

ВІДГУК

офіційного опонента

на дисертаційну роботу Паренюк Олени Юріївни

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

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

Ступінь актуальності обраної теми докторської дисертації

Дисертаційна робота Паренюк Олени Юріївни присвячена актуальній проблемі сучасної радіобіології – комплексній оцінці мікробіомів ґрунтів і техногенних субстратів, забруднених радіонуклідами внаслідок аварій на Чорнобильській АЕС та АЕС Фукусіма-1, а також субстратів об'єкта «Укриття» ЧАЕС.

Актуальність обраної теми визначається тим, що мікроорганізми є однією з ключових функціональних складових природних і техногенних екосистем. Вони беруть участь у трансформації органічної речовини, біогеохімічних циклах, міграції елементів, а також можуть впливати на фізико-хімічний стан і біодоступність радіонуклідів. У радіонуклідно забруднених екосистемах мікроорганізми не лише зазнають дії іонізуючого випромінювання, але й можуть опосередковано впливати на перерозподіл радіонуклідів у ґрунтовому профілі та їх залучення до трофічних ланцюгів.

Особливо важливим є те, що робота стосується не модельних лабораторних систем, а реальних пост аварійних і техногенних об'єктів: Чорнобильської зони відчуження, зон, які важко повернути у господарювання навколо АЕС Фукусіма-1, та внутрішніх приміщень об'єкта «Укриття» ЧАЕС. Таке поєднання об'єктів дозволяє розглядати відповідь мікробних угруповань у широкому діапазоні природних, техногенних і радіаційних умов.

Важливість дисертації також зумовлена застосуванням сучасних молекулярно-генетичних і біоінформатичних підходів. Використання секвенування 16S рРНК, повногеномного аналізу, оцінки альфа- і бета-різноманіття, функціональної реконструкції мікробіомів і мультифакторного статистичного аналізу відповідає сучасному рівню досліджень у галузі мікробної екології та радіобіології.

Отже, тема дисертації є актуальною, науково обґрунтованою і має значення для розвитку радіобіології, радіоекології, екології мікроорганізмів, а також для оцінки довготривалих наслідків радіаційних аварій.

Обґрунтованість наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у докторській дисертації, їх новизна і загальнонаціональне або світове значення

Наукові положення, висновки та рекомендації дисертаційної роботи є достатньо обґрунтованими. Достовірність отриманих результатів забезпечена комплексним характером дослідження, використанням сучасних молекулярно-генетичних, радіометричних, агрохімічних, фізико-хімічних, біоінформатичних і статистичних методів.

Авторкою досліджено мікробіоти трьох типів об'єктів: техногенних субстратів приміщень об'єкта «Укриття» ЧАЕС, ґрунтів Чорнобильської зони відчуження та ґрунтів зон, які важко повернути у господарювання навколо АЕС Фукусіма-1. Така структура вибірки забезпечила широкий порівняльний матеріал і дозволила оцінити мікробні угруповання за різних рівнів радіонуклідного забруднення, дозового навантаження, типу субстрату та агрохімічних умов.

Позитивно слід відзначити, що дисертантка не обмежилася таксономічним описом мікробіотів, а поєднала його з аналізом фізико-хімічних характеристик субстратів, вмісту радіонуклідів, розрахунком дозових навантажень і статистичною оцінкою впливу факторів середовища на структуру мікробних угруповань. Такий підхід дозволяє розглядати мікробіоту як складну функціональну систему, що формується під дією комплексу радіаційних, едафічних, хімічних і техногенних чинників.

Наукова новизна дисертаційної роботи полягає в отриманні нових даних щодо таксономічної структури, біорізноманіття та функціонального потенціалу мікробіотів радіонуклідно забруднених ґрунтів і техногенних субстратів. Уперше проведено комплексну оцінку мікробіотів трьох принципово різних об'єктів: об'єкта «Укриття» ЧАЕС, Чорнобильської зони відчуження та зон, які важко повернути у господарювання навколо АЕС Фукусіма-1.

Особливої уваги заслуговує проведення повногеномного секвенування зразків з об'єкта «Укриття» ЧАЕС. Це дозволило отримати нові дані щодо таксономічного складу та функціонального профілю мікробіотів техногенних субстратів, які перебувають в умовах підвищеного радіаційного впливу, лужної реакції середовища, дефіциту доступних поживних речовин та наявності продуктів корозії.

