

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу

Паренюк Олени Юрїївни

«Комплексна оцінка мікробіомів забруднених радіонуклідами ґрунтів і субстратів антропогенних систем»,

представлену на здобуття наукового ступеня доктора біологічних наук
за спеціальністю **03.00.01 – радіобіологія**

Актуальність роботи. Дисертаційна робота Паренюк О.Ю. присвячена актуальній науковій і практичній проблемі – комплексній оцінці мікробіомів ґрунтів і техногенних субстратів, забруднених радіонуклідами, у зонах впливу аварій на Чорнобильській АЕС та АЕС Фукусіма-1, а також у внутрішніх приміщеннях об'єкта «Укриття» ЧАЕС.

Мікроорганізми є однією з ключових функціональних ланок екосистем, беруть участь у біогеохімічних циклах, обумовлюючи трансформацію хімічних елементів і вплив на біологічну доступність радіонуклідів у ґрунтовому середовищі. В умовах хронічного радіонуклідного забруднення мікробні угруповання можуть виступати чутливими індикаторами змін середовища та відображати як прямі, так і опосередковані ефекти іонізуючого випромінювання, в тому числі швидкість деструкції будівельних матеріалів.

Особливої ваги такі дослідження набувають для територій, де радіаційний чинник діє у поєднанні з іншими факторами – кислотністю або лужністю субстрату, вмістом органічної речовини, азотним режимом, сезонною динамікою вологості, типом ґрунту або техногенного матеріалу. Саме тому вивчення мікробіомів радіонуклідно забруднених ґрунтів і субстратів має істотне значення для радіобіології, радіоекології, екології мікроорганізмів та оцінки довготривалих наслідків радіаційних аварій.

Метою дослідження є встановлення радіобіологічних закономірностей формування таксономічної структури та функціонального потенціалу мікробіомів ґрунтів і техногенних субстратів, забруднених радіонуклідами, за умов хронічного радіаційного впливу та різного рівня поглинутої дози з урахуванням біогеохімічних модифікаторів середовища.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконувалася в межах наукових тематик кафедри радіобіології та радіоекології НУБіП України, зокрема тем, пов'язаних із вивченням закономірностей впливу радіонуклідного забруднення території на біорізноманіття ґрунтової мікрофлори та прогнозуванням стану мікрофлори на об'єктах ядерного паливного циклу. Це підтверджує відповідність дисертації пріоритетним напрямам сучасної радіобіології та радіоекології.

Ступінь обґрунтованості і достовірності наукових положень, висновків і рекомендацій. Наукові положення, сформульовані в дисертаційній роботі, є цілковито обґрунтованими. Достовірність одержаних результатів забезпечена значним обсягом експериментального матеріалу, використанням сучасних молекулярно-генетичних, фізико-хімічних, агрохімічних, радіометричних, біоінформативних і статистичних методів дослідження.

В дослідженні застосовані найновіші методи молекулярно – генетичного аналізу та біоінформатики. Проведено секвенування 16S рРНК, повногеномне секвенування, аналіз альфа- і бета-різноманіття, функціональну реконструкцію мікробіомів, а також статистичні оцінки зв'язків між структурою мікробних угруповань і параметрами середовища. Ключовим досягненням роботи є те, що результати розглядаються через взаємодію радіаційного чинника з едафічними, хімічними, трофічними та техногенними умовами.

Повнота викладення одержаних результатів у наукових працях. Основні результати дисертаційної роботи опубліковано у наукових працях здобувачки, зокрема у фахових виданнях України та виданнях, що індексуються у міжнародних наукометричних базах. Матеріали роботи також були апробовані на міжнародних і вітчизняних наукових конференціях, що свідчить про достатній рівень представлення результатів і обговорення їх у науковому середовищі.

Дисертаційна робота складається з анотації українською та англійською мовами, переліку умовних позначень, вступу, шести розділів, висновків і списку використаної літератури. Роботу викладено на 320 сторінках друкованого тексту, вона містить 51 таблицю, 62 рисунки та список використаних джерел, що охоплює 394 найменування.

