

ЗАТВЕРДЖУЮ
Ректор Тернопільського національного педагогічного
університету імені Володимира Гнатюка

Буяк Богдан Богданович



АНОТОВАНИЙ ЗВІТ
про виконану роботу у 2020 році в рамках реалізації проєкту
із виконання наукових досліджень і розробок
**«Розробка методології інтегральної оцінки біобезпеки забруднення оточуючого
середовища пестицидами для цільових та нецільових організмів»**

Назва конкурсу: «Підтримка досліджень провідних та молодих учених»
Рєсстраційний номер Проєкту: 2020.02/0270

Підстава для реалізації Проєкту з виконання наукових досліджень і розробок 2020.02/0270
«Розробка методології інтегральної оцінки біобезпеки забруднення оточуючого середовища
пестицидами для цільових та нецільових організмів»

Рішення наукової ради Національного фонду досліджень України щодо визначення переможця
конкурсу «Підтримка досліджень провідних та молодих учених», протокол від «16-17»
вересня 2020 року № 21

1. ЗАГАЛЬНА ІНФОРМАЦІЯ ПРО ПРОЄКТ

Тривалість виконання Проєкту
Початок – 27 жовтня 2020 р.
Закінчення – 31 грудня 2022 р.

Загальна вартість Проєкту, грн. 9 700 000

Вартість Проєкту по роках, грн.:

1-й рік 2 000 000
2-й рік 4 669 950
3-й рік 3 030 050

2. ІНФОРМАЦІЯ ПРО ВИКОНАВЦІВ ПРОЄКТУ

до виконання Проєкту буде залучено 10 виконавців, з них:
доктори наук 2 ;
кандидати наук 2 ;
інші працівники 6 .

3. ІНФОРМАЦІЯ ПРО ГРАНТООТРИМУВАЧА ТА ОРГАНІЗАЦІЮ(І) СУБВИКОНАВЦЯ(ІВ) ПРОЄКТУ

Тернопільський національний педагогічний університет імені Володимира Гнатюка
Субвиконавець не залучається

4. ОПИС ПРОЄКТУ

4.1. Мета Проєкту (до 200 знаків)

Дослідження фізіологічних, біохімічних і молекулярних механізмів відповіді плодової мушки *Drosophila melanogaster*, планктонної ракоподібної дафнії *Daphnia magna* та коропової рибки *Danio rerio* до впливу широкоживаних гербіцидів та інсектицидів за умов індивідуальної та комплексної дії.

4.2. Основні завдання Проєкту (до 400 знаків)

1. Визначити стан стресочутливих систем, метаболічний профіль та ознаки цитотоксичності хребетних на прикладі даніо до впливу широкоживаних пестицидів.
2. Дослідити фізіологічні та біохімічні показники у дафнії за впливу пестицидів.
3. Встановити діапазон толерантності та молекулярні механізми адаптації комах на прикладі дрозофіл як цільових організмів до впливу інсектицидів та нецільових до впливу гербіцидів.
4. Порівняти системну відповідь нецільових дафнії, даніо та цільових організмів дрозофіли до впливу пестицидів та визначити ключові стратегії адаптації до них залежно від рівня еволюційного розвитку та екологічних потреб.
5. Визначити мінімальний набір маркерів стресу для оцінки токсичності для цільових і нецільових організмів та розробити на їх основі тест-систему для визначення рівня біобезпеки пестицидів.
6. Побудувати модель прогнозу можливих наслідків збільшення обсягів використання пестицидів для нецільових організмів з можливою екстраполяцією на вищих хребетних та людину.

4.3. Детальний зміст Проєкту:

- Сучасний стан проблеми (до 400 знаків)

За умов комплексного забруднення водойм, безпосереднє вимірювання хімічних речовин і їх похідних не є достатнім критерієм для оцінки новітніх небезпек, що особливо актуально для органічних забруднювачів, зокрема пестицидів. Стандартизовані панелі біомаркерів та тест-системи для оцінки такого впливу на довкілля та біоту відсутні. Особливо гострим є питання зростаючої небезпеки системної пошкоджувальної дії для нецільових організмів, у тому числі і людини.

- Новизна Проєкту (до 400 знаків)

Запропонований проєкт спрямований на вирішення вищезазначених питань шляхом: і) визначення спільних та відмінних стратегій адаптації у дрозофіли та даніо/дафнії як цільових/нецільових організмів до негативної дії гербіцидів та інсектицидів за умов індивідуального та комплексного впливу, та ii) розробки прототипу тест-системи для експрес-діагностики біобезпеки пестицидів.

