

**Рішення спеціалізованої вченої ради ДФ 76.051.046
про присудження ступеня доктора філософії**

Спеціалізована вчена рада Чернівецького національного університету імені Юрія Федьковича ДФ 76.051.046, Міністерства освіти і науки України, м. Чернівці прийняла рішення про присудження ступеня доктора філософії галузі знань 09 Біологія на підставі прилюдного захисту дисертації «Вплив дієти на біомаркери стресу у *Apis mellifera*» за спеціальністю 091 Біологія

«20» травня 2024 року.

Караван Володимир Васильович 1980 року народження, громадянин України, освіта вища: закінчив 2004 році Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича.

Дисертацію виконано у Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича, МОН України, м. Чернівці.

Науковий керівник Панчук Ірина Ігорівна, доктор біологічних наук, професор кафедри молекулярної генетики та біотехнології.

Здобувач має 8,5 наукових публікацій за темою дисертації, з них 1,5 статті у наукових фахових виданнях України, 1 стаття у періодичному науковому виданні, проіндексованому у базі даних Web of Science Core Collection та/або Scopus (Q1), що прирівнюється 2 публікаціям та отримав три патенти на корисну модель:

Перелік основних публікацій:

Статті у періодичних наукових виданнях, проіндексованих у базах даних Web of Science Core Collection та Scopus

1. Yazlovytska L.S., Karavan V.V., Domaciuk M., Panchuk I.I., Borsuk G. and Volkov R.A. Increased survival of honey bees consuming pollen and beebread is associated with elevated biomarkers of oxidative stress. *Frontiers in Ecology and Evolution*. 2023, 11:1098350 (Q1).

Статті у фахових наукових виданнях України:

1. Караван В.В., Качмарик Д.Ю., Череватов В.Ф., Панчук І.І., Язловицька Л.С. (2020) Вплив літньої підгодівлі вуглеводами на активність каталази у медоносних бджіл. *Науковий вісник Чернівецького університету. Біологія (Біологічні системи)*, 12 (2). 156-165.

2. Караван В. В., Качмарик Д. Ю., Череватов В. Ф., Язловицька Л. С. (2021) Вплив температури зимівлі на стан антиоксидантої системи *Apis mellifera* L. *Науковий журнал Біологія тварин*, 23 (4), 32–42.

3. Караван В.В., Язловицька Л.С., Череватов В.Ф., Панчук І.І. (2022) Біомаркери оксидативного стресу у *Apis mellifera* за різних вуглеводних дієт. *Науковий вісник Чернівецького університету. Біологія (Біологічні системи)*, 14(2), 129-136.

У дискусії взяли участь голова і члени спеціалізованої вченої ради та присутні на захисті фахівці:

Федоряк Марія Михайлівна, доктор біологічних наук (03.00.16 – екологія), професор, завідувач кафедри екології та біомоніторингу навчально-наукового інституту біології, хімії та біоресурсів Чернівецького національного університету імені Юрія Федьковича – голова ради;

Дискусійні питання:

Як в зимовому експерименті так і в лабораторному експерименті спостерігається збільшення активізації утворення активних продуктів тіобарбітурової кислоти при підвищенні температури. Чим це зумовлено?

Байляк Марія Михайлівна, доктор біологічних наук, (03.00.04–біохімія), завідувач кафедри біохімії та біотехнології Прикарпатського національного університету ім. Василя Стефаника.

Дискусійні питання:

Зробіть загальний висновок з роботи. Узагальніть результати по впливу дієт на показники, які визначалися.

Питання, побажання та зауваження:

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 годували 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, як 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 °С – 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 англійські, що збиває трохи з пантелику.

Ковальчук Ірина Іванівна, доктор ветеринарних наук, (03.00.13 – фізіологія людини і тварини), старший науковий співробітник, виконуюча обов'язки завідувача кафедри нормальної та патологічної фізіології Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені Степана Гжицького. Дискусійні питання:

Чому ви зупинилися на пилку верби та ріпаку? Чому ви обрали для літнього експерименту активність Каталази та глутатіон-S-трансферази.

