

ВІДГУК

офіційного опонента

на дисертаційну роботу Марценюка Вадима Миколайовича
«Особливості регуляції енергозабезпечення адаптації риб до дії абіотичних
та антропогенних чинників», що захищається на здобуття наукового
ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.10 – іхтіологія

Актуальність обраної теми. Дисертаційна робота Марценюка Вадима Миколайовича «Особливості регуляції енергозабезпечення адаптації риб до дії абіотичних та антропогенних чинників» присвячена актуальній проблемі – з'ясуванню розвитку реакції та формування можливих адаптивних механізмів метаболізму.), насамперед енергогенеруючих систем, окремих видів риб (коропа звичайного – *Cyprinus carpio* L.), окуня річкового – *Perca fluviatilis* L., плітки звичайної – *Rutilus rutilus* L.) на дію факторів засолення на фоні коливань температури води в умовах антропогенного навантаження на водойми. Незважаючи на достатньо тривалу увагу дослідників до впливу цих чинників на обмін речовин у риб різних таксономічних та екологічних груп актуальність розкриття механізмів біохімічної адаптації, вплив підвищеної температури, мінерального складу та токсичного забруднення водойм як комплексної трансформуючої системи сучасного екологічного середовища на генерування енергії у водяних організмів вивчені недостатньо, що зумовлює високу актуальність досліджень такого спрямування і змісту.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконана відповідно до наукових досліджень, що здійснювалися в Інституті гідробіології НАН України в межах тем: «Фізіолого-біохімічні та цитогенетичні механізми пристосування риб та безхребетних до несприятливих змін екологічних чинників» (№ держреєстрації 0113U001581), «Морфо-фізіологічні та біохімічні механізми пристосування риб до умов антропогенно порушених водних екосистем» (№ держреєстрації 0118U003269).

Новизна дослідження та одержаних результатів. У результаті дисертаційного дослідження вперше з'ясовано видоспецифічні реакції коропа, окуня та плітки на дію підвищеної мінералізації та температури води, а також при стійкому антропогенному забрудненні водойм. Показано, що на дію зазначених чинників риби різних видів активують наявні компенсаторні механізми енергетичного забезпечення, насамперед ті, що

вважаються додатковими (альтернативними до використовуваних ними зазвичай) шляхами генерування енергії. Отримано нові дані щодо гормонального регулювання енергетичного обміну у риб за зміни температури та мінералізації води. Оцінено біоенергетичний потенціал риб за генеруванням аденілових нуклеотидів за впливу досліджених абіотичних та антропогенних чинників. Вперше встановлено сезонні особливості енергетичного обміну риб за значного антропогенного забруднення водойм. Показано, що плітка є найменш пластичним щодо генерування енергії видом порівняно з коропом та окунем за адаптації до змінених умов існування під дією абіотичних чинників.

Отже, результати дисертаційної роботи сприяють вирішенню важливої наукової проблеми, яка полягає у встановленні стану енергетичних (енергогенеруючих та енерговитратних) систем риб різних видів, які мешкають у екологічно трансформованих останнім часом водоймах.

Науковий рівень роботи визнано таким, що відповідає вимогам МОН України на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук.

Практичне значення результатів дослідження. Отримані в дисертаційній роботі експериментальні дані розширюють наявні уявлення про фонові впливи коливань температури (особливо підвищення її показників), засолення і забруднення води унаслідок антропогенної діяльності, що є необхідним для розроблення прогнозів подальших негативних наслідків хронічного впливу екстремальних змін досліджених чинників водного середовища на іхтіофауну. Окремі метаболічні показники досліджених видів риб, насамперед коефіцієнти енергетичного забезпечення тканин, можуть бути використані для екологічного нормування та рекомендацій для провадження рибництва. Результати роботи можуть бути використані для підготовки фахівців біологічного і екологічного профілів у закладах освіти.