- Методологія дослідження (до 400 знаків)

Для дослідження обрано найбільш широкоживані гербіциди та інсектициди (раундап, атразин, хлорперифос та малатіон). Реакції цільових (*D. melanogaster*) та нецільових (*D. magna* і *D. rerio*) організмів до впливу пошкоджувальних чинників визначено на різних рівнях біологічної організації сучасними методами флуоресцентної мікроскопії, ПЛР, флуоресцентного та ІФА аналізів, спектрофотометрії та мікроскопії.

5. ОТРИМАНІ НАУКОВІ АБО НАУКОВО-ТЕХНІЧНІ РЕЗУЛЬТАТИ (до 2 сторінок) в поточному році/ в рамках реалізації Проєкту, зокрема:

5.1. Опис наукових або науково-технічних результатів, отриманих в рамках виконання Проєкту (із зазначенням їх якісних та кількісних (технічних) характеристик)

На основі визначення показників окисного стресу, гено- та цитотоксичності печінки смугастого даніо доведено, що атразин проявляє більш помітний пошкоджуючий вплив, порівняно з раундапом. Зокрема, раундап в екологічно реальних концентраціях (15 мкг/л) викликає активацію антиоксидантного захисту (загальна антиоксидантна активність, каталазна активність, стан тіолового пулу), з наступним його пригніченням за впливу високої концентрації (500 мкг/л). У той же час для атразину відзначено зсув антиоксидантно-прооксидантної рівноваги у бік прооксидантних процесів (за показниками окисного ушкодження біомолекул, рівня активних форм

Оксигену та Нітрогену), особливо за впливу високої концентрації діючого чинника (30 мкг/л). Висновки щодо вищої токсичності атразину порівняно з раундапом, зроблені на підставі аналізу показників окисного стресу підтверджуються і визначенням рівня фрагментації ДНК (як показник генотоксичності) та каспаза-3 активності і рівня м-РНК, як ключового ензиму апоптозу (показник цитотоксичності). *Gadd45* бере участь у частковому пом'якшенні генотоксичного стресу, спричиненого дією атразину на смугастого даніо. Домінантою є природа діючого чинника, концентраційна залежність має другорядний характер. Відповідь даніо на вплив низької концентрації раундапу можна класифікувати як низькотоксичну, в межах адаптивного потенціалу, тоді як висока концентрація діючого чинника і атразин в обох досліджуваних концентраціях проявляє чітко виражений негативний ефект на фізіолого-біохімічні системи даніо. Раундап та, особливо, атразин мають чіткий ендокрин- та імунодисруптивний ефекти, тоді як загальноприйнятих ознак нейротоксичності (за показником АХЕ активності у мозку даніо) зареєстровано не було. Згідно результатів методу головних компонент та дискримінантного аналізу показники ендокринних розладів (вітелогенін), окисного стресу (загальна антиоксидантна активність, глутатіон) та біотрансформації належать до доміантних для специфікації груп за типом та глибиною пошкоджуючих ефектів. Внесення *Chlorella vulgaris* у кількості близько 100 тис. кл/дм³ у середовище не продемонструвало істотного коригуючого впливу на токсичність гербіцидів для нетаргетного організму *Danio rerio*, що не виключає позитивного впливу водоростей на функціонування екосистеми загалом та потребує більш детального аналізу.

Досліджувані гербіциди також викликають оксидативний стрес і у дафній, про що свідчать зміни активності антиоксидантних ферментів (СОД, каталаза) та показників оксидативного стресу (карбонільних груп білків, пероксидів ліпідів, тіольних груп). Найбільш ефективним маркером гострої дії Раундапу і Атразину на дафній може бути вміст карбонільних груп білків, який вже за 0,1 мкг/л цих гербіцидів істотно збільшується порівняно з контрольним значенням. Загибель половини (LC₅₀) або всіх (LC₁₀₀) особин дафній спостерігається за дії Раундапу LC₅₀²⁴=0,022 мг/л, LC₅₀⁴⁸=0,008 мг/л, LC₁₀₀²⁴=30 мг/л і LC₁₀₀⁴⁸=10 мг/л; та Атразину LC₅₀²⁴=40 мг/л, LC₅₀⁴⁸=7 мг/л, LC₁₀₀²⁴=100 мг/л і LC₁₀₀⁴⁸=50 мг/л.

На основі визначення фізіологічних показників на стадії личинки (швидкість заляльковування, виживання яйце/муха, висота заляльковування) показано, що атразин та раундап у складі поживних середовищ впливають на параметри заляльковування комах та у високих концентраціях затримують розвиток *D. melanogaster*. Концентрацією атразину, що не викликає зміни розвитку (NOEC) *D. melanogaster* виявлено 0,01 г/л. Також встановлено, що концентрація атразину 0,005 г/л є мінімальною концентрацією, що впливає на швидкість заляльковування плодової мушки (LOEC). Високі концентрації атразину (0,05 та 0,1 г/л) у суміші із 1 та 2,5 г/л раундапу у середовищі затримують розвиток дрозофіл. Аналіз отриманих даних за допомогою тесту Probit, виявив, що LC₅₀ для атразину коливається в діапазоні 6,9-10,2 г/л, для раундапу LC₅₀ 14,68-17,2 г/л, що узгоджується із даними визначення виживання яйце/муха.

