

ВІДГУК

на дисертаційну роботу Володимира КАРАВАНА
«Вплив дієти на біомаркери стресу у *Apis mellifera*»,
подану на здобуття наукового ступеня доктора філософії з галузі знань
09 – Біологія, за спеціальністю 091 – Біологія

Актуальність обраної теми. Медоносні бджоли є ключовими запилювачами для багатьох культурних рослин, включаючи фруктові дерева, ягоди, овочі та інші. Зменшення популяції бджіл може призвести до значного зниження врожаю та підвищення вартості продуктів харчування. Втрата медоносних бджіл може призвести до порушення екосистем та загрози біорізноманіттю. Бджоли відіграють ключову роль у підтриманні балансу в екосистемах та збереженні різноманіття рослин. Зменшення популяції бджіл може призвести до збільшення використання хімічних пестицидів та інших агрохімікатів, що може негативно позначитися на здоров'ї людини через залишки в харчових продуктах. Досі не вивчені повністю причини, що призводять до зменшення популяції медоносних бджіл, включаючи захворювання, паразити, зміни в рослинному покриві, забруднення середовища та використання пестицидів. Дослідження дієтичних втручань та інших стратегій для збереження та збільшення популяції медоносних бджіл може сприяти розробці ефективних заходів з охорони бджіл та підтримки їх популяції. З огляду на це, дисертаційна робота Володимира Каравана, яка присвячена впливу різних дієтичних втручань (дієти з додаванням різних вуглеводів, розчину амінокислот, пилку та перги) на виживаність а маркери оксидативного стресу у бджіл за різних температурних режимів, є актуальною та затребуваною у практичному відношенні.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Робота виконувалась згідно з планами науково-дослідної роботи кафедри молекулярної генетики та біотехнології Чернівецького національного університету в рамках кафедральної теми: «Структурно-функціональна організація геному та механізми адаптації у еукаріот» (2021-2025; номер держреєстрації 0121U111109) та держбюджетної теми «Генетичний поліморфізм, розповсюдженість та адаптаційні здатності українських порід медоносної бджоли» (2020-2022; номер держреєстрації 0120U102119).

Ступінь обґрунтованості основних положень, висновків та практичних рекомендацій, сформульованих у дисертації.

Для досягнення зазначеної мети, автором дисертації разом з науковим керівником були ретельно сплановані та ефективно проведені польові та лабораторні експерименти. Викладені у роботі тези та ствердження мають міцне наукове обґрунтування і обговорюються в контексті відповідної наукової літератури, на що вказує значний обсяг аналізованих джерел. Використання статистичних методів аналізу підтверджує достовірність отриманих результатів. Загальні результати та висновки відповідають поставленим цілям та завданням дослідження. Використані лабораторні методи та методики є найбільш ефективними для досягнення поставлених завдань. Робота складена

державною мовою, а отримані висновки є логічними, послідовними та належним чином обґрунтованими. Основні положення та висновки дослідження повністю відповідають спеціальності 091 – Біологія.

Структура дисертації. Загальний обсяг дисертації - 135 сторінок, набраних на комп'ютері відповідно до вимог до оформлення дисертації. Складається робота із анотації двома мовами, вступу, огляду літератури, опису матеріалів і методів досліджень, результатів роботи та їх обговорення, аналізу та узагальнення результатів дослідження, висновків, переліку використаних джерел, який включає 202 джерела (з них 195 англомовні) та один додаток. Робота ілюстрована 20 рисунками та 3 таблицями.

Анотація висвітлює зміст всіх розділів дисертації.

В **огляді літератури** описано стресові фактори різної природи, які впливають на медоносних бджіл, виділено основні стресори, які можуть негативно позначатись на виживаності цих комах. Описано також температурний та оксидативний стрес та їх вплив на біохімічні процеси в організмі медоносної бджоли. Зібрано інформацію про механізми відповіді на температурний та оксидативний стрес, зокрема про ферменти, задіяні у стресовій відповіді. Також цей розділ містить інформацію про компоненти природного харчування бджіл та різноманітні штучні дієти, які застосовуються для підтримання життя бджолиних колоній за дії несприятливих факторів довкілля. З аналізу зібраної літератури зроблено висновок, що вплив дієт на виживаність та біохімічні маркери фізіологічного стану медоносної бджоли за різних температурних режимів утримання все ще залишаються недостатньо вивченими. Загалом, дисертантом системно проаналізована достатня кількість літературних джерел, зокрема останніх років, що вказує на те, що дисертант добре володіє матеріалом.