Побажання та зауваження:

1. У розділі «Матеріал та методи дослідження» доцільно було б представити суть методів утримання медоносних бджіл в лабораторних умовах у клітках, представлених у патентах на корисну модель.

2. Для оцінки життєздатності медоносних бджіл бажано підраховувати щодобово кількість живих і мертвих бджіл та використовувати підрахунок коефіцієнту тривалості життя, що дозволить повною мірою характеризувати дію застосованої підгодівлі.

3. При аналізі змін ензимів системи антиоксидантного захисту вирази найвища або найменша; вища або нижча активність було б доцільно замінити на відсотки або у скільки разів, що було більш показовим та інформативним.

4. Відповідно до правил новою номенклатурою доцільно використовувати термін «протеїн», а не «білок»; «ензим», а не «фермент».

5. Цінність дисертаційної роботи значно була б більшою, якщо б дисертант проаналізував біологічну цінність та якість бджолої продукції (в т. ч. меду) за умов літньої підгодівлі.

6. У висновку щодо ефективності впливу дієт на пом'якшення стресових факторів слід говорити повніше, адже зростання життєздатності медоносних бджіл пов'язано із змінами фізіологічних і біохімічних процесів та обміну речовин в цілому.

7. У дисертаційній роботі зустрічаються невдалі вислови – вилуплення бджіл; дні – краще було б замінити на доби, їжа - корм, харчування – підгодівля, дизайн експерименту – схема досліду. Опечатки: с. 104 - пов'язана - пов'язана; с. 111 - взаємозв'язки – взаємозв'язки. Стилiстичні, технічні і граматичні помилки, можливо пов'язані з комп'ютерним набором, легко можна виправити.

Питання:

1. Чи є характерні особливості стресової реакції медоносних бджіл залежно від температурного режиму, які б можна було назвати критеріями оцінки?

2. У дисертації Ви описуєте процеси пероксидного окиснення ліпідів та адаптацію системи антиоксидантного захисту медоносних бджіл на тлі температурних змін. Прохання уточнити чому завпливу застосованої підгодівлі, особливо в умовах лабораторного експерименту, проходить зростання гідроперекисів ліпідів і ТБК-активних продуктів на тлі зниження активності каталази.

3. Чому для дослідження використали 10% розчин препарату «Aminosteril N-HEPA 8%» і впродовж 17 днів (експеримент 1)?

4. Чому було обрано для моделювання експерименту коливання температурного режиму 14 °C і 28 °C?

Волошук Оксана Миколаївна, кандидат біологічних наук (03.00.04–біохімія), доцент кафедри біохімії та біотехнології навчально-наукового інституту біології, хімії та біоресурсів Чернівецького національного університету імені Юрія Федьковича.

Дискусійні питання:

Чому ви утримували бджіл на експериментальних дієтах у польовому експерименті протягом чотирьох діб, а в лабораторних умовах протягом 17 діб? Чим зумовлений такий підхід вибору тривалості експерименту і чому в різних експериментах ви використовували для адаптації різні розчини вуглеводів?

Запитання та зауваження щодо оформлення та змісту дисертації:

1. Назва роботи не коректна, оскільки з назви не зрозуміло, про який стрес іде мова (температурний чи окислативний стрес); у меті роботи не відображено, що в роботі оцінена виживаність/смертність бджіл за умов різних температур утримання; зустрічаються не коректні формулювання, наприклад:
2. На с. 3 дисертант вказує, що «вміст ТБК-активних продуктів, толових груп та карбонільних похідних білків» є біохімічними показниками, які відображають стан не ферментативної ланки захисту організму. Таке формулювання є не коректним;
3. Пункт 3.4.3 називається «Вплив вуглеводних дієт на продукцію АФК...», проте у цьому розділі, як і у роботі загалом, визначення продукування АФК не проводилося; у роботі зустрічаються численні невідповідності між підписами/цифровими значеннями, наведеними на рисунках, і відповідним описом у тексті, наприклад:
4. На рис. 2.1.1 вказано, що вологість у одно рамочному ізоляторі складала 80 %, тоді як у тексті описано, що вологість складала 70 %;
5. Цифрові значення активності САТ, описані у тексті (с. 53), не збігаються з цифровими значеннями, відображеними на рис. 3.1.1;