У роботі встановлено, що структура мікробіотів забруднених радіонуклідами ґрунтів не визначається лише потужністю поглинутої дози, а формується під впливом комплексу факторів, серед яких важливими є азотний

режим, рН, органічна речовина, вологість, сезонність та тип субстрату. Водночас для високорадіоактивних техногенних субстратів ОУ ЧАЕС показано якісні особливості мікробних угруповань, що відрізняють їх від ґрунтових мікробіомів ЧЗВ та ЗВП ФАЕС.

Загальнонаціональне значення дисертації полягає в тому, що отримані результати поглиблюють наукові основи радіоекологічного моніторингу Чорнобильської зони відчуження та об'єкта «Укриття» ЧАЕС, а також можуть бути використані для оцінки стану мікробіомів на інших радіонуклідно забруднених територіях. Світове значення роботи визначається порівняльним аналізом двох найбільш відомих пост аварійних радіоактивно забруднених систем – Чорнобильської та Фукусімської.

Оцінка основного змісту та оформлення роботи

Дисертація має логічну структуру, 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.

У вступі обґрунтовано актуальність теми, сформульовано мету, завдання, об'єкт і предмет дослідження, наведено наукову новизну, практичне значення, особистий внесок здобувачки, відомості про апробацію результатів і публікації. Мета роботи сформульована коректно і відповідає змісту дисертації. Завдання дослідження охоплюють основні етапи роботи: від відбору зразків і визначення їхніх фізико-хімічних характеристик до метагеномного аналізу, функціональної реконструкції та оцінки внеску дозового навантаження порівняно з іншими факторами середовища.

У першому розділі наведено огляд сучасного стану проблеми щодо комплексної оцінки мікробіомів радіонуклідно забруднених ґрунтів і техногенних субстратів. Авторка розглядає загальну характеристику радіонуклідного забруднення Чорнобильської зони відчуження, екосистем зон, які важко повернути у господарювання навколо АЕС Фукусіма-1, роль мікроорганізмів у біотичних колообігах речовин, перерозподіл елементів ядерного палива, міграцію стронцію та цезію в екосистемах, а також питання радіостійкості мікроорганізмів. Розділ створює необхідне теоретичне підґрунтя для подальших експериментальних досліджень.

У другому розділі описано об'єкти, умови та методи проведення досліджень. Наведено інформацію про відбір проб ґрунтів і техногенних субстратів, точки

відбору, методи визначення фізико-хімічних характеристик, радіометричні дослідження, розрахунок дозових навантажень, виділення і секвенування ДНК, біоінформатичну та статистичну обробку результатів. Розділ є методично важливим, оскільки саме в ньому показано, яким чином авторка інтегрувала радіаційні, біогеохімічні й мікробіомні дані.

У третьому розділі досліджено мікробіоми приміщень об'єкта «Укриття» ЧАЕС. Цей розділ є одним із найбільш оригінальних у дисертаційній роботі, оскільки стосується техногенних субстратів, які суттєво відрізняються від сформованих ґрунтів за походженням, хімічним складом, структурою та умовами існування мікроорганізмів. Авторкою охарактеризовано внутрішні умови ОУ ЧАЕС, концентрацію тотальної ДНК у зразках, якість даних секвенування, загальне бактеріальне різноманіття, показники альфа-різноманіття, функціональні характеристики мікробіомів, а також результати повногеномного аналізу зразків R7 та R12.

Показано, що в техногенних субстратах ОУ ЧАЕС наявні мікроорганізми, здатні формувати угруповання навіть за умов підвищеного дозового навантаження, лужного рН, дефіциту доступних поживних речовин і неоднорідної субстратної матриці. При цьому в частині зразків зони суворого режиму ДНК виділити не вдалося, що може бути пов'язано як із високими дозовими навантаженнями, так і з особливостями субстратної матриці.

Важливим результатом є проведення повногеномного секвенування зразків з ОУ ЧАЕС, яке дозволило отримати значно ширшу таксономічну характеристику мікробіомів порівняно з аналізом 16S рРНК. Функціональний аналіз показав представленість білків, пов'язаних із транспортом, репарацією та рекомбінацією ДНК, двокомпонентними системами та іншими механізмами клітинної відповіді. З радіобіологічної точки зору цей розділ є особливо цінним, оскільки демонструє особливості мікробних угруповань у техногенних субстратах, які перебувають в умовах поєднаної дії радіаційного, хімічного та трофічного стресу.

У четвертому розділі досліджено видовий склад мікроорганізмів у ґрунтах Чорнобильської зони відчуження. Авторка наводить характеристику дослідних полігонів, агрохімічні показники ґрунтів, рівні радіонуклідного забруднення, концентрацію виділеної ДНК, результати препроцесінгу метагеномних даних, альфа- і бета-різноманіття, функціональну реконструкцію мікробіому та оцінку впливу факторів середовища.