Науково-теоретичне і практичне значення одержаних результатів. У дисертації отримано нові дані щодо таксономічної структури та функціональних характеристик мікробіомів ґрунтів, забруднених радіонуклідами і техногенних субстратів України та Японії. Важливим науковим результатом є запропонований авторкою підхід до розгляду мікробіому як інтегрального індикатора дії радіаційно-біогеохімічного фільтра.

У межах цієї концепції дозове навантаження розглядається у взаємодії з факторами довкілля: рН, азотним режимом, органічною речовиною, сезонністю, вологістю та типом субстрату. Такий підхід дозволяє більш коректно оцінювати відповідь мікробних угруповань у природних і техногенних системах, що перебувають під впливом хронічного радіонуклідного забруднення.

Практичне значення роботи полягає у можливості використання отриманих результатів для радіоекологічного моніторингу, оцінки стану ґрунтових мікробіомів, наукового супроводу досліджень на об'єктах ядерно-паливного циклу, прогнозуванню на основі математичного моделювання міграційних процесів.

Слід відзначити, що результати роботи впроваджено у науково-дослідну та прикладну діяльність профільних установ і організацій, а також використовуються у підготовці фахівців у галузі радіоекології та радіобіології..

Оцінка змісту дисертаційної роботи. У вступі дисертанткою обґрунтовано актуальність теми, сформульовано мету, завдання, об'єкт і предмет дослідження, визначено наукову новизну, практичне значення та особистий внесок здобувачки. Важливо, що у вступі є чітке формулювання наукової проблеми – встановлення закономірностей формування структури та функціонального потенціалу мікробіомів за умов хронічного радіонуклідного забруднення. У вступній частині авторка не обмежується описом мікробного різноманіття, а окреслює радіобіологічну логіку дослідження, у якій мікробіом розглядається як ключова система біогеохімічних циклів, що реагує на взаємодію дозового навантаження та біогеохімічних характеристик середовища.

У **першому розділі** узагальнено сучасні уявлення про радіонуклідне забруднення територій Чорнобильської зони відчуження та зон навколо АЕС Фукусіма-1, ролі мікроорганізмів у біогеохімічних циклах, перерозподілі радіонуклідів, а також механізми радіостійкості мікроорганізмів. Важливою особливістю розділу є широкий міждисциплінарний огляд, який поєднує радіобіологічні, радіоекологічні, мікробіологічні та молекулярно-біологічні аспекти проблеми. Авторка демонструє добру обізнаність із сучасними підходами до вивчення мікробіомів, а також обґрунтовує необхідність застосування метагеномних методів для аналізу складних природних і техногенних систем. Особливо важливим є те, що в огляді показано не лише потенційний вплив іонізуючого

випромінювання на мікроорганізми, а й роль супутніх факторів – рН, вологості, трофічного режиму, органічної речовини та типу субстрату.

У другому розділі наведено об'єкти, умови та методи проведення досліджень. Розділ має важливе методичне значення, оскільки в ньому описано найсучасніші методи метагеномного аналізу, включаючи виділення та секвенування ДНК, статистичного аналізу результатів, одночасно з даними відбір проб, визначення фізико-хімічних і агрохімічних характеристик ґрунтів і субстратів, вимірювання радіоактивності, розрахунок дозових навантажень, виділення та секвенування ДНК, біоінформатичну обробку та статистичний аналіз. Сильною стороною розділу є поєднання класичних радіоекологічних і агрохімічних підходів із сучасними молекулярно-генетичними та біоінформатичними методами. Введено теоретичні схеми інтеграції радіаційних, біогеохімічних і мікробіомних даних. Це дозволяє уникнути розгляду досліджуваних об'єктів як окремих непов'язаних систем і формує цілісний порівняльний дизайн роботи.