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації, їх достовірність. Дисертантом відповідно до мети дослідження сформульовані завдання, підібрано експериментальні моделі та адекватні методики гідробіологічних і іхтіологічних методи досліджень; біохімічні методи визначення активності ензимів і субстратів енергетичного обміну та гормонів, що його регулюють; математичні та статистичні методи аналізу отриманих результатів, адекватно обрано

експериментальні площадки та лабораторні установки, що дозволило отримати інформативні дані.

Достатній для обґрунтування обсяг експериментальних досліджень після статистичної обробки матеріалу послужив підставою для переконливих висновків дисертації.

Отже, дисертаційна робота Марценюка В.М. є самостійною науково-дослідною роботою, яка виконана на сучасному методичному рівні і достатньому експериментальному матеріалі.

Повнота викладення основних результатів дисертаційних досліджень. Результати дисертаційного дослідження повністю висвітлено у 12 наукових роботах, з яких: 6 – статті у фахових наукових журналах, з яких одна у міжнародному цитованому виданні, 6 – матеріали конференцій. Кількість, обсяг та рівень публікацій відповідають чинним вимогам до опублікування результатів кандидатських дисертацій.

Обсяг і структура дисертації. Дисертація має обсяг у 225 сторінках друкованого тексту. Вона складається зі вступу, аналітичного огляду фахової літератури, опису матеріалів та методів досліджень, 3 розділів власних досліджень, узагальнення одержаних результатів, висновків і списку використаної фахової літератури, список якої містить 237 джерел, із них 140 латиною. Рукопис ілюстрований 70 рисунками і 2 таблицями. Структура і обсяг всіх розділів дисертації відповідають чинним вимогам до опублікування результатів кандидатських дисертацій.

Вступ відображає суть роботи, її завдання, включає обґрунтування актуальності, наукової новизни, практичного значення отриманих результатів.

Розділ 1 – аналітичний огляд літератури (с. 19-43, 13% основного тексту роботи) – «Фізіолого-біохімічні особливості та механізми регулювання основних шляхів генерування енергії у тканинах риб за дії екологічних чинників» присвячено критичному аналізу даних та сучасних поглядів на стан досліджень організації і активності фізіолого-біохімічних систем генерування енергії у гідробіонтів, насамперед, риб за впливу різних екологічних чинників водойм. Акцентовано увагу на усталене сучасне уявлення про широкий діапазон толерантності риб до змін температурного, мінерального та токсичного чинників окремо та за комплексного їх впливу як результат фізіолого-біохімічної варіабельності за рахунок еволюційно надбаних адаптивних механізмів регуляції рівня і спрямованості метаболізму і його модифікацій, що забезпечується варіативністю

перемикання енергетичних систем та підтримання сталого рівня енергетичних еквівалентів у клітинах і підтриманням тканинного енергетичного гомеостазу. Обговорюється питання про основні шляхи енергозабезпечення у організмі риб за стресових впливів. Автор роботи дотримується в цьому питанні усталеної доктрини про те, що основним енергогенеруючим шляхом у риб є аеробне окиснення енергетичних субстратів (цикл Кребса), а альтернативним – анаеробне окиснення (гліколіз). Така думка у екологічній біохімії риб є традиційною, проте, як відомо, за адаптацій окремих видів риб до певних чинників співвідношення значимості цих шляхів енергогенерування може змінюватися. Менше уваги при обговоренні цієї проблеми приділено адаптивній ролі пентозофосфатного шляху. Загалом, із змісту розділу стають зрозумілими прогалини з досліджуваної проблеми і, відповідно, витікають завдання дослідження з розглядуваної тематики, проте їх варто було окреслити окремо в кінці розділу.

Розділ 2 - Матеріали та методи дослідження (с. 43-50). Робота виконана на достатньому методичному та технічному рівнях, з використанням сучасних методик збору матеріалу та обладнання, які цілком відповідають завданням дослідження. В цьому розділі охарактеризовано фізико-географічні та гідрохімічні умови водойм, з яких взято рибу для досліджень. Методики викладені чітко, детально, що свідчить про повне розуміння автором процесу їх опрацювання і реалізації. Автор наводить характеристику методів дослідження: польові та лабораторні. Використано достатньо точні і адекватні методи оцінки активності ензимів та вмісту окремих субстратів енергетичного обміну. Здійснена систематизація, аналіз, статистична обробка. Статистичну обробку результатів здійснювали методами основної статистики (описова статистика, t-критерій Стьюдента), тощо.