Розділ «**Матеріали та методи дослідження**» детально описує усі експериментальні процедури та методи досліджень, використані у роботі. Зокрема, чітко описано дизайн експериментів та протоколи методів для визначення про-/антиоксидантного статусу у тканин бджіл. Методи підібрані адекватно та дозволили дати відповідь на поставлені завдання.

Розділ 3 складається з 4 підрозділів, які описують послідовно отримані експериментальні результати та їх обговорення.

Підрозділ 3.1. представляє результати, отримані при вивченні впливу штучної підгодівлі з додаванням різних вуглеводів (сахарози, глюкози та фруктози) на активність антиоксидантних ферментів у бджіл в умовах польового експерименту.

У **підрозділі 3.2.** описано результати по впливу температури зимівлі на біомаркери фізіологічного стану бджіл. (показники перекисного окислення ліпідів, активність каталази та глутатіон-S-трансферази).

У **підрозділі 3.3.** наводяться результати лабораторних досліджень по впливу підгодівлі пилком, пергою та сумішшю амінокислот на виживаність бджіл, перекисне окислення ліпідів та карбонілювання білків та активність каталази у різних частинах тіла бджіл.

У **підрозділі 3.4.** наводяться результати лабораторних досліджень по впливу вуглеводних дієт на робочих бджіл за різних температур утримання, а

саме на виживаність бджіл, перекисне окислення ліпідів та карбонілювання білків, вміст низькомолекулярних тіолів, активність каталази, супероксиддисмутази та глутатіон-S-трансферази. Також наводиться взаємозв'язок між дослідженими параметрами.

На основі результатів проведеного дослідження дисертантом сформульовано 7 висновків, які відповідають поставленим завданням.

Новизна основних наукових положень, висновків та практичних рекомендацій, а також проведених наукових досліджень та отриманих результатів. У роботі отримані нові дані щодо впливу різних харчових режимів на стан антиоксидантної системи медоносних бджіл та оцінено взаємозв'язок про-/антиоксидантного статусу з виживаністю бджіл на різних дієтах. Серед наукових знахідок відзначаються наступні. Виявлено, що у польових умовах літня підгодівля медоносних бджіл сахарозою призводила до вищої активності каталази, тоді як підгодівля фруктозою та глюкозою зумовлювала нижчу каталазну активність у різних тагмах бджіл (у голові, грудях та черевці). Знайдено, що інтенсивність перекисного окислення ліпідів у медоносних бджіл була меншою за температури зимівлі 5 °С, ніж за 14 °С, при цьому активність каталази у тканинах грудей збільшується за 5 °С. Розроблено оригінальний дизайн експерименту, що забезпечує наближеність до природних умов існування медоносних бджіл у лабораторії, а також дозволяє контролювати температуру утримання та харчування. Виявлено, що вживання пилку верби або перги верби та ріпаку зменшує смертність робочих бджіл та супроводжується зростанням активності каталази та інших біохімічних параметрів. Показано, що різні дієти впливають на виживаність бджіл при різних температурах: фруктоза та сахароза підвищують, а глюкоза знижує виживаність за 28 °С, а найменша смертність спостерігалась при фруктозі за 14 °С. Встановлено, що підвищення виживаності бджіл при вживанні певних дієт може бути пов'язане зі збільшенням перекисного окислення ліпідів та карбонілювання білків.