6. Узагальнення на с. 55, що «підгодовля ... 30% цукровим сиропом сприяла зростанню активності САТ» не відповідає результатам, наведеним на рис. 3.1.1;
7. На с. 59 зазначено, що «в черевці найнижчі значення активності GST виявлено в групі, що не отримувала додаткової підгодовлі», що не відповідає отриманим результатам, оскільки на рис. 3.1.2 показано, що достовірної різниці між бджолами, які отримували підгодовлю фруктозою чи глюкозою порівняно з комахами без додаткової підгодовлі, немає (позначено літерою b)
8. На с. 63 вказано, що «за температури 14 °С у тканинах черевця вміст ТБКАП зазнавав деякого зростання у бджіл четвертого відбору, але в подальшому знижувався до попереднього рівня», що не відповідає результатам, наведеним на рис. 3.2.1;
9. На с. 69 вказано, що «активність GST була вищою за температури +5 °С ніж за +14 °С ...у черевці наприкінці експерименту», що не відповідає результатам, наведеним на рис. 3.2.3;
10. На с. 71 вказано, що найнижчою на 16 день була виживаність бджіл, які споживали 50% розчин сахарози, проте на рис. 3.3.2 відображено, що найнижча виживаність була у комах, які споживали розчин сахарози плюс амінокислоти.
11. На с. 77 вказано, що «споживання пилку ріпаку спричиняло більше зростання цього біомаркера (рівня карбонілювання), ніж пилок верби, що не відповідає результатам, наведеним на рис. 3.2.4
12. На ст. 90 «при температурі 28 °С різниця у вмісті карбонільних груп в тканинах грудей за підгодовлі різними дієтами виявилась статистично невірогідною», що не відповідає результатам, наведеним на рис. 3.4.4 (А).
- Дисертант наводить некоректні пояснення/узагальнення, які не впливають з результатів власних досліджень, зокрема:
 13. Автор вказує, що «глюкоза та фруктоза окремо мають відмінний вплив на метаболічні процеси бджоли...» (с. 56) проте визначення активності лише одного ензиму - каталази – не дозволяє робити узагальнення про метаболічні процеси загалом.
 14. Автор пояснює підсилення процесів ПОЛ зростанням продукції АФК (с. 64). Проте продукція АФК у роботі не вивчалася; аналогічно на с.67 вказано, що «наші дані свідчать, що підсилена генерація АФК ... викликає зростання активності САТ», що свідчить про маніпулятивний характер пояснень; відповідно пояснення на с. 94 «Високу концентрацію SH-груп у голові за підгодовлі глюкозою можна пояснити зниженням генерації АФК при використанні цієї дієти» є не коректним.
 15. На с. 79 дисертант розглядає підвищення активності каталази в голові бджіл, як захисну реакцію «на споживання дієт, що містять перекис водню» таке пояснення не є коректним, оскільки наявність/ вміст пероксиду водню дисертант не визначав.
 16. На с. 53 дисертант пояснює, що «Висока каталазна активність у черевці може бути пов'язана із життєдіяльністю мікрофлори кишечника», що не є коректним, оскільки на с. 48 у розділі Дослідження у лабораторних умовах, автор вказує, що у бджіл витягували кишечник перед відбором частин тіла.
- Зауваження щодо оформлення рисунків:
 17. На рис. 3.3.1 на осі ординат не вказано, за який час споживала одна бджола вказаний об'єм розчину (у мкл);
 18. На рис. 3.4.1, рис. 3.4.2 відсутні позначення достовірності показників.
 19. На рис. 3.4.2 (А) позначено криві виживання бджіл протягом 1 – 10 дня експерименту, на рис. 3.4.2 (В) – цей показник на 6-10 день експерименту. Фактично рис. В є частиною рис. А. Проте цифрові значення, наведені на рис. А не збігаються з цифровими значеннями на рис. В.
20. Коректно було б визначати показники окисного стресу в окремих органелах, виділених із тагм бджіл, а не у гомогенаті.
21. На ст. 48 не вказано як розраховували вміст ТБКАП після того, як визначили оптичну густину при довжині хвилі 532 та 600 нм.