У третьому розділі досліджено мікробіоми приміщень об'єкта «Укриття» ЧАЕС. Цей розділ, нашою точки зору, є ключовим у дисертаційній роботі, оскільки стосується унікального техногенного об'єкта, складного для біологічних досліджень через високу гетерогенність субстратів, низьку біомасу, техногенне походження матеріалу та підвищені рівні радіаційного випромінювання. Найбільш важливою стороною розділу є виявлення мікробних угруповань у середовищах, які традиційно розглядаються переважно з позицій радіаційної безпеки та інженерного контролю. Охарактеризовано мікробіоми різних зон доступу, проаналізовано таксономічну структуру угруповань і проведено повногеномний аналіз окремих зразків. Важливим є також обговорення потенційної ролі мікроорганізмів у процесах трансформації техногенних субстратів, в тому числі їхню корозію.

У четвертому розділі представлено результати дослідження мікробіомів ґрунтів Чорнобильської зони відчуження. Дослідження має комплексний характер, тобто поєднує агрохімічні, радіометричні і мікробіомні дані. Проаналізовано фізико-хімічні характеристики ґрунтів, рівні радіонуклідного забруднення, концентрацію виділеної ДНК, показники альфа- і бета-різноманіття, а також зв'язок структури мікробних угруповань із факторами середовища. Отримані результати інтерпретовано з урахуванням радіаційного навантаження, азотного режиму, органічної речовини, рН та інших властивостей ґрунту. Це демонструє складність відповіді мікробних угруповань на хронічне радіонуклідне забруднення.

П'ятий розділ присвячено мікробіомам ґрунтів зон, які важко повернути у господарювання навколо АЕС Фукусіма-1. При дослідженні залучено незалежні пост аварійні системи для порівняння з Чорнобильською зоною відчуження. Враховано відмінності кліматичних, ґрунтових, гідрологічних, сезонних умов, що дозволяє оцінити, які закономірності є спільними для радіонуклідно забруднених територій, а які пов'язані з особливістю довкілля. Цінним є аналіз сезонної динаміки та її впливу на структуру мікробних угруповань. Розділ дозволяє сформулювати ширші узагальнення щодо мікробіомів пост аварійних екосистем.

У шостому розділі наведено оцінки поглинутої дози для ґрунтових мікроорганізмів. Цей розділ є важливим для радіобіологічної інтерпретації отриманих мікробіомних даних, оскільки дає змогу перейти від опису радіонуклідного забруднення середовища до оцінки потенційного дозового навантаження на мікробні клітини. Проведена інтеграція дозиметричних розрахунків з даними про структуру мікробних угруповань. Цінність такого дослідження полягає саме в тому, що оцінка доз дозволяє коректніше обговорювати

радіобіологічні ефекти, а не обмежуватися лише показниками питомої активності радіонуклідів у ґрунті або субстраті.

Висновки дисертаційної роботи в цілому відповідають поставленій меті та завданням, відображають основні результати дослідження і містять теоретичні узагальнення щодо формування мікробіомів у радіонуклідно забруднених природних і техногенних системах. Авторка формулює не лише окремі експериментальні результати, а й узагальнює їх у межах ширшої концепції радіаційно-біогеохімічного фільтра.

Зауваження, побажання, дискусійні питання. Дослідження виконано на високому науково-методичному рівні, та як і кожна наукова робота надає поштовх подальшим дослідженням, містить окремі положення, що можуть бути предметом дискусії або подальшого розвитку.

Наше головне побажання стосується подальших кількісних оцінок не тільки річних, але й нагромаджених доз та пов'язаних з цим потенційних змін в деструкційній активності мікрофлори. В роботі проведено розрахунки тільки зовнішнього опромінення мікрофлори, але сучасний стан проблеми дозволяє обрахувати і дозу внутрішнього опромінення від інкорпорованих радіонуклідів та сумарну кумулятивну дозу нагромаджену за покоління. Відомо, що опромінення підвищує агресивність екзометаболіти різних організмів. Останній показник дуже важливий, оскільки є основою прогнозу руйнації різних споруд і зонах радіонуклідного забруднення.