Розділ 3 «Фізіолого-біохімічні особливості пристосування риб до дії підвищеної температури води» (с. 51-98, 26% основного тексту роботи) присвячений опису результатів дослідження енергетичного статусу риб за підвищеної температури води. Функціонування основних шляхів генерування енергії в тканинах риб за зміни температури води встановлено за відкликом активності окремих ензимів, вмістом тиреоїдних гормонів та глюкози у плазмі їх крові, а також концентрацією основних енергетичних речовин у тканинах, зокрема аденілатів. Ці показники дозволили оцінити за використанням інтегральних показників (т.з. «енергетичні коефіцієнти»)

стан метаболізму в організмі риб з позицій забезпечення енергетичного гомеостазу, що є важливим для розуміння механізмів енергозабезпечення адаптації до екологічних чинників. Дослідження здійснені при 26°, 28° і 34°C. За підвищення температури води вище зони толерантності у досліджуваних видів риб нормальне функціонування енергетичного обміну в їх організмі погіршується та при тривалій дії чинника призводить до енергетичного голодування. У коропа зниження величини цих показників не настільки критичне, ніж у двох інших видів, проте температурний чинник все ж зумовлює специфічне протікання метаболічних процесів в його організмі, що в подальшому також призводить до погіршення життєздатності. Відповідь АТФ-азних систем у тканинах досліджуваних риб характеризується фазовістю, оскільки добре узгоджується з відомим ефектом розвитку відповіді гідробіонтів на дію несприятливих чинників залежно від сили дії чинника та з часом. Така відповідь включає стадію пригнічення метаболічних реакцій та фізіологічних функцій унаслідок первинного стресу, формування толерантності до чинника з наступною активацією адаптивних систем. Виходячи із цього, автор припускає існування єдиного механізму реакції АТФ-аз мембран клітин різних видів риб на несприятливу дію: на первинних етапах дії підвищеної температури води має місце активація нею мембранних АТФ-аз та мембранного транспорту, після чого настає фаза пригнічення (інгібування) з наступним відновленням функцій.

Встановлено, що зниження вмісту тиреоїдних гормонів активує ензимну активність дихального ланцюга, проте, тривала дія несприятливого чинника в подальшому може спричинити зміну співвідношення різних шляхів генерування енергії з досягненням затратного стану і, як результат, загибель організму.

Щодо видових особливостей метаболізму, то встановлено, що первинна реакція у досліджених видів риб на дію підвищеної температури води суттєво відрізняється: у коропа знижується рівень тиреоїдних гормонів у крові, що може супроводжуватися зменшенням генерування енергії унаслідок зниження активності окисно-відновних реакцій; у плітки ж навпаки концентрація Т4 та Т3 зростає з підвищенням температури води, що свідчить про активацію обмінних процесів на протидію створеному чиннику; в окуня зміни виражені меншою мірою. У коропа функціонування процесів окиснювального фосфорилування практично не порушується із підвищенням температури води, тоді як організм окуня та плітки в багатьох

випадках залучають менш ефективне субстратне фосфорилування. При чому, в окремих тканинах плітки відмічений розвиток гіпоенергетичного стану. За експериментально створених умов короп та окунь накопичують глікоген у печінці, що може бути результатом активації глікогенезу. Отримані результати автор пояснює метаболічними відмінностями діапазонів екологічної пластичності зазначених видів риб в умовах мінливого навколишнього середовища.

