

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ
І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ**

ПАРЕНІЮК ОЛЕНА ЮРІЇВНА

УДК 579.26:504.5:628.4.047:546.36

**КОМПЛЕКСНА ОЦІНКА МІКРОБІОМІВ ЗАБРУДНЕНИХ
РАДІОНУКЛІДАМИ ҐРУНТІВ І СУБСТРАТІВ АНТРОПОГЕННИХ СИСТЕМ**

03.00.01 «Радіобіологія»

Реферат дисертації на здобуття наукового ступеня
доктора біологічних наук

Київ – 2026

Дисертацією є кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Роботу виконано в Національному університеті біоресурсів і природокористування України Міністерства освіти і науки України

Науковий консультант: Гудков Ігор Миколайович, доктор біологічних наук, професор, академік НААН України.

Офіційні опоненти:

доктор біологічних наук, старший науковий співробітник

КРАВЕЦЬ Олександра Петрівна,

Інститут клітинної біології та генетичної інженерії НАН України,
завідувач відділу біофізики і радіобіології;

доктор біологічних наук, професор

ТУГАЙ Тетяна Іванівна,

Відкритий міжнародний університет розвитку людини «Україна»,
завідувач кафедри мікробіології, сучасних біотехнологій, екології та імунології;

доктор біологічних наук, старший дослідник

БЕЗНОСКО Ірина Володимирівна,

Інститут агроєкології і природокористування НААН, провідний
науковий співробітник, спеціальність 03.00.16 «Екологія».

Захист відбудеться «22» жовтня 2026 року о 10:00 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.004.08 у Національному університеті біоресурсів і природокористування України за адресою: м. Київ, вул. Героїв Оборони, 15, навчальний корпус № 3, аудиторія 301.

З дисертацією можна ознайомитися в науковій бібліотеці Національного університету біоресурсів і природокористування України за адресою: м. Київ, вул. Героїв Оборони, 13, навчальний корпус № 4, кімната 41а.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради

Володимир ІЛЛЄНКО

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Внаслідок аварії на Чорнобильській АЕС у 1986 році було створено зону відчуження (ЧЗВ) – унікальну територію площею 2600 км², з якої евакуювали населення та припинили господарську діяльність. За відносно короткий період це зумовило інтенсивні зміни у структурі агроценозів, природних фітоценозів, зооценозів та мікробіоценозів. Особливо важливими є зміни у ґрунтовому мікробіомі оскільки мікроорганізми відіграють ключову роль у перерозподілі радіонуклідів у ґрунтовому профілі та зміні їхньої біологічної доступності.

До аварії на ЧАЕС вплив іонізуючого випромінювання на мікроорганізми досліджували переважно в контрольованих лабораторних умовах. Однак роль мікроорганізмів у міграції радіонуклідів та зміні їхнього фізико-хімічного стану у природних умовах тривалий час залишалася поза увагою дослідників. Переважно розглядався односторонній вплив радіації на мікроорганізми, тоді як зворотний процес – вплив мікробної активності на поведінку радіонуклідів у ґрунті – практично не вивчався.

Ґрунтова мікрофлора характеризується високим біорізноманіттям і значною біомасою, що дає їй змогу впливати на фізико-хімічний стан радіонуклідів у ґрунті та їхню біодоступність для рослин. Це особливо важливо для сільськогосподарських культур, які на забруднених територіях є основним шляхом надходження радіонуклідів до людини через харчові продукти та продукцію тваринництва. Саме тому зменшення переходу радіонуклідів на першій ланці трофічного ланцюга "ґрунт–рослина" залишається пріоритетним завданням сільськогосподарської радіоекології та радіаційної гігієни навіть на пізній фазі аварії на ЧАЕС.

З часом після аварії відбувається фіксація ¹³⁷Cs у ґрунтовому вбирному комплексі та перехід у слабодоступні форми. Це знижує ефективність традиційних контрзаходів (вапнування кислих ґрунтів, внесення калійних добрив), про що свідчить зменшення коефіцієнтів накопичення і переходу радіонукліда. У цій ситуації застосування мікробних препаратів, здатних впливати на фізико-хімічний стан як поживних елементів, так і радіонуклідів, може стати перспективним елементом системи контрзаходів, спрямованих на зменшення переходу ¹³⁷Cs із ґрунту у продовольчі рослини.

Сучасні досягнення у галузі геноміки та метагеноміки уможливають вивчення функцій мікробних спільнот з безпрецедентною точністю. Технології секвенування нового покоління (NGS) дають змогу аналізувати структуру мікробних угруповань на різних таксономічних рівнях – від типу до виду, що відкриває нові можливості для оцінки впливу екологічних чинників на мікробіомі екосистем, прогнозування наслідків антропогенного впливу, зокрема глобального потепління, а забруднення важкими металами, моніторингу територій, відчужених внаслідок радіаційних аварій. Це робить метагеномний аналіз ідеальним інструментом для оцінки впливу радіоактивного забруднення на функціональні характеристики ґрунтової мікрофлори зон відчуження навколо аварійних АЕС.

Наукова проблема, що розв'язується в дисертаційній роботі, полягає у встановленні закономірностей формування структури та функціонального потенціалу мікробіомів за умов хронічного радіонуклідного забруднення, коли дія іонізуючого випромінювання реалізується не як ізольований чинник, а у взаємодії з біогеохімічними характеристиками середовища. Сучасні дослідження радіоактивно забруднених ґрунтів показують, що зміни мікробних угруповань залежать не лише від активності радіонуклідів або потужності дози, а й від рН, вологості, органічної речовини, вмісту макро- і мікроелементів, токсичності супутніх елементів та попередньої історії формування екосистеми.

У такому підході мікробіом забруднених радіонуклідами ґрунтів і техногенних субстратів розглядається як інтегральний біологічний індикатор дії радіаційно-біогеохімічного фільтра. Цей фільтр поєднує селективний вплив хронічного дозового навантаження з дією едафічних і техногенних модифікаторів середовища: кислотності або

лужності субстрату, доступності азотовмісних сполук, органічної речовини, вологості, сезонної динаміки та фізичної природи субстрату. Саме тому аналіз мікробіомів у роботі спрямований не лише на опис таксономічного складу, а й на встановлення радіобіологічних закономірностей формування мікробних угруповань у пост аварійних і техногенних системах.

Такий підхід відповідає сучасному розумінню мікробіому як функціонально організованої системи, структура якої формується під впливом множинних екологічних градієнтів. Зокрема, метагеномні дослідження ґрунтових мікробних угруповань показують, що рН, співвідношення вуглецю до азоту, вологість і доступність поживних речовин можуть визначати не лише таксономічний склад, а й функціональний потенціал мікробіому [389, 388, 391].

Іонізуюче випромінювання є потужним стресовим чинником для мікроорганізмів, що індукує пошкодження ДНК, окисний стрес та порушення метаболічних процесів. Хронічне опромінення мікробних угруповань у зонах радіоактивного забруднення призводить до селективного тиску, внаслідок якого формуються адаптовані мікробіоми з підвищеною радіорезистентністю. Вивчення механізмів адаптації мікроорганізмів до радіаційного стресу, зокрема активації систем репарації ДНК, антиоксидантного захисту та метаболічних перебудов, є фундаментальним завданням радіобіології мікроорганізмів. Водночас мікробна активність впливає на міграцію радіонуклідів через процеси біосорбції, біоаккумуляції та зміни окисно-відновного стану елементів, що має пряме значення для радіоекологічного прогнозування та розробки контрзаходів.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконана у рамках бюджетних тематик кафедри радіобіології та радіоекології № 110/79-ф «Закономірності впливу радіонуклідного забруднення території на біорізноманіття ґрунтової мікрофлори» на 2016–2018 рр. (№ державної реєстрації 0116U0061585) та № 110/100-ф «Вивчення поведінки та прогнозування стану мікрофлори на об'єктах ядерного паливного циклу» на 2017–2019 рр. (№ державної реєстрації 0117U002646).

Мета і завдання дослідження. Метою роботи було встановити радіобіологічні закономірності формування таксономічної структури та функціонального потенціалу мікробіомів ґрунтів і техногенних субстратів, забруднених радіонуклідами внаслідок аварій на ЧАЕС та АЕС Фукусіма-1, а також субстратів з Об'єкта «Укриття» ЧАЕС, за умов хронічного радіонуклідного забруднення та різного рівня поглинутої дози з урахуванням біогеохімічних модифікаторів середовища.

Поставлена мета зумовила необхідність вирішення таких завдань:

1. Відібрати зразки ґрунтів та субстратів з різною щільністю радіонуклідного забруднення на території ЧЗВ, зон важкого повернення у господарювання навколо АЕС Фукусіма-1 та Об'єкта «Укриття» ЧАЕС і визначити їхні основні фізико-хімічні характеристики.

2. Провести метагеномний аналіз мікробіомів досліджуваних субстратів методами ампліконного секвенування гена 16S рРНК та повногеномного секвенування (WGS).

3. Визначити таксономічний склад та оцінити біорізноманіття мікробних угруповань ґрунтів і субстратів з різним рівнем радіонуклідного забруднення.

4. Визначити внесок дозового навантаження у формування структури мікробіому порівняно з внеском супутніх едафічних, хімічних і техногенних факторів.

5. Оцінити функціональний потенціал мікробних угруповань високорадіоактивних субстратів з Об'єкта «Укриття» ЧАЕС.

