

Голові спеціалізованої вченої ради  
ДФ 58.053.014 Тернопільського  
національного педагогічного університету  
імені Володимира Гнатюка, доктору  
біологічних наук, професору  
**Грубінку Василю Васильовичу**

### ВІДГУК

офіційного опонента, кандидата біологічних наук, старшого наукового співробітника **Коновця Ігоря Миколайовича** на дисертацію Горин Оксани Ігорівни на тему «Фізіолого-біохімічні реакції корошових риб на вплив новітніх біоризиків», подану до захисту у спеціалізовану вчену раду ДФ 58.053.014 Тернопільського національного педагогічного університету імені Володимира Гнатюка на здобуття наукового ступеня доктора філософії в галузі знань 09 – «Біологія» (спеціальність 091 – «Біологія»).

#### **Актуальність теми дисертації.**

Дисертаційна робота Горин О. І. на тему «Фізіолого-біохімічні реакції корошових риб на вплив новітніх біоризиків» присвячена одній з пріоритетних екологічних проблем – активного поширення ціанобактерій ряду *Nostocales* в поверхневих водах України, а також дослідженню ризиків несприятливого впливу їх токсичних метаболітів на водну фауну. Відомості щодо токсичності метаболітів Ностокових, які населяють прісні водойми Європи, на цей час є обмеженими. Для оцінки впливу ціанобактерій можуть бути використані корошові риби, які здатні пристосовуватися до умов існування у антропогенно-трансформованих водоймах і є їх мешканцями. Зважаючи на це, актуальність дисертаційної роботи полягає в оцінці забруднення водойм токсинами ціанобактерій за фізіолого-біохімічними реакціями корошових видів риб. Для дослідження було обрано об'єкти, які характеризуються підвищеним температурним режимом через особливості географічного розташування (Касперівське водосховище та р. Серет нижче його дамби) або умови експлуатації (Нетішинське водосховище), що створює сприятливі умови для розвитку потенційно токсичних ціанобактерій – мешканців тропічних та субтропічних водойм.

#### **Зв'язок дисертаційного дослідження із науковими програмами, планами, темами.**

Дисертаційна робота виконувалась на базі НДЛ екофізіології та біохімії тварин та людини Тернопільського національного педагогічного університету імені Володимира Гнатюка, належить до пріоритетних напрямків досліджень та є частиною проєктів, фінансованих у межах Держбюджетних тем МОН України (конкурс проєктів наукових робіт та науково-технічних (експериментальних) розробок молодих вчених) № МВ-1

«Розробка та валідація нових методів оцінки глобальних та локальних біоризиків довкілля» (№ державної реєстрації 0117U006801, 2017–2019 р.р.) та № МВ-2 «Розробка молекулярної тест-системи для оцінки біобезпеки ціанотоксинів та фармацевтиків» (№ державної реєстрації 0120U101544 (2020–2022 р.р.).

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

Матеріал дисертаційної роботи, що рецензується, викладено на 167 сторінках машинописного тексту за традиційною схемою, включаючи вступ, огляд літератури, матеріали і методи досліджень, результати власних досліджень, узагальнення результатів дослідження, висновки та додатки. Роботу проілюстровано 19 рисунками та 6 таблицями. Бібліографічний список складає 297 джерел, з них 222 – англійською мовою.

В огляді наукової літератури розглянуті сучасні методологічні підходи щодо оцінки стану водного середовища. Авторкою проаналізовані молекулярні механізми адаптації водних тварин до токсичного впливу оточуючого середовища та їх використання як біомаркерів. Детально описані ціанотоксини як група речовин, наявність яких в останні роки набуває все більшої актуальності. Літературний огляд інформативний і логічно пов'язаний з завданнями дослідження.

Розділ «Матеріали і методи дослідження» є деталізованим і добре відображає практичні процедури з постановки експериментів та лабораторного аналізу. Враховуючи багатокomпонентність і функціональну складність об'єкту та предмету досліджень, для реалізації поставленої мети і завдань дисертантка використала широкий арсенал сучасних біохімічних та цитологічних 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.