Також зробимо лише деякі суто технічні зауваження відносно структури викладення матеріалу. :

Так, в розділі 3, таблиця 3.8 не вказано коефіцієнти якої кореляції розраховували: Пірсона або Спірмена (рангова кореляція).

Підрозділ 3.5 «Метрики для оцінки різноманіття всередині спільноти (альфа різноманіття) » доцільно було розглянути у другому розділі «Методи...», 3-й розділ присвятити власне аналізу результатів.

Розділ 4. Підрозділ 4.1 доцільно було розглянути в Розділі 1, який і був присвячено в, тому числі, характеристикам забруднених радіонуклідами територій.

Розділ 4. підрозділ 4.3. Стор.174. Не вказано значимість коефіцієнту кореляції Пірсона між концентрацією ДНК та вмістом сполук азоту, що легко гідролізуються.

Розділ 4. підрозділ 4.4. стор. 175 -181. Робота з програмами підготовки даних до секвенування до кластеризації, візуалізації і робота з модулями підпрограм доцільно було б перенести у Додаток. Матеріал, що розміщено на цих сторінках, тобто багаторазове посилання на команди, що виконуються при роботі з програмами, руйнує сприйняття результатів дослідження, одержаних при роботі з цими програмами.

Загальні міркування. Авторка опанувала і набула великий досвід роботи з різноманітними сучасними програмами молекулярно –генетичних та екологічних досліджень. В основу будь – якої програми покладено певний математичний апарат, наприклад, метод головних компонент, що є поєднанням багатомірної статистики і алгебри. Було б доцільно, особливо для використання у педагогічній практиці позначити, які математичні методи лежать в основі цих програм.

Всі зроблені зауваження і загальні міркування, що наведені у відгуку, тільки підкреслюють непересічність роботи, що розглядається. Вони мають рекомендаційний характер, не знижують загальної позитивної оцінки дисертаційної роботи, її наукового і практичного значення.

досліджень. В основу будь – якої програми покладено певний математичний апарат, наприклад, метод головних компонент, що є поєднанням багатомірної статистики і алгебри. Було б доцільно, особливо для використання у педагогічній практиці позначити, які математичні методи лежать в основі цих програм.

Всі зроблені зауваження і загальні міркування, що наведені у відгуку, тільки підкреслюють непересічність роботи, що розглядається. Вони мають рекомендаційний характер, не знижують загальної позитивної оцінки дисертаційної роботи, її наукового і практичного значення.

Загальна оцінка дисертації та висновок

Результати аналізу дисертації і наукових публікацій свідчать про те, що авторкою виконана завершена науково-дослідна робота, яка має істотне наукове і практичне значення для розвитку радіобіології, радіоекології та екології мікроорганізмів.

Вважаю, що за актуальністю обраної теми, науково-методичним рівнем здійснення досліджень, науковою новизною і практичною значимістю їх результатів, за рівнем обґрунтованості зроблених висновків і пропозицій, дисертаційна робота Олени Юріївни Паренюк за темою «Комплексна оцінка мікробіомів забруднених радіонуклідами ґрунтів і субстратів антропогенних систем» є завершеною науковою працею, оформленою відповідно до вимог наказу Міністерства освіти і науки України № 40 від 12 січня 2017 року «Про затвердження вимог до оформлення дисертацій» та відповідає вимогам Порядку присудження та позбавлення наукового ступеня доктора наук, затвердженого постановою Кабінету міністрів України від 17 листопада 2021 року № 1197, а її автор Паренюк О.Ю. заслуговує на присудження наукового ступеня доктора біологічних наук з спеціальності 03.00.01* – радіобіологія.

Опонент

Офіційний опонент:

доктор біологічних наук, старший науковий співробітник, завідувачка відділу біофізики та радіобіології Інституту клітинної біології та генетичної інженерії Національної академії наук України



Олександра
КРАВЕЦЬ