6. Оцінити наявність дозозалежних змін у структурі та функціональному потенціалі мікробіомів і визначити умови, за яких радіаційний фактор є провідним або модифікованим біогеохімічними характеристиками середовища.

Об'єкт дослідження – закономірності впливу радіонуклідного забруднення на таксономічне біорізноманіття та функціональні характеристики ґрунтових мікробіомів.

Предмет дослідження – мікробні угруповання ґрунтів та субстратів територій, забруднених радіонуклідами внаслідок аварій на ЧАЕС (Україна) та АЕС Фукусіма-1 (Японія).

Методи дослідження: визначення складу мікробіомів проводили за алгоритмом метагеномних досліджень: виділення, перевірка концентрації, перевірка якості, очищення та підготовка ДНК до секвенування – молекулярно-генетичними методами; секвенування зразків – за допомогою технології секвенування нового покоління приладом Illumina HiSeq, перевірка якості рідів, обробка отриманих результатів – за допомогою біоінформатичних методів. Визначення фізико-хімічних характеристик відібраних субстратів – за стандартними (для ґрунтів Чорнобиля і Фукусіми) та експресними (для зразків, відібраних в об'єкті «Укриття» ЧАЕС) агрохімічними методиками. Радіоактивність зразків визначали за допомогою гамма-спектрометрії.

Наукова новизна одержаних результатів полягає в узагальненні теоретичних і практичних положень щодо складу мікробіомів забруднених радіонуклідами субстратів і розробці концепції впливу радіонуклідного забруднення на структуру мікробіомів.

Вперше:

- отримано фундаментальні дані щодо біорізноманіття мікроорганізмів у ґрунтах, забруднених радіонуклідами, на територіях України та Японії;
- запропоновано наукову концепцію впливу малих доз іонізуючого випромінювання на структуру мікробіомів, які розташовані в зоні відчуження та зонах, які важко повернути у господарювання, навколо аварійних АЕС;
- розроблено нові підходи до визначення стабільності мікробних угруповань, розташованих усередині ОУ ЧАЕС та в ґрунтах зон відчуження та евакуації навколо АЕС;
- отримано відомості щодо впливу об'єктів ядерної енергетики на основну редуруючу ланку екосистеми;
- встановлено закономірності формування структури мікробних угруповань за умов хронічного радіонуклідного забруднення в ґрунтових екосистемах із мікрогрейними рівнями дозового навантаження та в техногенних субстратах ОУ ЧАЕС із мілігрейними рівнями потужності поглинутої дози;
- проведено оцінку ризику виникнення біокорозії на об'єктах ядерно-паливного циклу (ЯПЦ).

Удосконалено:

- біоінформатичні підходи до аналізу мікробіомів забруднених радіонуклідами субстратів;
- теоретичні та методологічні принципи статистичної обробки результатів мікробіомних досліджень з урахуванням метаданих

Отримали подальший розвиток:

- підходи щодо побудови моделей комплексної оцінки дозових навантажень на індивідуальних представників мікробіому забруднених радіонуклідами субстратів;
- розробка концепції відповіді редукуючої ланки екосистеми на радіонуклідне забруднення.

Практичне значення одержаних результатів. Дисертацію виконано на основі багаторічних наукових досліджень здобувача. Отримані дані щодо бактеріального різноманіття є науково обґрунтованими та достовірними і висвітлюють реальний стан мікробіомів субстратів, відібраних з різних ізодалей усередині та поблизу об'єктів ядерно-паливного циклу в Чорнобильській зоні відчуження. Виявлені закономірності свідчать, що структура мікробних угруповань у радіонуклідно забруднених ґрунтах і техногенних субстратах формується не за простою лінійною залежністю “доза–ефект”, а внаслідок поєднаної дії дозового навантаження, азотного режиму, рН, типу субстрату та сезонних чинників, що розширює фундаментальні уявлення про адаптацію мікробіомів до радіаційного забруднення.

Розроблено методичні підходи до комплексної оцінки мікробіомів радіаційно забруднених ґрунтів і техногенних субстратів. Навички застосування спеціалізованого програмного забезпечення для аналізу секвенсів нового покоління становлять важливий внесок у входження України в сучасну світову науку – геноміку та метагеноміку.

Результати впроваджено у науково-дослідну діяльність трьох установ (акти впровадження): ТОВ "ГД "БТУ-ЦЕНТР" – оцінка ґрунтових мікробіомів для біологізації землеробства; ТОВ "Західний Буг" – управління ґрунтовими ресурсами; Інститут проблем безпеки АЕС НАН України – науковий супровід НДР щодо об'єкта "Укриття" ЧАЕС.

Окремі положення дисертації використовуються для підготовки фахівців на факультеті захисту рослин, біотехнологій та екології в межах спеціалізації «Радіоекологія».

Особистий внесок здобувача. Дисертантка особисто провела відбір зразків ґрунтів на території ЧЗВ (2015–2018 рр.) та субстратів з Об'єкта «Укриття» ЧАЕС (2016–2017 рр.) а також з території зон важкого повернення у господарювання навколо АЕС Фукусіма-1 (Японія); здійснила виділення сукупної ДНК з усіх досліджуваних зразків, підготовку бібліотек для секвенування та контроль якості отриманих препаратів; провела біоінформатичний аналіз даних метагеномного секвенування з використанням програмних пакетів QIIME2, MetaPhlAn, HUMAnN; виконала статистичну обробку результатів та побудову графічних матеріалів; здійснила аналіз і узагальнення отриманих результатів, сформулювала основні положення та висновки дисертації.

Дисертантка висловлює щирю подяку д. б. н. В. О. Кашпарову за методичну підтримку і рекомендації, заступнику директора з наукової роботи к. б. н. С. А. Паскевичу ІПБ АЕС НАН України – за конструктивну критику і поправки, внесені в текст дисертації, завідувачу відділення ядерної та радіаційної безпеки Інституту проблем безпеки АЕС НАН України В. О. Краснову – за всебічну підтримку у проведенні досліджень в ОУ і критику результатів та начальнику наукового відділу Чорнобильського біосферного радіоекологічного заповідника Д.О. Вишневському – за допомогу у процесі відбору проб на території ЧЗВ.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертаційної роботи були представлені на міжнародних конференціях EMBO|EMBL Symposium: New Approaches and Concepts in Microbiology (Штутгарт, 2017), VI Международная школа молодых ученых по молекулярной генетике «Геномика и системная биология» (Звенигород, 2014), «Radioecology and Environmental Radioactivity»: International Conference (Барселона, 2014), «The International Society for Microbial Ecology – ISME15»: International Congress (Киото, 2015), The 1st IER Annual Progress Report Meeting (Фукусіма, 2015), Молодь і поступ біології: XI міжнародна наукова конференція студентів та аспірантів (Львів, 2015), 6 з'їзд Радіобіологічного товариства України (Київ, 2015), Ефекти радіації та інших ксенобіотиків на репродуктивну систему і організм: науково-практична конференція з міжнародною участю (Долина, Івано-Франківськ, 2016), ICRP International Conference on Recovery After Nuclear Accidents (Фукусіма, онлайн, 2020).

Публікації. Основні результати дисертаційної роботи опубліковано в 40 наукових працях, серед яких 21 стаття (з них 9 статей, що входять до БД Scopus, 12 публікацій у фахових виданнях України) у визначених Департаментом атестації кадрів МОН України фахових виданнях та 20 тез доповідей у збірках матеріалів міжнародних і вітчизняних наукових конференцій та конгресів.

Структура й обсяг дисертації. Дисертаційну роботу викладено на 320 сторінках друкованого тексту. Робота складається з анотації українською та англійською мовами, переліку умовних позначень, вступу, шести розділів, висновків і списку використаної літератури, що охоплює 394 джерела. Дисертація містить 51 таблицю та 62 рисунки.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

У **вступі** обґрунтовано актуальність теми, визначено мету, завдання, об'єкт і предмет дослідження, розкрито наукову новизну, практичне значення одержаних результатів, особистий внесок здобувачки, апробацію результатів, публікації, структуру та обсяг дисертації.

У першому розділі **«Стан проблеми щодо комплексної оцінки мікробіомів забруднених радіонуклідами ґрунтів і субстратів антропогенних систем»** за допомогою аналізу літературних джерел наведено загальну екологічну характеристику ЧЗВ, ЗВП навколо ФАЕС та стану справ всередині ОУ ЧАЕС.

Описано основні біохімічні механізми взаємодії цезію і урану з представниками мікрофлори: наведено шляхи акумуляції радіонуклідів, механізми їх захоплення з навколишнього середовища та точки локалізації всередині та ззовні бактеріальної клітини.

Викладено дані щодо радіостійкості представників мікробіоти в цілому та її окремих представників зокрема. Наведено дані для порівняння екстермофільних мікроорганізмів та таких, що є представниками нативної ґрунтової мікрофлори.

Описано основні протоколи виділення ДНК зі складних субстратів та обговорено оптимальні для субстратів, відібраних з ОУ, алгоритми дій для підвищення кількості і якості вихідного продукту.

Наведено основні етапи метагеномних та мікробіомних проєктів, описано складнощі, з якими стикаються дослідники при вивченні забруднених радіонуклідами ґрунтів та субстратів. Наведено шляхи вирішення питань, що постали.

Викладено біоінформатичні підходи до мікробіомних проєктів. Обговорено недоліки та переваги певного програмного забезпечення. Наведено обґрунтування для вибору авторского програмного забезпечення.