Розділ 4 «Фізіолого-біохімічні особливості пристосування риб до дії підвищеної мінералізації води» (с. 99-149, 27% основного тексту роботи). Показано, що за контрольного показника мінералізації 520 мг/дм^3 (вода з р. Рось) його підвищення до 1040 мг/дм^3 , 1560 і 2080 мг/дм^3 у риб, насамперед, змінюється гормональний фон: вміст трийодтироніну у плазмі крові усіх досліджуваних видів риб в умовах підвищеної мінералізації води змінюється практично пропорційно її рівням; у крові коропа значних змін вмісту Т4 не спостерігалось, в окуня зафіксовано вірогідне зниження вмісту Т4 до 8 нМоль/дм^3 за мінералізації 2080 г/дм^3 , що у 5,62 рази менше від показника у контролі; у плітки вміст гормону суттєво підвищувався, та максимальним був за мінералізації 1040 г/дм^3 – 83 нМоль/дм^3 , що у 3,95 рази вище від показника контролю. Зростання вмісту Т3 у окуня та плітки по мірі підвищення мінералізації викликає активацію енергетичного обміну, спрямованої на забезпечення осморегуляції. Зниження вмісту тиреоїдних гормонів великою мірою впливає на ензимну активність дихального ланцюга, а саме зумовлює його пригнічення. Проте, тривала дія несприятливого чинника в подальшому може спричинити порушення співвідношення між генеруванням енергії та її витратою. Виявлено, що дуже складно пристосовується до значного підвищення мінералізації води окунь.

Отримані дані про взаємозв'язок гормонального статусу і енергетичного обміну проілюстровано також за рівнем вмісту глюкози, активності енергогенеруючих ензимів (лактатдегідрогенази, сукцинатдегідрогенази і цитохромоксидази). Підвищення мінералізації води викликає перемикання метаболізму у тканинах на безкисневий шлях генерування енергії. За тривалої дії несприятливого чинника процеси водно-сольового обміну можуть ускладнюватися в міру недостатнього генерування енергії АТФ. Аналіз стану системи АТФ-АДФ-АМФ у тканинах риб за дії підвищеної мінералізації води свідчить про зміни інтенсивності і спрямованості аеробних та анаеробних процесів.

Перебудова енергетичного обміну, зокрема, зниження загального внутрішньоклітинного вмісту аденілових нуклеотидів, знижує адаптаційні можливості організму в умовах засоленості.

Реакції досліджених видів риби на дію підвищеної мінералізації води видоспецифічні. Збільшення концентрації йонів у воді викликає в організмі риби реорганізацію осморегуляційних процесів, що в більшості випадків проявляється в активації або інгібуванні основних шляхів генерування енергії.

Розділ 5 «Вплив антропогенного забруднення водойм на енергетичний обмін в організмі риби» (с. 149-189, 22% основного тексту роботи). Гідрохімічний режим водойм м. Києва (оз. Кирилівське та оз. Бабіне) оцінено за літературними даними. Враховуючи гідрохімічний режим та токсикологічну характеристику дослідних водойм, озеро Кирилівське відзначається як водойма з високим рівнем антропогенного забруднення, оз. Бабіне обране як контроль. На основі того факту, що у міських водоймах неминуче посилюється антропогенне навантаження, тим самим погіршуючи екологічну ситуацію навіть у відносно благополучних гідроекосистемах, автор припускає, що тривале проживання риби в умовах підвищеного рівня забруднення супроводжується природним відбором, в результаті якого залишаються найбільш токсикорезистентні особини.

Досліджено окремі показники енергетичного обміну риби влітку та восени. Отримано різноспрямовані дані щодо діапазону їх змін: інтенсивність процесів енергозабезпечення тканин риби в дослідних озерах протікає з різною інтенсивністю; простежується сезонна залежність цих процесів. В забрудненому озері метаболізм окуня спрямований на активне залучення енергетичних ресурсів на протидію проникненню токсичних речовин в його організм, або ж їх детоксикації. У риби з оз. Бабіне рівновага в співвідношенні енергогенеруючих та енергозатратних процесів зберігається упродовж всіх дослідних сезонів.