Експериментальні результати, подані у розділі 3, стосуються ідентифікації у водосховищі Касперівської ГЕС та р. Серет нижче нього ціанобактерій родів *Pseudanabaenaceae*, *Microcoleaceae*, *Leptolyngbyaceae*, *Aphanizomenonaceae*. Виявлено, що серед них значну частку становлять види *Raphidiopsis raciborskii* та *Aphanizomenon gracile* – потенційні продуценти циліндропермопсину. Висловлено припущення про те, що у досліджених водоймах присутні інші, неідентифіковані біологічно активні речовини, якими, зокрема, можуть виступати і метаболіти ціанотоксинів. На це вказують відмінності між показниками активності ферментів аніоксидантного захисту та стану тілової системи у риб (*Carassius auratus gibelio*) з Касперівського водосховища та контрольної ділянки, що характеризуються схожими умовами.

У 4-му розділі роботи досліджується токсична дія *Raphidiopsis raciborskii* на коропових риб (*Cyprinus carpio*) в умовах *in vitro*. Авторкою

показано, що лінії досліджуваного виду ціанобактерій, відібрані із різних водойм України і Польщі, хоча і не продукують циліндроспермопсин, проте здійснюють токсичний вплив на риб через порушення тілової системи клітин (металотіонеїни, глутатіон, глутатіонтрансферазу), активацію процесів апоптозу та окисного ушкодження біомолекул.

Використовуючи спрощені синтетичні аналоги циліндроспермопсину авторка продемонструвала, що його токсичність є результатом стеричної та функціональної взаємодії гідроксильної та гуанідинової груп, тоді як присутність гідроксильної або гуанідинової групи не є визначальною для процесу проникнення токсину через клітинну мембрану.

У 5-му розділі дисертації описані дослідження, які стосуються визначення токсичних властивостей харчових добавок на основі хлорели та спіруліни, з використанням фізіолого-біохімічних показників *Danio rerio* (*in vivo*). Попри відсутність у проаналізованих зразках поліметокси-1-алкенів, а також тератогенного ефекту ліпофільних фракцій обраних препаратів, деякі зразки викликають прояви цитотоксичності, нейротоксичності та впливають на активність холінергази.

6-й розділ узагальнює одержані результати. На підставі статистичного аналізу авторкою встановлено мінімальний набір параметрів для системи «раннього оповіщення» про наявність ціанотоксинів та їх аналогів: вмісту глутатіону, окисних модифікацій протеїнів, рівень ушкодження ДНК та активність глутатіон-S-трансферази. Уточнено, що більш детальний аналіз стану організму вимагає визначення ширшого набору біологічних маркерів, зокрема показників окисного стресу, метаболічного перетворення та детоксикації, ендокринної та імунної системи, а також цитотоксичності.

Одержані дисертанткою дані ґрунтовно проаналізовані, обговорені та мають прямий зв'язок з літературними повідомленнями. Висновки дисертації повністю витікають з експериментальних даних.

### **Достовірність і наукова новизна одержаних результатів.**

Встановлено присутність ціанобактерій *Raphidiopsis raciborskii* та *Aphanizomenon gracile* – потенційних продуцентів циліндроспермопсину – у антропогенно трансформованих водоймах. Показано наявність у водоймах нижче та вище дамби Касперівської ГЕС специфічних пошкоджуючих чинників, якими, зокрема, можуть виступати метаболіти ціанобактерій. Доведено, що незважаючи на те, що штами *Raphidiopsis raciborskii* з дослідних водойм не продукують циліндроспермопсину, їх присутність представляє токсикологічний ризик для прісноводних хребетних, на що вказують реакції молекулярних маркерів ізольованих клітин коропа в умовах *in vitro*. З використанням відповідних модифікацій синтетичних аналогів циліндроспермопсину показано, що його токсичність визначається стеричною та функціональною взаємодією гідроксильної та гуанідинової груп, та може бути опосередкована метаболітами альготоксину. Досліджено наявність поліметокси-1-алкену (як одного з біологічно активних вторинних

метаболітів у мікрowodоростях) у харчових добавках на основі біомаси спіруліни та хлорели та оцінено потенційний тератогенний ефект їх ліпофільних фракцій на ембріонах *Danio rerio*.