22. У висновку 7 вказано, що «за допомогою зміни раціону харчування можна пом'якшити дію стресових факторів на робочих бджіл», проте не вказано, які ж раціони можуть бути рекомендовані пасічникам для підгодівлі бджіл з метою підвищення їх виживаності.
23. У роботі зустрічаються численні граматичні та стилістичні помилки, деякі речення дублюються або не мають закінчення (с. 22, 26, 29, 30, 34-35, 42, 50, 61, 74, 85, 86, 87, 90, 105, 106 тощо), зустрічаються некоректні висловлювання: «окиснених модифікацій» (с. 27), «субодиниця має глибоко вбудовану систему гему» (с. 29), «комахи не мають активності GRX» (с. 31), «дієтичне співвідношення макроелементів» (с. 42); не коректно наведені скорочені су пероксиду (с. 26-34).

Запитання:

1. Дисертантом показано, що «збільшення виживаності робочих бджіл за споживання певних дієт може бути пов'язане із зростанням перекисного окислення ліпідів та карбонілювання білків» (с. 4). також у роботі показано, що найвищу виживаність мали бджоли, у яких рівень ТБКАП був найвищим. Як можна пояснити такий контрверсійний факт?

2. При проведенні експерименту у польових умовах бджіл два тижні підгодовували 30% розчином сахарози, після чого протягом 4-х діб бджоли споживали різні дієти, після чого бджіл знову переводили на початкову дієту (с. 44). у той час у експерименті 1 на певному раціоні бджіл утримували протягом 17 діб (с. 45). Чим зумовлений вибір тривалості підгодівлі бджіл різними дієтами і чи достатньо 4 діб споживання таких дієт, щоб індукувати зміни активності вільно радикальних процесів?

3. У дослідженні впливу підгодівлі пилком, пергою та сумішшю амінокислот використовували бджоли з пасіки Університету природничих наук у м. Люблін, тоді як у інших дослідженнях використовували бджоли місцевої популяції (гібриди карпатської, української степової та кавказької порід). Чи не можуть встановлені показники окисдативного стресу чи активності каталази у комах, різних за походженням, бути зумовлені їх генетичною різноманітністю?

4. Чому з метою адаптації бджіл до умов досліду у різних експериментах комах годували різними розчинами: у польових умовах – 30 % розчином сахарози, у експерименті 1-50 % розчином сахарози, у експерименті 2 – 25 % розчин глюкози + 25 % розчин фруктози?

5. На с. 49 (розділ Матеріали і методи) вказано, що у роботі визначали вміст загальних тіолів, проте на с. 93 (розділ Результати та їх обговорення) вказано, що у роботі досліджували вміст низькомолекулярних тіолів (пункт 3.4.3.3 Вміст низькомолекулярних тіолів за різних вуглеводневих підгодівель). Оскільки методичні підходи до визначення вмісту загальних та низькомолекулярних тіолів відрізняється, то потребує уточнення, то що ж все-таки визначав дисертант?

6. Як можна пояснити, що припинення підгодівлі викликало зменшення активності САТ у черевці, тоді як у грудях і голові цей показник не змінився (рис. 3.1.1)?

7. На с. 59 вказано, що «різниця в активності GST...може бути зумовлена різницею в експресії відповідних генів». Таке пояснення є спекулятивним, оскільки у роботі експресія цих генів не вивчалася. Поясніть, який існує зв'язок між харчуванням і експресією генів, що кодують цей ензим?