Встановлено, що ґрунти ЧЗВ є відносно однорідними за основними агрохімічними показниками та відповідають типовим для Українського Полісся

дерново-підзолистим супіщаним і легкосуглинковим ґрунтам. У них виявлено низьку або дуже низьку забезпеченість гумусом, легкогідролізованим азотом та обмінним калієм, що є важливим фоном для інтерпретації структури мікробіомів.

У ґрунтах ЧЗВ ідентифіковано понад 4300 видів мікроорганізмів. Показано варіювання індексів різноманіття і домінування, а також зв'язок структури мікробіомів із вмістом амонійної форми азоту та ^{137}Cs . Особливо важливим є те, що авторка не трактує радіаційний вплив ізольовано, а розглядає його у зв'язку з поживним режимом ґрунту та іншими едафічними характеристиками. Результати розділу мають значення для розуміння довготривалого стану ґрунтових мікробіомів у Чорнобильській зоні відчуження.

У п'ятому розділі наведено результати дослідження мікробіомів ґрунтів зон, які важко повернути у господарювання навколо АЕС Фукусіма-1. Цей розділ суттєво посилює дисертацію, оскільки дозволяє порівняти мікробні угруповання двох різних пост аварійних систем – Чорнобильської та Фукусімської. Авторкою охарактеризовано агрохімічні властивості ґрунтів ЗВП ФАЕС, радіонуклідне забруднення точок відбору, просторову і сезонну динаміку дозового навантаження, концентрацію виділеної ДНК, якість секвенування, альфа- і бета-різноманіття та вплив факторів середовища на структуру мікробних спільнот.

У ґрунтах ЗВП ФАЕС ідентифіковано понад 7000 видів мікроорганізмів. Встановлено виражену сезонну динаміку таксономічного складу. На відміну від ЧЗВ, де серед домінантів переважали *Actinobacteria* та *Alphaproteobacteria*, у ґрунтах ЗВП ФАЕС домінували *Clostridia* та *Actinobacteria*, що відображає відмінності природних умов, трофічного режиму та характеру антропогенного впливу. Порівняння результатів, отриманих для ЧЗВ і ЗВП ФАЕС, дозволяє зробити обґрунтований висновок про те, що відповідь ґрунтових мікробіомів на радіонуклідне забруднення залежить від конкретного екологічного контексту, а не лише від рівня дозового навантаження.

У шостому розділі представлено моделювання поглинутої дози для ґрунтових мікроорганізмів. Цей розділ є важливим для радіобіологічної інтерпретації отриманих результатів, оскільки дозволяє перейти від характеристики радіонуклідного забруднення середовища до оцінки дозового навантаження на мікробні клітини. Авторка використовує програмні пакети *Biota DC* та *ERICA Tool* для розрахунку індивідуальних потужностей доз для бактеріальних клітин у точках відбору проб.

Показано, що для субстратів ОУ ЧАЕС характерні мілігрейні рівні потужності поглинутої дози, тоді як для ґрунтів ЧЗВ і ЗВП ФАЕС – мікрогрейні

рівні, із вираженою сезонною динамікою для японських зразків. Важливо, що дозиметричне моделювання в роботі не є ізольованим елементом, а використовується для інтерпретації мікробіомних результатів у поєднанні з агрохімічними, фізико-хімічними та таксономічними даними. Це підсилює радіобіологічний характер дисертації.

Дисертація оформлена відповідно до вимог, матеріал викладено послідовно, науковий стиль загалом витриманий. Таблиці та рисунки ілюструють основні результати дослідження і сприяють їхньому розумінню.

Повнота викладу в наукових публікаціях, зарахованих за темою дисертації

Основні результати дисертаційної роботи опубліковано в 40 наукових працях, серед яких 21 стаття, з них 9 статей у виданнях, що індексуються у базі Scopus, 12 публікацій у фахових виданнях України, а також 20 тез доповідей у збірниках матеріалів міжнародних і вітчизняних наукових конференцій та конгресів.

Публікації здобувачки відображають основні положення дисертації, зокрема результати дослідження мікробіомів радіонуклідно забруднених ґрунтів, мікробіомів приміщень об'єкта «Укриття» ЧАЕС, особливості дозового навантаження та методичні підходи до аналізу мікробіомних даних. Матеріали роботи були представлені на міжнародних і вітчизняних наукових конференціях, що свідчить про достатній рівень апробації отриманих результатів у науковому середовищі.

