методів оцінки глобальних та локальних біоризиків довкілля» (2017-2019 рр., № 0117U006801) – та керівником – «Розробка молекулярної тест-системи для оцінки біобезпеки ціанотоксиканів та фармацевтиків» (2020-2022 рр., № 0120 U101544).

Дисертаційна робота Горин Оксани Ігорівни складається зі огляду літератури, опису матеріалів і методів досліджень, результатів роботи та їх обговорення (3 розділи), узагальнень, висновків, списку використаних джерел та 2 додатків. Робота містить 19 рисунків, 7 таблиць. Бібліографічний список складає 302 джерела, з них 284 – англійською мовою.

В огляді літератури авторкою проаналізовано сучасні уявлення про оцінку якості водних екосистем, детально розглянуті питання біомаркерів та їх класифікації. Описано молекулярні механізми адаптації водних тварин до ціанотоксинів та принципи підбору біомаркерів для дослідження їх токсичності.

У розділі 2 показано загальну схему експериментальних досліджень, локалізацію областей дослідження та відбору зразків. Дано детальну характеристику дослідних тварин. Розділ деталізований і описує всі практичні методи біохімічного, фізико-хімічного, токсикологічного аналізу. Експерименти на тваринах проводились у відповідності до Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та наукових цілей. Надзвичайно імпонує глибока статистична обробка результатів (кореляційний, факторний, дискримінантний) з використанням прикладних програм Statistica. 12 та Excel.

У розділі 3 було досліджено наявність *R. raciborskii* та інших ціанобактерій у двох локаціях Західної України – водосховищі Касперівської

гідроелектростанції та ставку-охолоджувачі Хмельницької атомної електростанції. Було встановлено наявність потенційно токсичних штамів родини *Nostocales* у водоймах нижче і вище дамби Касперівської ГЕС. Визначення набору маркерів стресу та токсичності продемонструвало відмінності між популяціями коропових риб з водойм нижче та вище дамби ГЕС та контрольної ділянки. У тварин з обох ділянок зарегульованого ставу було відзначено більш високу частоту еритроцитів з мікроядрами та активацію каспази 3, порівняно з контрольною популяцією. У процесі дослідження було встановлено, що особини *C. auratus*, які жили у водоймі нижче дамби р. Серет, характеризувалися пригніченням реакцій систем антиоксидантного захисту, що проявлялося як зниження активності антиоксидантних ферментів, рівня оксирадикалів та зменшенням ТБК-АП. Авторкою висувається припущення, що на дані показники можуть впливати і синьо-зелені водорості, метаболіти яких є також токсичними для гідробіонтів.

У 4-му розділі роботи досліджується токсичність штамів *Raphidiopsis raciborskii* з водойм Польщі та України з використанням ізольованих гепатоцитів та еритроцитів коропа звичайного. Панель біомаркерів включала показники окисного стресу, клітинного пулу тіолів, пошкодження ДНК та апоптоз як потенційні мішені токсичного впливу ціанотоксинів на організм риб. Авторка довела, що деякі штами *R. raciborskii* можуть виробляти метаболіти, які потенційно здатні впливати на прісноводних риб.

Для розширення розуміння механізмів токсичного впливу циліндропермопсину та розмежування дії токсину й інших метаболітів ціанобактерій авторкою було досліджено аналоги циліндропермопсину. Для перевірки токсичності цих сполук була використана експериментальна модель *in vitro* з використанням гепатоцитів коропа звичайного (*Cyprinus carpio*). Було показано, що токсичність циліндропермопсину є результатом стеричної та функціональної взаємодії гідроксильної та гуанідинової груп, що може бути опосередкована метаболітами альготоксину.

У 5-му розділі роботи проведено дослідження вмісту поліметокси-1-алкенів у харчових добавках хлорели і спіруліни та оцінка токсичності виділених з них ліпофільних фракцій в зв'язку з потенційним ризиком такого шляху отруєння для людини. Для дослідження потенційної токсичності ліпофільних фракцій, отриманих із обраних харчових добавок, використовували дорослих особин *Danio rerio* та оцінювали можливі ознаки окисного стресу, гено- та нейротоксичності в умовах *in vivo*. Авторкою показано, що хоча у препаратах хлорели та спіруліни відсутні тератогенні сполуки класу поліметокси-1-алкенів, деякі дослідні зразки зазначених водоростей викликали прояви цито- та нейротоксичності і впливали на активність холінестерази у *Danio rerio*, що викликає сумніви щодо якості аналізованих біодобавок та безпечності їх вживання.

У розділі 6 дисертантка ґрунтовно аналізує та узагальнює отримані результати. Доведено відмінність захисних механізмів у риб, які активуються метаболітами українських і польських штамів. При цьому історія походження штаму може відігравати ключову роль у визначенні ступеня прояву і механізмів дії токсичних ефектів. На підставі статистичного аналізу встановлено мінімальний набір параметрів, який включає вміст глутатіону, окисних модифікацій протеїнів, рівень ушкодження ДНК та активність глутатіон-S-трансферази і може бути рекомендований для індикації біозагроз водного середовища.

Висновки дисертації логічно витікають з експериментальних даних. Заслугове на увагу опрацювання значної кількості наукової літератури, яка безпосередньо стосується досліджуваної теми. Це свідчить про високу обізнаність, скрупульозність та наукову відповідальність авторки.