8. На рис. 3.4.1 вказано, що бджоли, які споживали 50% розчин сахарози, у середньому споживали понад 100 мкл/особину, тоді як на рисунку 3.3.1 тварини контрольної групи, які також отримували 50 % розчин сахарози, у середньому споживали 40-50 мкл/особину. Як можна пояснити таку різницю в об'ємі спожитого корму між особинами при проведенні різних експериментів?

9. Який можливий механізм посилення утворення ТБКАП у голові бджіл за умови споживання перги ріпаку порівняно з бджолами, які споживали пергу верби, та відсутності достовірних змін цього показника у черевці цих бджіл?

10. Дисертант розглядає накопичення біомаркерів окислювального походження як прямий наслідок споживання прооксидантів з їжею (с. 81), висновок 4 (с. 111). Про які прооксиданти іде мова, якщо їх склад та вміст у дієтах не визначався?

11. Як пояснити, що споживання пилку верби не впливало на вміст ТБКАП у голові і черевці робочих бджіл, проте індукувало підвищення вмісту карбонільних похідних у черевці?

12. На с. 99 вказано, що «складається враження, що виживаність бджіл за підгодовлі різними вуглеводними дієтами корелює із активністю SOD у черевці». Чи підтверджено таке припущення результатами кореляційного аналізу і чи корелює виживаність із активністю SOD у інших тагмах?

13. У пункті 3.4.4.2 дисертант вказує, що «найвища активність САТ у голові виявлена при використанні дієт, за яких спостерігається найвища смертність робочих бджіл». Який зв'язок між активністю САТ і смертністю робочих бджіл?

Жук Аліна Володимирівна, кандидат біологічних наук (03.00.16—екологія), доцент кафедри екології та біомоніторингу навчально- наукового інституту біології, хімії та біоресурсів Чернівецького національного університету імені Юрія Федьковича.

Дискусійні питання:

У який спосіб ви отримували штучну пергу і чому ви надавали перевагу штучній перзі над натуральною?

Питання, побажання та зауваження:

1. У Розділі 2 було б доцільно вказати, як було забезпечено дотримання етичних стандартів у відношенні до тваринництва під час експерименту та збору бджолиних зразків.

2. Дизайн лабораторного експерименту не містить обґрунтування вибору дієт.

3. Відомо, що в природних умовах бджоли споживають квітковий пилок у формі перги. З цієї точки зору не зовсім зрозумілим є вибір пилку як корму.

4. Для польового експерименту автором було обрано лише два біомаркери стресу. Можливо, було б доречним використати більшу кількість показників в цьому експерименті.

5. Потребує роз'яснення, у який спосіб отримані на дослідній вибірці результати можна екстраполювати на повноцінну колонію бджоли.

6. Автор зазначає, що додавання суміші амінокислот (дієта 2) до розчину сахарози не збільшило виживаність бджіл. Причому при застосуванні цієї дієти найвища смертність порівняно з іншими варіантами підгодовлі спостерігалася починаючи з 10-ї доби. Чим мотивований вибір «Aminosteril N-HEPA 8 %» для застосування у бджільництві?

7. В роботі не вказується, чи був використаний практичний досвід бджолярів при обранні оптимальних умов харчування бджіл.

Результати голосування:

«За» 5 членів ради,
«Проти» 0 членів ради,

На підставі результатів голосування спеціалізована вчена рада ДФ 76.051.046 присуджує **Каравану Володимиру Васильовичу** ступінь доктора філософії з галузі знань 09 Біологія за спеціальністю 091 Біологія.

Голова спеціалізованої
вченої ради, ДФ 76.051.046
завідувач кафедри екології та біомоніторингу
НН ІБХБ Чернівецького національного
університету імені Юрія Федьковича
доктор біологічних наук, професор

Марія ФЕДОРЯК