Зміст опублікованих праць відповідає темі дисертаційної роботи, а їх кількість і рівень є достатніми для представлення результатів докторської дисертації.

Відсутність академічного плагіату, фабрикацій, фальсифікацій

Дисертаційна робота Паренюк О.Ю. є самостійною завершеною науковою працею. Використані в роботі ідеї, результати і тексти інших авторів супроводжуються відповідними посиланнями на джерела. За результатами ознайомлення з текстом дисертації ознак академічного плагіату, фабрикації чи фальсифікації не виявлено.

Отримані результати викладено послідовно, методи дослідження описано достатньо повно, а наведені висновки випливають із представленого експериментального матеріалу та статистичної обробки даних.

Зауваження та дискусійні питання щодо положень докторської дисертації

Попри загальну позитивну оцінку дисертаційної роботи, слід висловити окремі зауваження та побажання дискусійного характеру.

1. У дисертації представлено значний масив таксономічних і функціональних даних щодо мікробіомів різних об'єктів. В окремих фрагментах роботи доцільно було б чіткіше розмежувати, які зміни мікробних угруповань авторка пов'язує передусім із радіаційним чинником, а які – з типом субстрату, поживним режимом або сезонністю.

2. Розділ, присвячений об'єкту «Укриття» ЧАЕС, містить цікавий матеріал щодо техногенних субстратів. Було б бажано ширше обговорити можливий внесок окремих груп мікроорганізмів у біокорозійні процеси, зокрема з огляду на наявність залізовмісних і корозійних компонентів у субстратах.

3. У роботі використано як ампліконне секвенування 16S рРНК, так і повногеномний аналіз. З огляду на різну глибину таксономічної та функціональної інтерпретації цих методів, доцільно було б у дискусійній частині дещо ширше окреслити межі порівняльності результатів, отриманих цими підходами.

4. У дослідженні показано важливість азотного режиму для формування структури мікробіомів. У майбутніх роботах було б доцільно розширити аналіз функціональних генів, пов'язаних із циклом азоту, що дозволило б поглибити інтерпретацію отриманих результатів.

5. Для зразків із зон, які важко повернути у господарювання навколо АЕС Фукусіма-1, показано виражену сезонну динаміку. Було б корисно окремо обговорити, наскільки виявлені сезонні зміни можуть бути пов'язані з перерозподілом органічної речовини та радіоцезією у ґрунтовому профілі.

6. Окремі висновки дисертації сформульовані досить широко. У подальших публікаціях бажано чіткіше відокремлювати експериментально встановлені факти, статистично підтверджені залежності та інтерпретаційні узагальнення.

7. Цікавим є питання щодо можливості використання виявлених показників мікробіомів як індикаторів для довготривалого радіоекологічного моніторингу територій, забруднених радіонуклідами.

Зазначені зауваження мають дискусійний характер і не знижують загальної позитивної оцінки дисертаційної роботи, її наукового рівня та практичного значення.

Загальна оцінка дисертації та висновок

Дисертаційна робота Паренюк Олени Юріївни «Комплексна оцінка мікробіомів забруднених радіонуклідами ґрунтів і субстратів антропогенних систем» є завершеною самостійною науковою працею, у якій отримано нові науково обґрунтовані результати щодо структури, біорізноманіття та функціонального потенціалу мікробіомів радіонуклідно забруднених ґрунтів і техногенних субстратів.

Робота має важливе значення для розвитку радіобіології, радіоекології та екології мікроорганізмів. За актуальністю, науковою новизною, методичним рівнем, обсягом виконаних досліджень, достовірністю отриманих результатів і практичним значенням дисертація відповідає вимогам до докторських дисертацій.

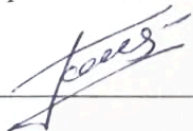
Вважаю, що за актуальністю обраної теми, науково-методичним рівнем здійснення досліджень, науковою новизною і практичною значимістю їх результатів, за рівнем обґрунтованості зроблених висновків і пропозицій, дисертаційна робота Олени Юріївни Паренюк за темою «Комплексна оцінка мікробіомів забруднених 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 зі спеціальності 03.00.01 – радіобіологія.

Офіційний опонент

доктор біологічних наук, професор,

завідувач кафедри мікробіології, сучасних біотехнологій,
екології та імунології

Відкритого міжнародного університету розвитку людини «Україна»



Тетяна ТУГАЙ

**ПІДПИС
ЗАСВІДЧУЮ**

*Нат. Вигдала
В. Земельна*