Оскільки статистичний аналіз багатофакторного впливу у природній водоймі не здійснювався, то важко виокремити визначальні чинники впливу на енергетичний статус риби або їх сумісну (поєднану) дію. Проте, значна кількість токсикантів, які надходять в оз. Кирилівське, спричиняють зміни у метаболічних процесах риби та викликають формування компенсаторних механізмів щодо дії несприятливих чинників. Це проявляється в активації т.з. альтернативних шляхів генерування енергії у тканинах риби. Вірогідно, що за багато років перебування риби відбулися такі

зміни у метаболічних процесах, які дозволяють їм максимально адаптуватися до несприятливих умов.

Аналіз одержаних дисертантом результатів порівняно з літературними відомостями здійснено в процесі представлення результатів експериментальних досліджень та їх обговорення у п.р. «Узагальнення результатів дослідження» (с. 190-197). Автор у результаті експериментальних досліджень приходять до висновку, що первинна реакція у різних видів риб на дію стресогенних екологічних чинників може суттєво відрізнятись. Встановлені основні закономірності функціонування енергетичного обміну в тканинах риб за дії підвищеної температури води та мінералізації (рис. 6.1, с. 192; рис. 6.2, с. 195). Тканиноспецифічні зміни енергетичного обміну спрямовані на генерування АТФ у печінці риб та його витрати у м'язах. Цікавим є те, що за підвищених температури короп та окунь накопичують глікоген у печінці, що може бути результатом активації глікогенезу. Не виключено також, що підвищена температура може інгібувати ензимну систему глікогенолізу в цих видів, в результаті чого накопичується цей субстрат. Варто відмітити значне зменшення кількості глікогену в печінці плітки.

Збільшення концентрації йонів у воді викликає в організмі риб реорганізацію осморегуляційних процесів, що в більшості випадків проявляється в активації або інгібуванні основних шляхів генерування енергії. Встановлена важлива роль гормональної системи риб в регулюванні цих процесів, зокрема гормонами щитоподібної та інтерренальної залози.

В окуня та плітки відмічена подібні реакції за активністю окремих ензимів енергетичного обміну на зміну мінералізації води. Зміна балансу аденілових нуклеотидів може спричинити розлад йонного обміну в тканинах риб, особливо в умовах значної мінералізації води.

Комплексне забруднення активує катаболічні реакції в тканинах риб, що потребує залучення додаткових енергетичних ресурсів.

У результаті досліджень констатується, що підвищена температура та мінералізація води, а також антропогенне забруднення водою на функціонування енергетичного обміну в організмі риб діють видоспецифічно. У певному діапазоні дії чинника зафіксовано адаптивні реакції, які проявляються в активації метаболічних процесів спочатку, та їх інгібування за більш інтенсивного впливу несприятливих чинників.

Найбільший адаптивний потенціал виявляв коропа, однак окунь та плітка також формують своєрідні компенсаторні механізми.

У *Висновках* наведено узагальнення результатів експериментальних досліджень і нове вирішення актуального наукового завдання, що полягає у з'ясуванні і теоретичному обґрунтуванні використання показників енергетичного обміну у риб трьох видів для оцінки формування їх резистентності в умовах підвищеної температури, мінералізації та комплексного забруднення, що може мати використання для прогнозування відклику біоти і стану популяцій цих риб.

Разом з тим, можна акцентувати увагу на деяких дискусійних питаннях.

1. У меті роботи (с. 15), крім іншого, йдеться про вивчення адаптації риб до «надмірного антропогенного забруднення». Який характер антропогенного забруднення мається на увазі? Фізичне? Хімічне? Біологічне? Чи комплексне? Згідно з якими критеріями автор встановлює «надмірність» антропогенного забруднення?

2. Завдання «дослідити йонний обмін у риб за активністю K, Na–АТФ-ази під дією екологічних чинників» (с. 15) сформульовано не зовсім коректно, бо активність окремого ензиму, а, надто, K, Na–АТФ-ази, не відображає всієї багатоаспектності мінерально-елементного обміну в організмі, включно риб.