Описано важливість коректного врахування метаданих у метагеномному проєкті.

На основі проаналізованих даних сформувано мету і завдання дослідження.

У другому розділі **«Об'єкти, умови та методи проведення досліджень»** наведено об'єкти, умови та методи проведення досліджень. Описано відбір проб ґрунту і субстратів, визначення їх основних характеристик, точки відбору проб у внутрішніх приміщеннях ОУ ЧАЕС, на території ЧЗВ та на території ЗВП ФАЕС.

Для зразків з ОУ ЧАЕС наведено схему зон доступу персоналу до приміщень об'єкта «Укриття» і локалізацію точок відбору субстрату. Зразки R2, R5 і R8 були відібрані з приміщення під шахтою реактора, R4 та R12 – за межами ОУ і використовувалися як контрольні, R7 – з шахти Ю-9-В, R11 – з шахти системи Фініш КЗ-9-К, R13 – з вихідної дренажної труби.

Для ґрунтів ЧЗВ та ЗВП ФАЕС наведено координати точок відбору проб у системі WGS84, рівні забруднення, методи визначення радіоактивності і дозових навантажень, а також підходи до сезонної оцінки потужності дози експозиційного випромінювання на території ЗВП ФАЕС.

Визначення складу мікробіомів проводили за алгоритмом метагеномних досліджень: виділення, перевірка концентрації, перевірка якості, очищення та підготовка ДНК до секвенування; секвенування зразків виконували за технологією секвенування нового покоління; перевірку якості рідів та обробку результатів здійснювали біоінформатичними методами.

Таблиця 1. Ключові методи та типи даних, інтегровані в дослідженні

Блок дослідження	Методи	Тип отриманих даних
Агрохімічна характеристика	визначення pH, гумусу, рухомих форм азоту, фосфору, калію, заліза	біогеохімічний контекст формування мікробіомів
Радіометрія і дозиметрія	гамма-спектрометрія, Biota DC, ERICA Tool	активність радіонуклідів, потужність поглинутої дози
Молекулярна біологія	виділення ДНК, контроль концентрації та якості, ампліфікація 16S rPHK	придатність зразків до секвенування
Метагеноміка	16S rPHK-ампліконне секвенування, WGS	таксономічна структура і функціональний потенціал
Біоінформатика і статистика	FastQC, QIIME, PICRUSt, HUMAnN, MetaPhlAn, ANOVA, RDA	метрики різноманіття, функціональні профілі, зв'язок із метаданими

Розділ завершується методологічною схемою інтеграції радіаційних, агрохімічних, фізико-хімічних і метагеномних даних, яка передбачає послідовне зіставлення радіонуклідного забруднення і дозового навантаження з властивостями субстрату, таксономічною структурою, показниками альфа- та бета-різноманіття і функціональним потенціалом мікробіому.

Таблиця 2. Методологічна роль досліджуваних об'єктів у порівняльному аналізі мікробіомів

Об'єкт	Методологічна роль	Радіаційний фактор	Основні модифікатори	Очікувана відповідь мікробіому
Ґрунти ЧЗВ	Хронічно забруднена пост аварійна ґрунтова екосистема	^{137}Cs , ^{90}Sr , тривале дозове навантаження	гумус, азот, pH, вологість, тип ґрунту	стабілізована або частково адаптована структура; селекція стресостійких груп
Ґрунти ЗВП ФАЕС	Незалежна пост аварійна система з сезонною динамікою	^{137}Cs , сезонна зміна потужності дози	вологість, температура, рельєф, азот, історія землекористування	перевірка повторюваності закономірностей у іншому кліматичному та ґрунтовому контексті
Субстрати ОУ ЧАЕС	Техногенна протоекосистема екстремального типу	високі локальні дози, радіоактивні субстрати	лужний pH, дефіцит органіки, бетон, пил, продукти корозії	домінування адаптованих або випадково занесених стресостійких угруповань; формування протоекосистем

У третьому розділі «Мікробіоми приміщень об'єкта «Укриття» ЧАЕС» представлено результати дослідження мікробіомів приміщень об'єкта «Укриття» ЧАЕС. Наведено характеристику внутрішніх умов ОУ, концентрацію тотальної ДНК, оцінку якості

даних секвенування за допомогою FastQC, біорізноманіття досліджуваних зразків, метрики альфа-різноманіття, функції мікробіомів ОУ, підготовку зразків до повногеномного аналізу та повногеномний аналіз мікробіомів R7 і R12.

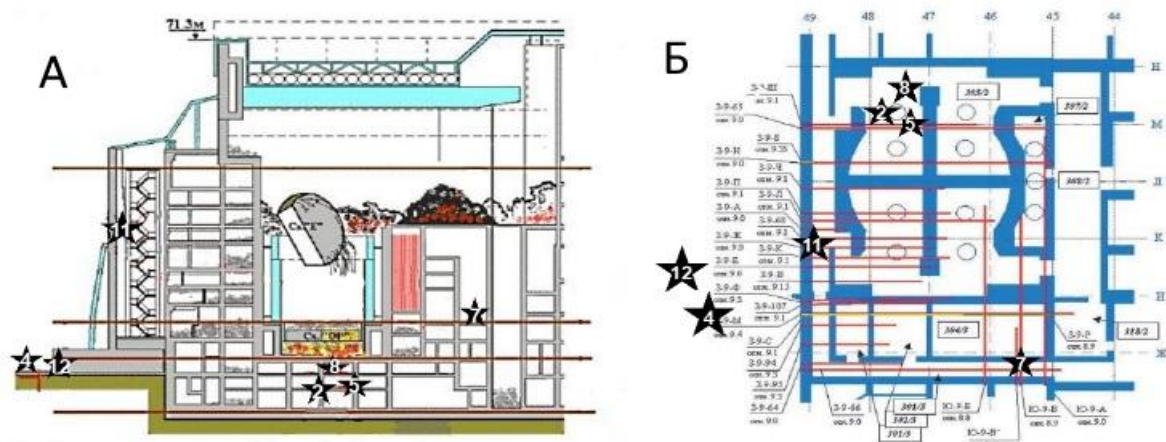


Рисунок 1. Схема точок відбору субстрату в ОУ ЧАЕС: А) вид збоку, Б) вид зверху

Наведено агрохімічні показники та реакцію ґрунтового середовища субстратів ОУ. У роботі зазначено, що вимірювання їхньої концентрації проводилося в 10 %-й водній витяжці, тому відсутність певного катіона у виміряному зразку не обов'язково свідчить про його реальну відсутність у субстраті.

Таблиця 3. Опис точок відбору проб в ОУ ЧАЕС

Код зразка	Зона доступу персоналу	Характеристика точки відбору	Візуальна оцінка механічного складу зразка
R2, скупчення ПВМ 305/2	ЗСР	Приміщення під шахтою зруйнованого реактора, з місця скупчення лавоподібних паливовмісних матеріалів (ПВМ)	Пісок, цементна крихта
R4, контроль	ЗВД	Проммайданчик поблизу входу до ОУ. Контрольний зразок	Пісок, глина, протоґрунт
R5, 305/2	ЗСР	Приміщення під шахтою зруйнованого реактора, в кутку	Пісок, цементна крихта
R7, шахта Ю-9-В	ЗЛД	Внутрішній вихід шахти Ю-9-В	Цементна крихта, слиз
R8, стеля, 30/2	ЗСР	Приміщення під шахтою зруйнованого реактора, в кутку, зразок зі стелі	Цементна крихта, вологий зразок
R11, шахта КЗ-9-К	ЗЛД	Шахта КЗ-9-К системи моніторингу реактора Фініш	Вологий зразок: іржа, слиз, пісок
R12, контроль	ЗВД	З-під стіни саркофага, відібрано з боку проммайданчика ОУ	Пісок, глина, протоґрунт

Питома активність зразків варіювала доволі суттєво. Основними дозоутворюючими радіонуклідами у зразках були ^{137}Cs та ^{90}Sr . Також вагомий внесок у формування поглинутої дози в зонах суворого режиму та лімітованого доступу виявляли трансуранові елементи.

За допомогою програмних пакетів Biota DC та ERICA Tool розраховано індивідуальні потужності доз для бактеріальних клітин у точках відбору проб. У зразках з об'єкта «Укриття» ЧАЕС потужність поглинутої дози становила від 1 до 135 МГр/год.

На основі загальноприйнятої методології метагеномних досліджень та у зв'язку з гетерогенністю зразків, отриманих для дослідження, було проведено оцінку якості даних секвенування. Для частини зразків якість секвенування наприкінці сіквенсу знижувалася, що зумовило необхідність додаткової біоінформатичної фільтрації.

У результаті секвенування 16S рРНК встановлено, що мікробіоми субстратів ОУ ЧАЕС суттєво відрізняються за показниками альфа-різноманіття. Найвища різноманітність характерна для контрольного зразка із зони вільного доступу, тоді як у зразках із зони лімітованого доступу спостерігалася формування спільнот із вираженими домінантами.

Використання алгоритму PICRUST для передбачення функцій мікроорганізмів показало відмінності функціонального профілю між зразками з різних зон доступу. У контрольних зразках рівномірно представлені функції, пов'язані з енергетичним обміном, обробкою генетичної інформації та обміном амінокислот.

Для повногеномного аналізу було обрано зразки R7 та R12. Повногеномне секвенування дозволило ідентифікувати значно вищу кількість таксономічних одиниць порівняно з аналізом 16S рРНК, а також оцінити функціональні характеристики мікробіомів зон лімітованого та вільного доступу.