За результатами виконання I етапу Проєкту опубліковано статтю у фаховому виданні категорії Б, подано матеріали для апробації на міжнародній конференції «*Sustainable Futures: Environmental, Technological, Social and Economic Matters*», матеріали якої індексуються у *Scopus*, частина результатів використана для оформлення деклараційного патенту на корисну модель (заявка № u2020 06532) та оформлено науковий звіт про проміжні результати реалізації Проєкту.

5.2. За наявності науково-технічної продукції обґрунтування її переваг у порівнянні з існуючими аналогами

Проведені нами дослідження дозволили заповнити окремі прогалини в теоретичних та практичних відомостях щодо визначення спільних та відмінних стратегій адаптації у дрозофіли, даніо та дафнії як нецільових організмів до негативної дії гербіцидів за умов індивідуальної дії. Одержані на даний час результати, як частина цілісної картини завдань проєкту, нові та актуальні не лише в межах наукового простору України, але й за її межами, відповідають світовим екоотоксикологічним стандартам. Вони дають поштовх до пошуку біосорбентів або менш токсичних аналогів раундапу та, особливо, атразину як представника класу хлортриазинових пестицидів, позаяк стверджують небезпеку досліджуваних сполук навіть у фонових концентраціях для живих організмів на різних рівнях біологічного розвитку.

5.3. Практична цінність отриманих результатів реалізації Проєкту для економіки та суспільства (стосується проєктів, що передбачають проведення прикладних наукових досліджень і науково-технічних розробок)

Результати проєкту піднімають визначення токсичності та питання біобезпеки пестицидів на якісно новий рівень на основі комплексного та міждисциплінарного підходу. У результаті цілісного виконання проєкту буде розроблено деталізований протокол оцінки токсичності пестицидів на основі тест-системи з використанням данію, дафній та дрозофіл, а також методичні рекомендації щодо його використання. Результати виконаних робіт за етапом I є необхідною частиною розробки деталізованого протоколу. Очікується, що запропонована тест-система буде перевершувати існуючі аналоги в світі. Прототип тест-системи з використанням показників данію був представлений для громадськості та венчурних компаній у межах програми “Gist innovates Ukraine” та схвалений бізнес-менторами США (сертифікат участі в програмі додається).

5.4. Опис шляхів та способів подальшого використання результатів виконання Проєкту в суспільній практиці.

Матеріали, одержані в проєкті, використовуються для створення еко-просвітницького ролику як дієвого засобу впливу на суспільну екологічну свідомість споживачів, виробників продукції та влади (відповідно до рекомендацій коучерів та бізнесменторів в рамках програми Gist), спрямованого на підвищення розуміння нормованого використання потенційно-токсичних для тварин та людини пестицидів, пошуку менш токсичних аналогів, біоремедіаційних заходів чи альтернативних шляхів інтенсивного ведення сільського господарства.

Одержані на даний час результати, як частина цілісної картини завдань проєкту нові та актуальні не лише в межах наукового простору України, але й за її межами, відповідають світовим екотоксикологічним стандартам. Частина результатів, що висвітлені у матеріалах міжнародної конференції «*Sustainable Futures: Environmental, Technological, Social and Economic Matters*», прийняті для усної доповіді і будуть представлені науковцям та громадськості навесні 2021 р.

Результати проєкту можуть бути застосовані в екологічному моніторингу прісноводних екосистем, для передбачення ризиків пошкоджуючого впливу широковживаних в сільськогосподарських угіддях України пестицидів, для оцінки ефектів впливу токсикантів на біоту з подальшою екстраполяцією результатів для людини. Результати проєкту стали передумовою інтеграції в міжнародний консорціум щодо підготовки проєктної заявки на конкурс Horizon2020 Green Deal (action #8.1), спільно з партнерами з Німеччини, Італії, Польщі та Угорщини, присвяченої встановленню механізмів адаптації до пошкоджуючого впливу новітніх забруднювачів у прісноводних (включаючи смугастого данію) та морських тварин. За результатами проєкту оформлені акти впровадження результатів Управлінням екології та природних ресурсів в Тернопільській області та Національним природним парком «Кременецькі гори».

Примітка: Анотований звіт не повинен містити відомостей, заборонених до відкритого опублікування

Науковий керівник Проєкту

Фальфушинська Галина Іванівна

проректор з наукової роботи та міжнародного співробітництва



(підпис)