### **Практичне значення роботи.**

Перспектива практичного використання результатів роботи не викликає сумніву, оскільки наслідки впливу метаболітів цієї групи ціанобактерій на фізіологічні та біохімічні показники гідробіонтів та їх адаптивну здатність мало досліджені. Авторкою запропоновано впровадження методології системної оцінки токсичності водного середовища на основі використання показників стресорних та детоксикаційних систем риб та розроблено алгоритм оцінки рівня небезпеки. 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 ризику забруднення альготоксинами поверхневих водойм рибогосподарського, господарсько-питного і культурно-побутового призначення. Опрацьовані методологічні підходи та отримані практичні результати дисертації можуть бути цінними для спеціалістів, що працюють у галузі токсикології, екологічної фізіології і біохімії. Експериментальні дані, отримані дисертанткою, представляють також інтерес для використання у навчальному процесі при підготовці спеціалістів біологічних спеціальностей.

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

Хочеться відмітити значну кількість публікацій авторки. 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 тез доповідей на з'їздах та конференціях, 2 патенти на корисну модель.

Анотація у повній мірі відображає зміст роботи та не містить тверджень чи ідей, які не наведені в основному тексті дисертації.

Праця написана змістовно, літературною мовою, стиль викладення матеріалу науковий, думки висловлені логічно та послідовно. Дисертаційна робота Горин О. І. є цілісним, завершеним дослідженням. Порушень академічної доброчесності не виявлено.

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

1. Із тексту роботи залишається незрозумілим на основі чого були обрані концентрації аналізованих речовин (1 та 10 мкл/мл) при вивченні впливу екстрактів штамів *R. raciborskii* із досліджуваних водойм.

2. Чим обумовлено використання різних видів корошових риб у кожному з блоків досліджень?

3. Із результатів та їх обговорення відкритим залишається питання, чи можуть реалізуватися спільні схеми відповіді до шкодочинної дії ціанотоксинів та біологічно активних метаболітів ціанобактерій у нижчих хребетних та вищих хребетних, насамперед ссавців.

4. В анотації міститься згадка про алгоритм, розроблений на основі молекулярних показників стресу та детоксикаційних систем коропових риб, який можна використовувати для оцінки якості водного середовища, проте в тексті відсутній детальний його опис.

5. У тексті є певні стилістичні помилки, перевантаження скороченнями та англіцизмами, що утруднює читання.

В цілому дисертаційна робота добре оформлена і чітко написана, а окремі погрішності стилістичного і технічного характеру, як і низка питань і зауважень дискусійного характеру, не знижують її наукової цінності.

### **Загальний висновок про відповідність роботи встановленим вимогам.**

Дисертація Горин Оксани Ігорівни є самостійним завершеним дослідженням, спрямованим на розв'язання актуального наукового завдання в галузі знань 09 – «Біологія». Отримані результати становлять оригінальний внесок у суму знань галузі та оприлюднені у відповідних публікаціях. У дисертації наявні положення й висновки, що мають ознаки наукової новизни. Авторкою повністю розкрито тематику дослідження, досягнуто мети роботи, а поставлені завдання вирішено.

Ураховуючи обґрунтованість і достовірність одержаних авторкою нових наукових результатів, а також практичну цінність сформульованих нею положень і висновків, вважаю, 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 «Порядку проведення експерименту з присудження ступеня доктора філософії», затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України № 167 від 06 березня 2019 року (зі змінами від 09 червня 2021 року) та сучасним вимогам до оформлення дисертацій затвердженим наказом Міністерства освіти і науки України від 12 січня 2017 р. № 40 (зі змінами від 31 травня 2019 року), а її авторка Горин О. І. 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



Коновець І. М.