Уперше проведено аналіз бактеріального різноманіття зразків, відібраних з об'єкта «Укриття» (ОУ) ЧАЕС. Дослідження мікробіомів об'єкта «Укриття», збудованого над 4-м енергоблоком ЧАЕС, вперше виявило значний таксономічний склад мікроорганізмів, що населяють зони з високими рівнями іонізуючого випромінювання. Результати показали, що найбільш стабільним і різноманітним є мікробіом контрольного зразка з проммайданчика (R4), де дози опромінення мінімальні, а умови наближені до природних. У той же час, у зразках із зони суворого (R5) і лімітованого доступу (R7) сформувалися угруповання з виразним домінуванням окремих видів мікроорганізмів. Це свідчить про їхню високу адаптивність до екстремальних умов, включаючи підвищені поглинуті дози іонізуючого опромінення та дефіцит поживних речовин. Подібні результати підтверджують можливість активних біологічних процесів навіть у середовищах з підвищеним радіаційним фоном.

Фізико-хімічні характеристики субстратів обумовлюють склад мікробіомів. Субстрати об'єкта «Укриття» демонструють чіткі фізико-хімічні відмінності, які визначають мікробну активність. Усі зразки мають лужну реакцію (рН 7,5–8,5) через вплив цементної крихти від залізобетонних конструкцій, що контрастує з кислими ґрунтами, на яких збудовано ЧАЕС. Високий вміст рухомих сполук заліза (Fe^{2+} , Fe^{3+}) і азотвмісних сполук (NH_4^{+}) свідчить про активну корозію металевих конструкцій та біологічну трансформацію азоту. Ці фактори створюють сприятливе середовище для колонізації специфічних мікроорганізмів, зокрема залізобактерій і хемоорганотрофів, які домінують у деяких зразках.

Розподіл радіонуклідів впливає на біорізноманіття мікробіомів. Основними дозоформуючими радіонуклідами в зразках є ^{137}Cs , ^{90}Sr , а також ізотопи плутонію ^{239}Pu , ^{240}Pu і америцію ^{241}Am). Найвищі рівні поглинутої дози (135 МГр/год) спостерігалися у зразку з шахти Ю-9-В (R7), що вплинуло на формування мікробіомів із домінантними видами, зокрема археями (*Methanomicrobia*). Водночас у контрольних зразках (R4, R12) з нижчими дозами сформувалися більш різноманітні угруповання, які відображають природний екологічний баланс. Розподіл радіонуклідів у приміщеннях також визначає різницю між умовами середовищ та адаптацією мікроорганізмів до радіації. Виділити ДНК зі зразків із зони суворого режиму у приміщеннях під шахтою реактора (R2, скупчення паливовмісних мас у приміщенні 305/2; та R8, зі стелі того самого приміщення 305/2) не вдалося, що може бути як наслідком формування високих поглинутих доз і загибелі мікроорганізмів, так і пов'язуватися з недосконалістю процесу виділення нуклеїнових кислот зі зразків подібного типу.

Таблиця 4. Потужність поглинутої дози (Dabs) випромінювання в ОУ ЧАЕС

№ зразка	R4	R5	R7	R11	R12
Питома активність радіонуклідів, Бк/кг					
¹³⁷ Cs	2,3×10 ³ ±89,4	5,1×10 ⁴ ±7,9×10 ²	7,4×10 ⁴ ± 1,2×10 ³	3,3×10 ⁵ ± 2,8×10 ³	1,6×10 ⁴ ± 2,8×10 ³
⁹⁰ Sr	—	6,4×10 ⁹ ±1,5×10 ⁸	9,24×10 ⁶ ± 6,1×10 ⁴	3,13×10 ⁹ ± 5,5×10 ⁸	—
²³⁸ Pu	—	6,8×10 ⁷ ±7,4×10 ⁵	9,87×10 ⁴ ±2,3×10 ²	3,34×10 ⁷ ±8,1×10 ⁶	—
²³⁹ Pu+ ²⁴⁰ Pu	—	1,4×10 ⁸ ±5,8×10 ⁶	2,03×10 ⁵ ±5,6×10 ³	6,86×10 ⁷ ±16,7×10 ⁷	—
²⁴¹ Am	—	2,7×10 ⁸ ± 5,6×10 ⁶	3,9×10 ⁵ ± 4,5×10 ³	1,32×10 ⁸ ±2,2×10 ⁶	—
Дозові характеристики					
Потужність поглинутої дози, мГр/год	1	56	80	135	7
Доза на клітину, мГр	0,3	18,5	26,8	4,5	2,2

Секвенування 16S рРНК виявило специфічні особливості мікробіомів. Використання секвенування 16S рРНК дозволило отримати важливі дані про структуру бактеріальних спільнот у різних зонах ОУ. У зразках із зони лімітованого доступу (R7) домінують *Methanomicrobia*, *Anaerolineae*, та *Clostridia*, які адаптовані до анаеробних і стресових умов. У контрольних зразках (R4, R12) виявлено більш поширені види, як-от *Micrococcus* і *Pseudomonas*, які можуть бути принесені ззовні. Недоліком методу є неповнота баз даних, що ускладнює ідентифікацію екстремофільних видів, які залишаються неідентифікованими.

Порядки прокаріотів, що мешкають в ґрунтах навколо ЧАЕС і приймають участь в трансформації органічних сполук, колообізі нітрогену, фосфору, сірки, карбону, калію та ін.: *Burkholderiales*, *Sphingomonadales*, *Flavobacteriales*, *Rhizobiales*. Унікальні для ОУ ЧАЕС автотрофи *Pseudanabaenales* (екстремофільні термофіли), *Rhodospirillales* (гетеротрофні ацидофіли), а також бактерії що можуть населяти шкіру і кишковий тракт ссавців: *Clostridiales*, *Caldilineales*, *Actinomycetales*

Зона вільного доступу, зразки з проммайданчика ОУ R4 та R12

Зона лімітованого доступу, зразки з виходів дренажних труб системи контролю ОУ

Зона суворого режиму, приміщення 305/2, під шахтою зруйнованого реактора

Людська мікробіота *Enterobacteriales*, *Erysipelotrichales*, *Opitutales*, *Bacteroidales*. Цикл полісахаридів *Ardenscatenales*, *Elusimicrobiales*, *Ellin329*. Аеробні та анаеробні хемогетеротрофи *Caldilineales*, *Desulfuromonadale* (редукція феруму).

Аеробні та анаеробні екстремофіли *Alteromonadales* (цикл карбону), *Ellin6513* (цикл карбону), *Verrucomicrobiales* (цикл карбону), *Turicibacteriales* (цикл феруму), *Rubrobacteriales* (радіотолерантний екстремофіл)

Зона вільного доступу, зразки з проммайданчика ОУ R4 та R12

Зона суворого режиму, приміщення 305/2, під шахтою зруйнованого реактора

Екстремофіли *Acidomicrobiales*, та бактерії з навколишнього середовища *Xanthomonadales*, *B07_WMSP1*, *Streptophyta*.

Рисунок 2. Порівняння мікробіомів з різних зон доступу персоналу ОУ

Порівняння мікробіомів зразків, відібраних з різних зон доступу персоналу з ОУ, показує подібність видового складу зразків із зони вільного та лімітованого доступу, що може свідчити про шляхи формування мікробіомів через занесення мікроорганізмів з навколишнього середовища. Мікробіоми зразків з усіх трьох зон включають у себе бактерії, що беруть участь у трансформації органічних сполук та колообігах основних мікроелементів, як і патогенну мікрофлору ссавців, що може свідчити про занесення цих мікроорганізмів на одязі і руках обслуговуючого персоналу. Разом з тим, мікробіом зразка, відібраного із зони суворого режиму, містить декілька унікальних представників, що не зустрічаються ніде більше, що показує унікальність функцій та спрямованості цієї спільноти мікроорганізмів.

Аналіз функціонального потенціалу мікробіомів показав їхню адаптацію до екстремальних умов. Використання алгоритму PICRUST для передбачення функцій мікроорганізмів показало, що угруповання з зон суворого режиму (R5) мають підвищену частку функцій, пов'язаних із реагуванням на екстремальні умови, зокрема до радіаційного стресу. У контрольних зразках (R4, R12) рівномірно представлені функції, пов'язані з енергетичним обміном, обробкою генетичної інформації та обміном амінокислот. Це свідчить про різну екологічну роль мікроорганізмів у різних середовищах.

Виявлено потенціал мікроорганізмів для промислового використання. Ідентифіковані мікроорганізми, як-от *Micrococcus* і *Pseudomonas*, мають унікальні властивості, зокрема здатність акумулювати радіонукліди (цезій і кобальт) і формувати захисні біоплівки. Ці властивості відкривають перспективи для використання таких бактерій у технологіях біоремедіації, спрямованих на очищення радіоактивно забруднених територій, а також для захисту конструкцій від корозії в екстремальних умовах. Отримані результати свідчать про значний потенціал мікробіомів ОУ ЧАЕС для відкриття нових видів екстремофільних мікроорганізмів. Повногеномне секвенування, проведене на контрольних (R12) і лімітованих (R7) зразках, дозволило ідентифікувати понад 3000 представників таксономічних одиниць. Подальші дослідження сприятимуть глибшому розумінню адаптивних механізмів мікроорганізмів, їхнього функціонального потенціалу та впливу на формування екологічної рівноваги в екстремальних середовищах.