Наукова новизна отриманих результатів полягає в тому, що авторкою вперше було встановлено наявність ціанобактерій штамів *Raphidiopsis raciborskii* та *Aphanizomenon gracile*, які є потенційними продуцентами циліндропермопсину, у водоймах Західної України. Обґрунтовано наявність у водоймах, які розміщені нижче та вище дамб ГЕС, метаболітів синьо-зелених

водоростей, які можуть суттєво впливати на життєдіяльність популяцій корокових риб. Показано, що реакції молекулярних маркерів ізольованих клітин коропа *in vitro* свідчать про токсикологічний ризик для прісноводних риб з боку штамів *Raphidiopsis raciborskii*. Продемонстровано, що токсичність циліндропермопсину може бути опосередкована метаболітами альготоксину, на що вказують результати досліджень з використанням його синтетичних аналогів. Досліджено наявність поліметокси-1-алкену у харчових добавках на основі біомаси спіруліни та хлорели та оцінено потенційний тератогенний ефект їх ліпофільних фракцій на ембріонах *Danio rerio*.

Теоретичне та практичне значення представленої дисертації. В дисертації ґрунтовно висвітлена література з досліджуваної тематики. Наукові положення та висновки дисертантки підтверджуються великим обсягом експериментального матеріалу, його глибоким аналізом, застосуванням сучасних токсикологічних, біохімічних та статистичних методів досліджень. На основі цього запропоновано впровадження методології системної оцінки біобезпеки водного середовища на основі використання характеристик молекулярних стресорних та детоксикаційних систем риб. Розроблено алгоритм оцінки рівня біобезпеки на підставі аналізу показників молекулярних, стресорних та детоксикаційних систем прісноводних тварин. Цей алгоритм впроваджено у вигляді науково-практичних рекомендацій та методик у діяльність природоохоронних та водопостачальних організацій в Тернопільській області. Дані рекомендації можуть слугувати важливими інструментами для оцінки наслідків забруднення альготоксинами. Практичні результати дисертації можуть бути цінними для спеціалістів, що працюють у галузі токсикології, екологічної фізіології і біохімії, студентів природничих спеціальностей. Крім того результати досліджень впроваджено в освітній процес на хіміко-біологічному факультеті та факультеті фізичного виховання ТНПУ.

Повнота викладення матеріалів у публікаціях. Результати рецензованої роботи адекватно відображені у публікаціях авторки в провідних наукових

виданнях. За матеріалами дисертаційного дослідження опубліковано 17 праць, в тому числі 5 статей у фахових виданнях, які індексуються у наукометричних базах даних Scopus та/або WoS, розділ колективної монографії, 10 матеріалів і тези доповідей на з'їздах та конференціях, 2 патенти на корисну модель.

ВИСНОВОК

Виходячи із зазначеного, дисертація Горин О.І. є самостійною, завершеною науковою працею, в якій вирішується актуальна конкретна проблема дослідження фізіолого-біохімічних реакції коропових риб на вплив новітніх біоризиків. Дисертанткою досягнуто поставлених теоретичних і практичних завдань, зміст досліджень розкриває проблему, що розглядається, глибина досліджень достатня для обґрунтування гіпотези. Одержані дані ґрунтовно проаналізовані, обговорені, пов'язані з літературними повідомленнями. Висновки дисертації повністю витікають з експериментальних даних.

На основі усього вище переліченого вважаємо, що дисертаційна робота Горин О.І. «Фізіолого-біохімічні реакції коропових риб на вплив новітніх біоризиків», яка подана на здобуття наукового ступеня доктора філософії, відповідає вимогам п. 9, 10, 11 «Порядку проведення експерименту з присудження ступеня доктора філософії», затвердженому постановою Кабінету Міністрів України від 6 березня 2019 р. № 167 та сучасним вимогам до оформлення дисертацій затвердженим наказом Міністерства освіти і науки України від 12 січня 2017 р. № 40, а її авторка заслуговує на присудження наукового ступеня доктора філософії з галузі знань 09 – «Біологія» за спеціальністю 091 – «Біологія».

Результати дисертаційної роботи О. І. Горин обговорено і схвалено на засіданні фахового семінару кафедри фізичної реабілітації та безпеки життєдіяльності Тернопільського національного педагогічного університету В. Гнатюка в присутності представників кафедр загальної біології та методики навчання природничих дисциплін і хімії та методики її навчання Тернопільського національного педагогічного університету ім. В. Гнатюка та

кафедри загальної хімії Тернопільського національного медичного університету імені І. Горбачевського 30 серпня 2021 р.

Голова фахового семінару

доктор біологічних наук, професор
завідувач кафедри загальної
біології та методики навчання
природничих дисциплін
Тернопільського національного педагогічного
університету ім. В. Гнатюка

В. В. Грубінко

Рецензенти:

доктор біологічних наук, професор
кафедри хімії та методики її навчання
Тернопільського національного педагогічного
університету ім. В. Гнатюка

В. З. Курант

кандидат біологічних наук,
доцент кафедри хімії та методики її навчання
Тернопільського національного педагогічного
університету ім. В. Гнатюка

В. О. Хоменчук

Учений секретар

В. Р. Гевко

Підпис *Грубінко В. В.*
засвідчує *Хоменчук В. О.*
Начальник відділу кадрів
Відділ кадрів
Міністерство освіти і науки України
Тернопільський національний педагогічний університет імені І. Горбачевського
вул. С. П. Королька, 10
Тернопіль, 38002
Тел. 38(0362) 543-100