3. При дослідженні температурного впливу не зазначено вік риб. Оскільки дослідження проведені у червні, то, якщо це були статевозрілі особини, то у післянерестовий період, то чи не позначилося це на енергетичному статусі риб. Під час експерименту «окуня годували мальком чебачка амурського та хірономідами, а коропа та плітку – комбікормом» (с. 46). Чи не впливав на енергетичні процеси тип (біохімічний склад і калорійність) кормів?

4. Дослідження впливу підвищеної мінералізації води здійснено за її рівнів 1040 мг/дм^3 , 1560 мг/дм^3 та 2080 мг/дм^3 , що отримували внесенням у воду з р. Рось, мінералізація якої становила 520 мг/дм^3 , відповідної кількості солей, до складу яких входять йони елементів, частка яких є найбільшою у визначенні мінералізації водойми. Такими солями були CaCl_2 , MgSO_4 , KI та NaHCO_3 . Яке співвідношення внесених солей, зважаючи на їх дещо відмінну гідрохімічну поведінку у природній річковій воді?

5. В роботі зазначено, що «ловлю риб здійснювали вудковими та спінінговими знаряддями лову» (с. 47). Яким був період аклімації риб до умов акваріума і використаної кормової бази, адже відомо, що стрес-травматичний шок і рухова активність риб, виловлених зазначеним методом, і у результаті транспортування, може суттєво змінити як швидкість, так і співвідношення окремих ланок енергогенерування і енерговитрат у організмі риб.

6. На рис. 3.1 (с. 52), 3.2 (с. 53), 3.3 (с. 54) «Вміст тироксину (А) та трийодтироніну (Б) у плазмі крові» наведені дані показників, що відрізняються розмірністю: першого – нмоль/л, другого – нг/мл, що утруднює порівняння і метаболічне трактування виявлених відмінностей. На рис. 3.4. А (с. 55) подано сумарний вміст Т4+Т3 у плазмі крові риб, використавши дані, виражені різними одиницями (нмоль/л та нг/мл), що є некоректним.

7. При обговоренні результатів експериментальних досліджень, узагальненні та висновках нерозкритими залишаються такі питання: «Чи пов'язані реакції енергозабезпечення з характером живлення та фізіологічною активністю риб? Як на енергетичний статус риб впливає їх вік? Який вид є стійкішим до одночасних комплексних змін стану водного середовища і чому?»

8. Серед термінологічних недоречностей відмітимо вирази: «факультетах ВНЗ природничого напрямку» – підготовка фахівців природничих спеціальностей у закладах вищої освіти (ЗВО); «білки» - протеїни (відповідно, «вміст білка» – вміст протеїнів); «фермент» – ензим; «короп та окунь активніше залучають аеробні процеси», тощо.

Загалом дисертаційна робота є багатоплановою і зауваження та запитання тільки підкреслюють багатовекторність наукових проблем, що витікають з експериментального дослідження, але не применшують її результативності і значення.

Робота написана сучасною науковою українською мовою, стилістично і граматично вивірена.

Автореферат дисертації відповідає встановленим вимогам та відображає зміст дисертаційної роботи.

Висновок. Дисертаційна робота Марценюка Вадима Миколайовича «Особливості регуляції енергозабезпечення адаптації риб до дії абіотичних та антропогенних чинників» є закінченим самостійним дослідженням, що за новизною, теоретичним і практичним значенням відповідає вимогам п.11

«Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України від 24.07.2013 р. №567 (зі змінами, внесеними згідно з Постановами КМУ №656 від 19.08.2015 р., №1159 від 30.12.2015 р. та №567 від 27.07.2016 р.), а Марценюк Вадим Миколайович заслуговує на присудження наукового ступеню кандидата біологічних наук зі спеціальності 03.00.10 – іхтіологія.

Офіційний опонент:

завідувач кафедри загальної біології
та методики навчання природничих дисциплін
Тернопільського національного педагогічного університету
імені Володимира Гнатюка,
доктор біологічних наук, професор



В.В. Грубінко

02 травня 2019 року