Таблиця 5. Узагальнення результатів дослідження мікробіомів ОУ ЧАЕС

Показник	Результат	Радіобіологічна інтерпретація
Субстрат	техногенна матриця: пил, цементна крихта, розплавлений пісок, продукти корозії	середовище не має ознак сформованого ґрунту і формує окремий тип мікробної ніші
pH	7,5–8,5	лужне середовище може модифікувати дію радіаційного чинника
Потужність поглинутої дози	1–135 мГр/год	мілігрейний діапазон суттєво відрізняє ОУ від ґрунтових систем
16S рРНК	виявлено бактеріальні угруповання у зразках різних зон доступу	підтверджено існування мікробних протоекосистем
WGS	R7 і R12; 3231 та 9467 таксонів на рівні родини	повногеномний аналіз показав вищий таксономічний потенціал, ніж 16S рРНК
Функціональний профіль	транспортні білки, ABC-транспортери, репарація ДНК, двокомпонентні системи	ознаки адаптації до екстремальних техногенних умов

Резюме. Наведена в розділі характеристика бактеріального різноманіття всередині одного з найскладніших у світі техногенних об'єктів, об'єкта «Укриття», свідчить про наявність бактеріального життя всередині нього. Аналіз біорізноманіття всередині зразків (альфа-різноманіття) та порівняння різноманіття зразків (бета-різноманіття) вказують на значну детермінованість за джерелами живлення спільнот мікроорганізмів кожного проаналізованого зразка субстрату. Статистично значуща відсутність кореляції між показниками поглиненої дози та бактеріальним різноманіттям свідчить про відсутність залежності доза–ефект для формування мікробіомів у техногенних об'єктах в інтервалі 1–14 мГр/год. Отже, за результатами проведеного дослідження, можна зробити висновок, що, для проаналізованих мікробіомів ОУ ЧАЕС, саме обмеження джерел живлення, а не високі дозові навантаження, є визначними для формування структури мікробіому.

У четвертому розділі, «Видовий склад мікроорганізмів на забруднених радіонуклідами територіях зони відчуження Чорнобильської АЕС» наведено результати дослідження видового складу мікроорганізмів на забруднених радіонуклідами територіях Чорнобильської зони відчуження. Розділ містить основні агрохімічні показники відібраних ґрунтів, характеристику дослідних полігонів, радіонуклідне забруднення точок відбору, концентрацію виділеної загальної ДНК, препроцесінг метагеномних даних у QIIME, розрахунок альфа- і бета-різноманіття, функціональну реконструкцію мікробіому та оцінку впливу факторів навколишнього середовища.

Проби ґрунту для досліджень у ЧЗВ були відібрані в точках із різним рівнем радіонуклідного забруднення. Локації відбору проб нанесено на карту забруднення ^{137}Cs української частини зони відчуження ЧАЕС. Для подальшого дослідження використано зразки з контрольної точки, територій низького, середнього, високого та найвищого забруднення.

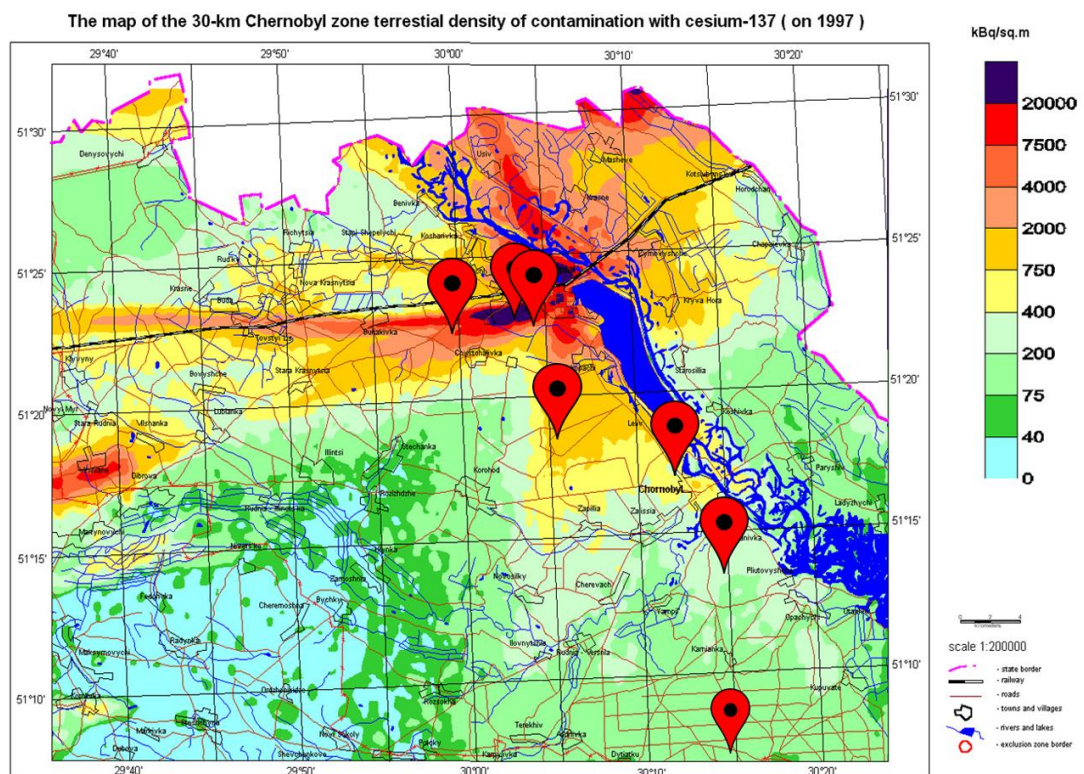


Рис. 3. Локації відбору проб ґрунту, нанесені на карту забруднення ^{137}Cs української частини ЗВ ЧАЕС

У роботі показано, що рН ґрунту в семи з восьми досліджених точок коливалася в межах від 3,0 до 3,9. Така кисла реакція є типовою для дерново-підзолистих ґрунтів поліської

зони України. Винятком стала точка з найвищим забрудненням, що пов'язується з антропогенним перетворенням території.

Визначення радіонуклідного забруднення точок відбору та розрахунків поглинутих доз для ґрунтових мікроорганізмів дозволили зіставити мікробіомні показники з радіаційними характеристиками середовища. У ґрунтах ЧЗВ потужність поглинутої дози для ґрунтових мікроорганізмів знаходилася у мікрорейному діапазоні.

Таблиця 6. Основні агрохімічні характеристики і дозове навантаження відібраних проб

Місце відбору зразків	Рівень забруднення	рН КСІ	Вміст рухомих форм, мг/кг			Гумус, %	Питома активність ^{137}Cs , Бк/кг	Потужність дози, $\mu\text{Гр/год}$
			фосфор	калій	азот			
«Дитятки», КПП на виїзді із ЗВ	контроль	3,2 $\pm$ 0,9	18 $\pm$ 2	28 $\pm$ 5	51 $\pm$ 8	1,57 $\pm$ 0,1	24,2 $\pm$ 8	0,01
Залісся, 30-кілометрова зона	низький	3,8 $\pm$ 0,1	98 $\pm$ 5	23 $\pm$ 6	34 $\pm$ 10	0,95 $\pm$ 0,1	248 $\pm$ 2	0,10
Чистоголівка, 10-кілометрова зона	середній	3,6 $\pm$ 0,1	13 $\pm$ 2	23 $\pm$ 2	37,8 $\pm$ 4	0,84 $\pm$ 0,1	1290 $\pm$ 106	0,52
Рудий ліс, поза траншеєю Т22	високий	3,5 $\pm$ 0,1	47 $\pm$ 1	16 $\pm$ 2	56 $\pm$ 7	2,52 $\pm$ 0,2	33 7210 $\pm$ 3404	13,57
Рудий ліс, траншея Т22	найвищий	4,5 $\pm$ 0,6	52 $\pm$ 3	37 $\pm$ 3	74 $\pm$ 5	1,98 $\pm$ 0,2	86 663 $\pm$ 8660	34,87

Концентрація тотальної ДНК, виділеної зі зразків ґрунту ЧЗВ, варіювала залежно від точки відбору. У дисертації встановлено тенденцію до кореляції між концентрацією тотальної ДНК і вмістом легкогідролізованого азоту, а також тісніший зв'язок із вмістом загального гумусу, що свідчить про внесок поживного режиму ґрунту у формування мікробної біомаси.

Після препроцесінгу метагеномних даних у QIIME було виконано кластеризацію, розрахунків альфа-різноманіття, бета-різноманіття, функціональну реконструкцію мікробіому та побудову кладограм. Окремо в розділі описано обмеження методу секвенування нового покоління для зразків, відібраних з території ЧЗВ.

У результаті аналізу метагеномів ґрунтів ЧЗВ ідентифіковано понад 4300 видів мікроорганізмів. Серед домінантних груп у ґрунтах ЧЗВ переважали *Actinobacteria* та *Alphaproteobacteria*. Варіювання індексів різноманіття і домінування свідчить про неоднорідність стану мікробних угруповань у точках із різним рівнем забруднення.

Згідно з отриманими метриками, зразком з найбільшим біорізноманіттям виявився ґрунт, відібраний з точки з найвищим забрудненням, з поверхні траншеї у Рудому лісі, з найнижчим індексом домінування. Це інтерпретовано як ознаку незавершених процесів стабілізації мікробіоценозу на антропогенно зміненій території.