Повнота викладу основних наукових положень відповідає встановленим вимогам Міністерства освіти і науки України. За результатами дисертації опубліковано 7 наукових праць, у тому числі 1 стаття у виданні, яке індексується у базі даних Scopus, та 4 статті у фахових журналах категорії Б, а також 11 матеріалів і тез доповідей на з'їздах і конференціях. Також автором отримано 3 патенти на корисну модель. Аналіз тексту дисертації не вказує на те, що в дисертаційній роботі може бути наявний плагіат чи фальсифікації, у подачі матеріалу простежується особистий стиль автора. Загалом, мною у дисертаційній роботі Володимира Васильовича Каравана порушень академічної доброчесності не виявлено.

Дискусійні питання, побажання та зауваження:

Принципових недоліків у роботі мною не виявлено, але маю ряд питань дискусійного або уточнювального характеру та зауваження до оформлення.

1. В огляді літератури вказаний цікавий факт про наявність каталази у меді, але також вказано, що каталаза не секретується бджолами – тоді звідки цей фермент береться у меді? Тому що з тексту дещо незрозуміло: «Ген *Cat* медоносної бджоли кодує білок з 513 амінокислот. САТ в *Apis*, як і в інших тварин, локалізується в цитозолі і не має сигнального пептиду, необхідного для секреції.».
2. Незрозуміло, чому у польовому експерименті бджіл спочатку готували різними вуглеводами, а потім переводили на один тип – 30%-ий розчин сахарози.
3. Необґрунтовано, чому у лабораторному експерименті харчові добавки (суміші амінокислот, пилок, перга) бралися саме у концентрації 10%.
4. У роботі використовувалась непараметрична статистика для аналізу. Чи проводилась перевірка даних на нормальність?
5. Отримані відмінності у антиоксидантному статусі бджіл за споживання різних вуглеводів, пояснюються відмінностями у метаболізмі цих вуглеводів та їх різним впливом на експресію генів. Варто було б детальніше описати, яким чином метаболізм глюкози, фруктози та сахарози може по-різному впливати на продукцію АФК та відповідно на активність антиоксидантних ферментів.
6. У підписі до рис 3. варто вказати, що цифри на осі абсцис – це різні відбори. Чим аргументували час різних відборів?
7. У експериментах із підгодівлею маркери окислювального пошкодження біомолекул тісно і прямо корелювали з виживанням бджіл. Чи можна говорити у цьому випадку про явище гормезису?
8. Вживання штучної перги викликало помірне підвищення активності каталази в голові робочих бджіл, і автор вважає це захисною реакцією на споживання дієт, які містять перекис водню. Але тоді у цьому випадку більш логічно очікувати зростання активності каталази у черевці, куди їжа у першу чергу надходить, але цього не спостерігалось. Як це пояснити?
9. У літньому польовому експерименті вища активність каталази спостерігалась за споживання бджолами сахарози, тоді як у лабораторному експерименті при 28°C – вища активність каталази була за споживання глюкози та суміші «Глюкоза + фруктоза». Чим можна пояснити такі відмінності?
10. У роботі наявні дрібні друкарські огріхи, відсутність ком, русизми як-от: «в основному» замість «переважно», «в якості» замість «як», «у свою чергу» замість «своєю чергою»; «на даний момент» замість «на цей момент, на сьогодні», «в цілому» «загалом». Помилка у позначенні градусів на рисунку. 3.4.1. Для речовин використовуються як україномовні скорочення, так і англомовні, що збиває трохи з пантелику.

Загалом, наведені коментарі не знижують цінність роботи та не впливають на загальну оцінку.

Висновок

Загалом, вважаю що, за актуальністю, науково-теоретичним рівнем, новизною постановки та розв'язанням проблем і практичним значенням дисертаційна робота Володимира Васильовича Каравана «Вплив дієти на біомаркери стресу у *Apis mellifera*», подана на здобуття наукового ступеня доктора філософії, відповідає вимогам Постанови Кабінету Міністрів України «Про затвердження Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії» від 12 січня 2022 р., а здобувач заслуговує на присудження ступеня доктора філософії в галузі знань 09 Біологія, за спеціальністю 091 – Біологія.

Опонент

доктор біологічних наук, професор
завідувач кафедри біохімії та біотехнології
Прикарпатського національного університету
імені Василя Стефаника

 Марія БАЙЛЯК