З отриманих даних щодо бета-різноманіття зроблено висновок, що радіонуклідне забруднення у дозах, сформованих після аварії на ЧАЕС, не має визначального впливу на формування структури мікробіому без урахування інших факторів середовища.

Аналіз надлишковості, проведений для мікробіомів ЧЗВ, показав статистично значущий спільний вплив вмісту амонійної форми азоту та потужності поглинутої дози, обумовленої ^{137}Cs , на структуру мікробних угруповань. Саме цей результат є ключовим для інтерпретації розділу, бо дозволяє розглядати радіаційний вплив разом із агрохімічними характеристиками ґрунту.

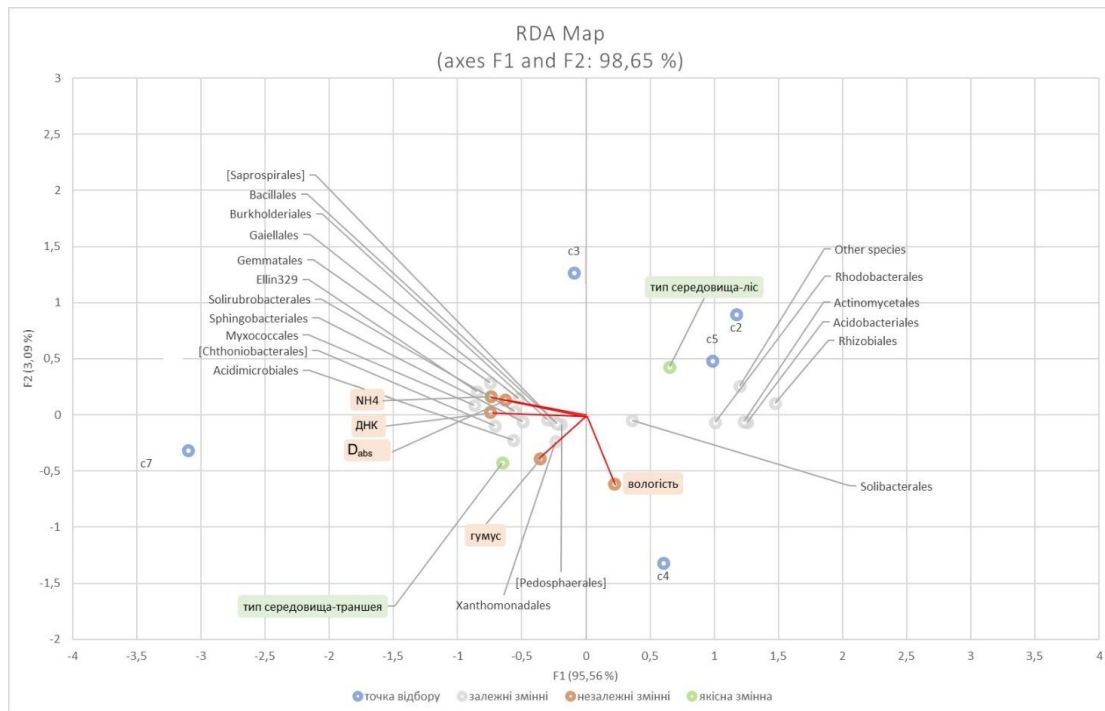


Рисунок 4. Матриця аналізу надлишковості для мікробіомів ЧЗВ, зорганізованих на рівні Порядок (достовірно при $p = 0,05$). С2 – середнє забруднення, с. Чистоголівка; С3 – низьке забруднення, с. Залісся; С4 – високе забруднення, Т22; С5 – КПП «Дитятки», контроль; С7 – найвище забруднення, Рудий ліс, траншея Т22

Резюме: Наведено характеристику бактеріального різноманіття забруднених радіонуклідами дерново-підзолистих ґрунтів Українського Полісся. Показники альфа- та бета-різноманіття свідчать про клімаксісність та значну буферність ґрунтів у проаналізованих екосистемах та стабільність їх ґрунтової мікрофлори, що свідчить про збалансованість джерел живлення мікроорганізмів. Підбрано сучасні ординаційні мультифакторні статистичні підходи, що дозволяють комплексно проаналізувати вплив сукупності метаданих на структуру мікробних угруповань радіоактивно забруднених ґрунтів. Згідно з представленими у цій роботі розрахунками, прямої залежності доза–ефект для ґрунтів ЧЗВне існує, в той час як показано статистично значущу сукупну залежність видового багатства від вмісту доступних форм азоту та потужності поглинутої дози.

Таблиця 7. Узагальнення ключових результатів для ґрунтів ЧЗВ

Показник	Значення / характеристика	Інтерпретація
Тип ґрунтів	дерново-підзолисті супіщані та легкосуглинкові ґрунти	типові для Українського Полісся умови формування мікробіому
pH	переважно 3,0–3,9; у траншеї Т22 – 4,5	кисла реакція середовища модифікує мобільність радіонуклідів і структуру мікробіому
Гумус	0,84–2,52 %	поживний режим впливає на концентрацію ДНК і мікробну біомасу
Азот	34–74 мг/кг легкогідролізованих форм	амонійний азот статистично пов'язаний зі структурою угруповань
Таксономічне багатство	понад 4300 видів; до 5297 OTU у Т22	найвище різноманіття на антропогенно змінній ділянці Рудого лісу
RDA	спільний вплив амонійного азоту та потужності дози	підтвердження багатфакторної, а не монофакторної відповіді

У п'ятому розділі «Видовий склад мікроорганізмів на забруднених радіонуклідами зонах, які важко повернути у господарювання АЕС Фукусіма» наведено результати дослідження видового складу мікроорганізмів у ґрунтах зон, які важко повернути у господарювання навколо АЕС Фукусіма. Вперше наведено характеристику бактеріального різноманіття бурих лісових ґрунтів північної частини японського острова Хонсю. Кількість представлених таксонів свідчить про складність та усталеність процесів, що відбуваються в досліджених ґрунтах, а показники альфа- та бета-різноманіття – про їх клімаксісність та буферність.

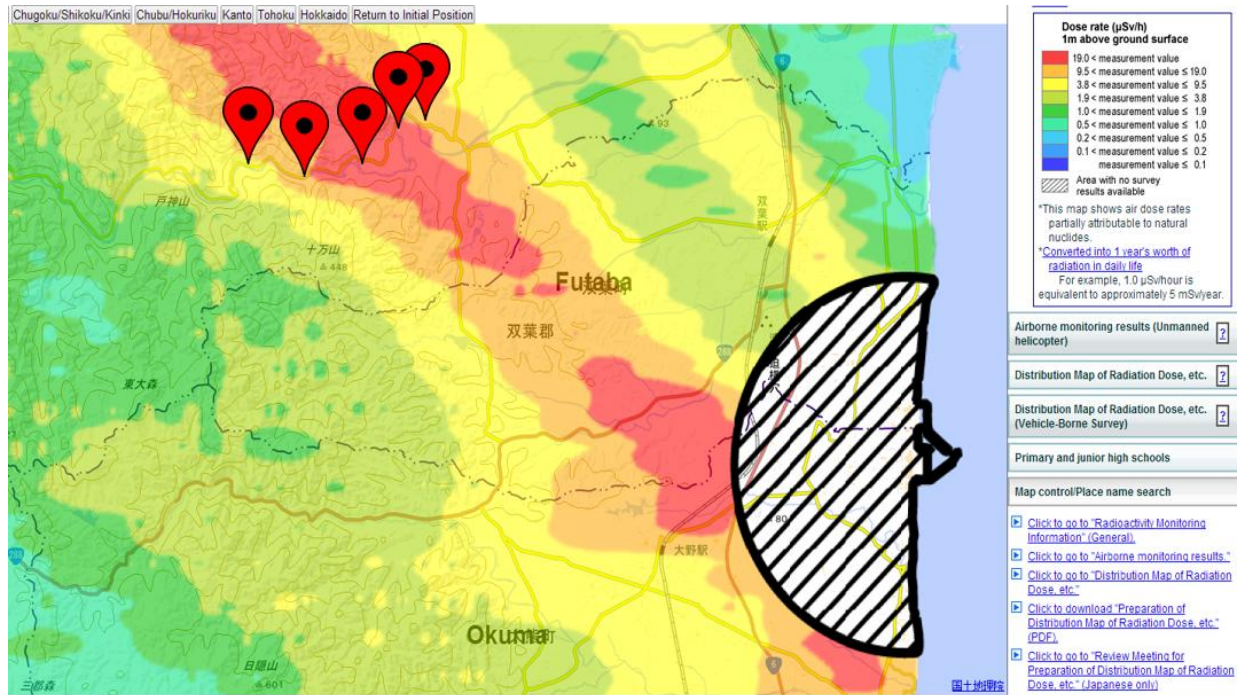


Рисунок 5. Локації відбору проб ґрунту, нанесені на карту забруднення ^{137}Cs зони ЗВП ФАЕС. Джерело карти: MEXT

Показано значну сезонну динаміку в усіх метриках видового багатства, а відсутність домінантів свідчить про врівноваженість процесів. Аналіз надлишковості, проведений з урахуванням сезонної динаміки, підтверджує гіпотезу щодо сумісного впливу вмісту доступного азоту та потужності поглинутої дози в ґрунті на структуру мікроценозу, але демонструє чітку сезонну детермінованість спільнот.

Розділ містить агрохімічну характеристику ґрунтів, дані щодо радіонуклідного забруднення точок відбору, просторову і сезонну динаміку дозового навантаження, концентрацію виділеної ДНК, біоінформатичну обробку результатів секвенування, оцінку альфа- і бета-різноманіття та аналіз впливу факторів навколишнього середовища.

Ґрунти ЗВП ФАЕС охарактеризовано як більш забезпечені азотом і більш вирівняні за вмістом рухомих сполук фосфору та калію порівняно з дерново-підзолистими ґрунтами ЧЗВ. У розділі також наведено сезонну зміну вологості, температури ґрунту, вмісту загального азоту і вуглецю у дослідних ділянках.

Радіонуклідне забруднення точок відбору проб ЗВП ФАЕС оцінено за питомою активністю ^{137}Cs у шарах ґрунту. Результати використано для розрахунку поглинутих доз для ґрунтових мікроорганізмів за допомогою Biota DC.

Таблиця 8. Основні показники радіоактивності точок відбору проб ЗВП ФАЕС

Код зразка	Питома активність зразка, Бк/кг			
	літо, S	осінь, F	зима, W	весна, V
J2 контроль	$1,54 \times 10^4 \pm 78$	$4,03 \times 10^4 \pm 172$	$4,13 \times 10^4 \pm 169$	$2,9 \times 10^3 \pm 225$
M3 низька доза	$8,20 \times 10^3 \pm 109$	$1,01 \times 10^4 \pm 24$	$2,17 \times 10^4 \pm 199$	$1,86 \times 10^4 \pm 136$
J3 середня доза	$2,39 \times 10^4 \pm 123$	$2,88 \times 10^4 \pm 127$	$3,59 \times 10^4 \pm 131$	$1,63 \times 10^4 \pm 185$
J5 середня доза	$3,77 \times 10^4 \pm 177$	$2,57 \times 10^5 \pm 387$	$1,02 \times 10^5 \pm 267$	$1,33 \times 10^5 \pm 524$
J7 висока доза	$4,64 \times 10^4 \pm 246$	$3,20 \times 10^5 \pm 116$	$2,35 \times 10^5 \pm 463$	$3,65 \times 10^5 \pm 790$
N3 найвища доза	$4,11 \times 10^5 \pm 1570$	$3,76 \times 10^5 \pm 662$	$1,45 \times 10^5 \pm 293$	$9,85 \times 10^5 \pm 4042$

Радіонуклідне забруднення точок відбору проб ЗВП ФАЕС оцінено за питомою активністю ^{137}Cs у шарах ґрунту. Результати використано для розрахунку поглинутих доз для ґрунтових мікроорганізмів за допомогою Biota DC.

Таблиця 8. Поглинуті дози для ґрунтових мікроорганізмів ЗВП ФАЕС

Код зразка	Потужність поглинутої дози, $\mu\text{Гр/год}$	Потужність поглинутої дози, $\mu\text{Гр/год}$	Потужність поглинутої дози, $\mu\text{Гр/год}$	Потужність поглинутої дози, $\mu\text{Гр/год}$
Код зразка	липень 2014, S	жовтень 2014, F	лютий 2015, W	квітень 2015, V
J2 контроль	6,3	16,5	16,9	11,6
M3 низька доза	3,3	3,26	8,8	7,6
J3 середня доза	9,7	11,8	14,7	6,7
J5 середня доза	15,4	104,8	41,7	54,5
J7 висока доза	18,9	130,4	96,1	148,8
N3 найвища доза	167,7	153,6	59,3	401,7

Окремо розглянуто просторову динаміку дозового навантаження. Дані гамма-зйомки дозволили зробити припущення щодо причин флуктуації забруднення на точках N3 та J7 і врахувати вплив рельєфу на перерозподіл радіонуклідів.

Крім просторової оцінки, у роботі проведено сезонний моніторинг зміни потужності дози. На точках із найбільшою флуктуацією забруднення ^{137}Cs показано сезонну динаміку потужності поглинутої дози разом із даними щодо опадів і температури повітря.

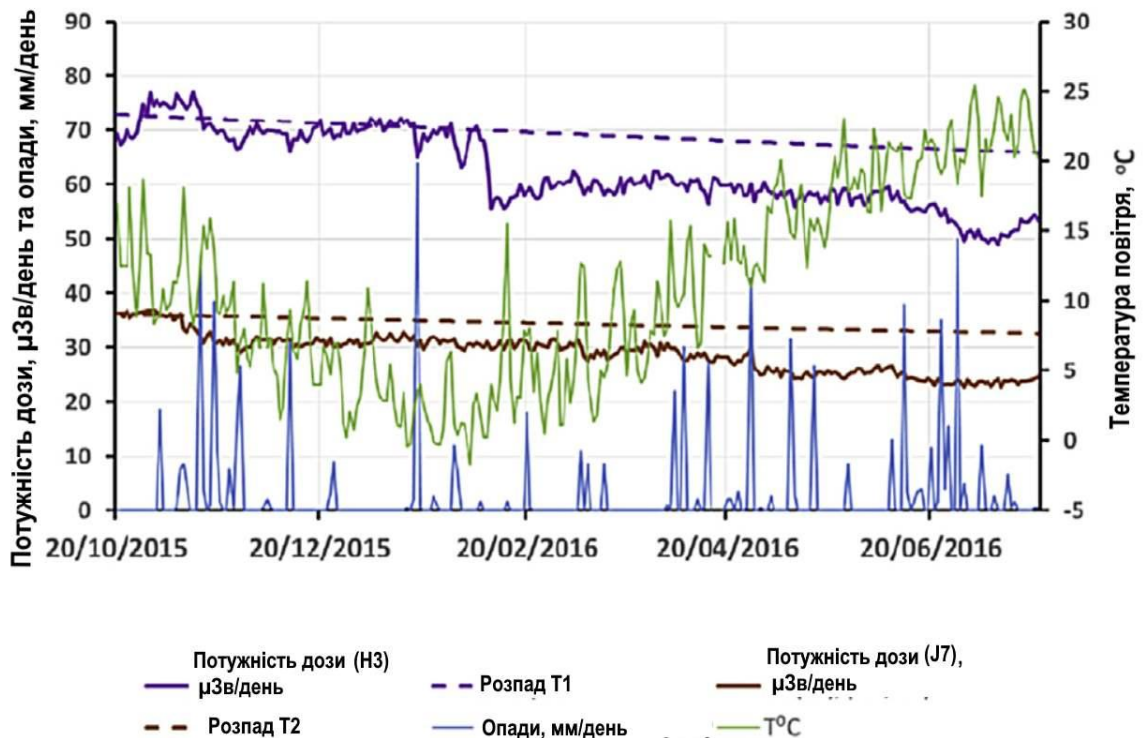


Рис. 6. Сезонна динаміка потужності поглинутої дози на точках із найбільшою флуктуацією забруднення ^{137}Cs

Концентрація тотальної ДНК у зразках ЗВП ФАЕС варіювала залежно від точки та сезону. У дисертації показано, що концентрація ДНК достовірно корелювала із загальним вмістом азоту, але не виявила залежності від сезону відбору, що може свідчити про цілорічну мікробіологічну активність.

Підбір методології для біоінформатичної обробки результатів секвенування ДНК здійснювали за загальною схемою аналізів: перевірка якості даних, фільтрація рідів, таксономічна ідентифікація, розрахунок показників різноманіття, побудова матриць і подальший багатофакторний аналіз.

У результаті аналізу метагеномів ґрунтів ЗВП ФАЕС ідентифіковано понад 7000 видів мікроорганізмів. На відміну від ЧЗВ, де серед доміант переважали *Actinobacteria* та *Alphaproteobacteria*, у ґрунтах ЗВП ФАЕС домінували *Clostridia* та *Actinobacteria*.

У розділі показано виражену сезонну динаміку кількості окремих таксономічних одиниць, ідентифікованих у ґрунтах ЗВП ФАЕС. Максимальне видове багатство зафіксовано восени, мінімальне — взимку, що узгоджується з сезонними змінами вологості, температури і доступності поживних речовин.

Оцінка альфа-різноманіття включала сезонну динаміку довжини гілок філогенетичного дерева, індексу Шеннона, індексу Сімпсона, індексу chao1 та індексу домінування ID. Результати демонструють, що мікробіоми ЗВП ФАЕС характеризуються не лише градієнтом забруднення, а й значною сезонною мінливістю.

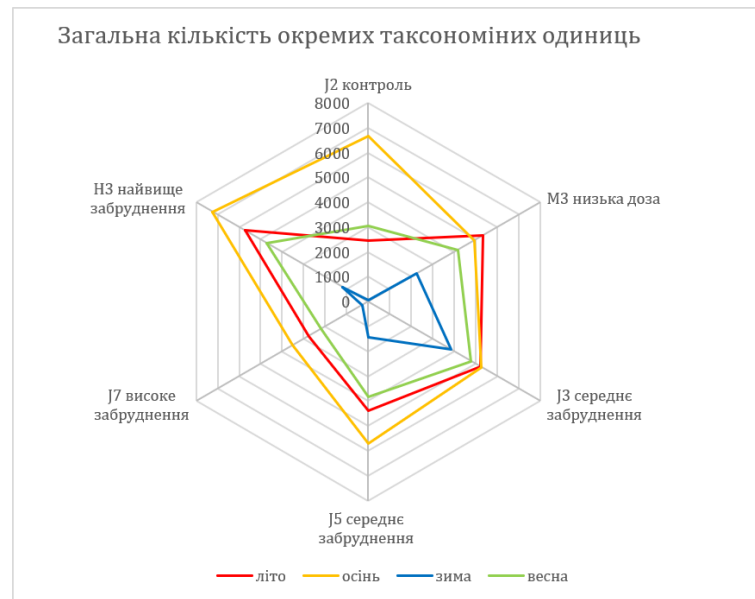


Рисунок 7. Сезонна динаміка кількості окремих таксономічних одиниць, ідентифікованих у ґрунтах, відібраних із ЗВП ФАЕС

Метрики бета-різноманіття дали змогу оцінити групування мікробіомів ґрунтів ЗВП ФАЕС залежно від точки відбору і сезону. У роботі зроблено висновок, що радіонуклідне забруднення у дозах, сформованих після аварії на ФАЕС, не має визначального впливу на формування структури мікробіому без урахування сезонних і ґрунтових факторів.

Аналіз надлишковості для мікробіомів ЗВП ФАЕС встановив статистично значущий зв'язок структури мікробних угруповань з описовими змінними. У висновках до розділу зазначено, що структура мікробіомів пов'язана з рівнями радіонуклідного забруднення, але цей зв'язок реалізується разом із сезонною динамікою та агрохімічними властивостями ґрунту.

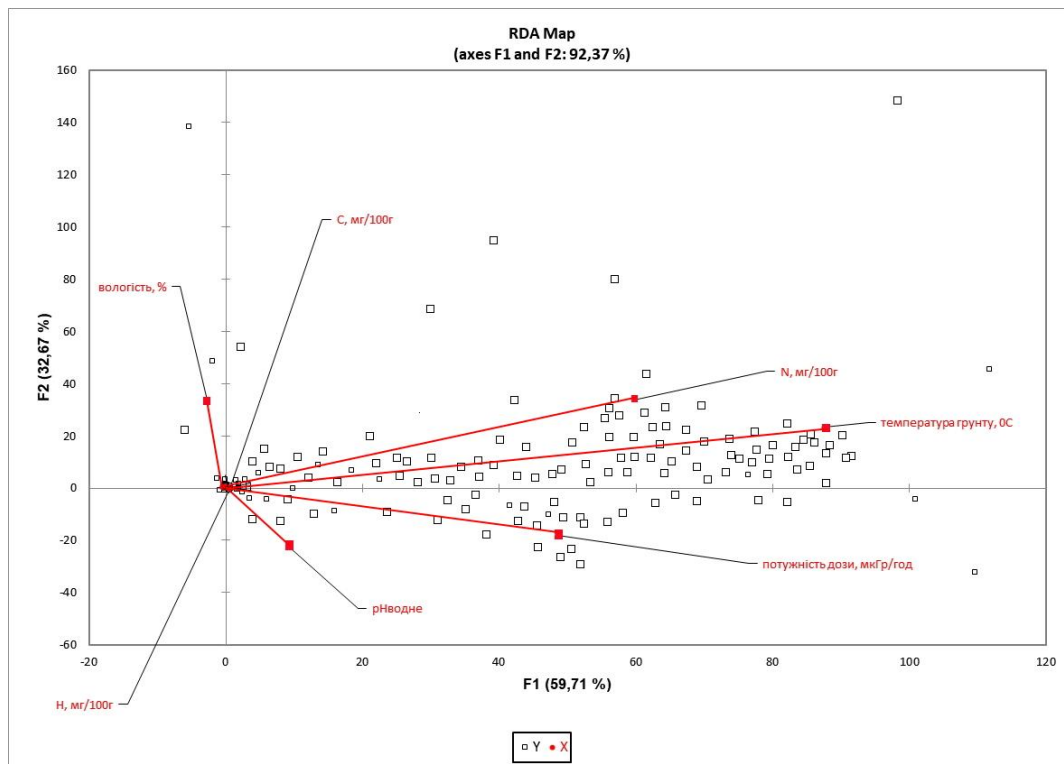


Рисунок 8. Матриця аналізу надлишковості для мікробіомів ЗВП ФАЕС, зорганізованих на рівні Порядок (достовірно при $p = 0,05$).

Резюме. Вперше наведено характеристику бактеріального різноманіття бурих лісових ґрунтів північної частини японського острова Хонсю. Кількість представлених таксонів свідчить про складність та усталеність процесів, що відбуваються в досліджених ґрунтах, а показники альфа- та бета-різноманіття – про їх клімаксісність та буферність. Показано значну сезонну динаміку в усіх метриках видового багатства, а відсутність домінантів свідчить про врівноваженість процесів. Аналіз надлишковості, проведений з урахуванням сезонної динаміки, підтверджує гіпотезу щодо сумісного впливу вмісту доступного азоту та потужності поглинутої дози в ґрунті на структуру мікроченозу, але демонструє чітку сезонну детермінованість спільнот.

Таблиця 9. Порівняння мікробіомів ЧЗВ і ЗВП ФАЕС

Ознака	ЧЗВ	ЗВП ФАЕС
Тип ґрунту	дерново-підзолисті ґрунти Українського Полісся	бурі лісові ґрунти гірських регіонів Японії
Провідний просторовий фактор	плямистість забруднення, ПТЛРВ, Рудий ліс	рельєф, схилі процеси, перерозподіл підстилки
Провідний часовий фактор	довготривала післяаварійна стабілізація	виражена сезонна динаміка
Таксономічне багатство	понад 4300 видів	понад 7000 видів
Домінантні групи	Actinomycetales, Acidobacteriales, Rhizobiales; Actinobacteria та Alphaproteobacteria	Clostridia та Actinobacteria
Ключовий висновок	структура пов'язана з дозою і амонійним азотом	структура пов'язана з дозою, азотом, сезонністю, температурою і вологістю

У шостому розділі, «**Моделювання поглинутої дози для ґрунтових мікроорганізмів**» наведено моделювання поглинутої дози для ґрунтових мікроорганізмів. Розділ присвячено розрахунку β - та γ -складових ефективної енергії, геометричному представленню бактеріальної клітини, визначенню параметрів мікроорганізмів у ґрунті та обрахунку ефективної дози на одну бактеріальну клітину.

Для розрахунку β -складової ефективної енергії використано характеристики розпаду ^{137}Cs . Значення, надані таблицею ізотопів, складають 174,32 кеВ (94,5 %) та 416,26 кеВ (5,3 %), що збігається зі значеннями, використаними в таблиці розрахунків.

Загальний об'єм бактерій у кубічному метрі ґрунту розраховано на основі геометричної моделі бактеріальної клітини як еліпсоїда обертання. Для моделювання використано параметри висоти, ширини та довжини бактерії, а також кількість бактерій у ґрунті.

У роботі наведено параметри мікроорганізмів у ґрунті, використані для розрахунку моделі, параметри для розрахунку поглинутої енергії та обраховані параметри ефективної дози на одну бактеріальну клітину.

Результати моделювання використано для обрахунку доз для окремих представників мікробіомів, відібраних з території ЗВП ФАЕС у літній сезон. Такий підхід дозволив перейти від оцінки питомої активності зразка до оцінки дози на рівні мікробної клітини.

Шостий розділ завершує експериментально-аналітичну частину дисертації, оскільки пов'язує радіометричні характеристики забруднених субстратів із радіобіологічною інтерпретацією отриманих мікробіомних результатів.

ВИСНОВКИ

Узагальнення: У дисертаційній роботі проведено комплексну оцінку таксономічної структури та функціонального потенціалу мікробіомів радіонуклідно забруднених ґрунтів і техногенних субстратів об'єкта «Укриття» ЧАЕС, Чорнобильської зони відчуження та зон, які важко повернути у господарювання навколо АЕС Фукусіма-1. За результатами метагеномного аналізу, визначення фізико-хімічних характеристик середовища, оцінки дозового навантаження та багатофакторного статистичного аналізу встановлено відмінності таксономічної структури й функціональних характеристик мікробних угруповань досліджених систем. Для ґрунтових мікробіомів не виявлено прямої залежності показників альфа-різноманіття від потужності поглинутої дози в досліджених діапазонах. Водночас встановлено зв'язок таксономічної структури мікробних угруповань із поєднаною дією дозового навантаження та біогеохімічних характеристик ґрунтів, зокрема вмісту доступних сполук азоту. Для техногенних субстратів ОУ ЧАЕС визначено особливості таксономічного складу та функціонального потенціалу мікробіомів за умов високого дозового навантаження й специфічних фізико-хімічних властивостей середовища.

1. Визначено характеристики досліджених радіонуклідно забруднених ґрунтів і техногенних субстратів. Масив досліджень охоплював 35 зразків: 6 зразків субстратів об'єкта «Укриття» ЧАЕС, 5 зразків ґрунтів Чорнобильської зони відчуження та 24 зразки ґрунтів зон, які важко повернути у господарювання навколо АЕС Фукусіма-1, відібрані впродовж чотирьох сезонів. Потужність поглинутої дози становила 1-135 мГр/год для субстратів ОУ ЧАЕС, 0,1-35 мкГр/год для ґрунтів ЧЗВ та 3-402 мкГр/год для ґрунтів ЗВП ФАЕС. Ґрунти ЧЗВ характеризувалися вмістом гумусу 0,84-2,52 % та легкогідролізованого азоту 34-74 мг/кг; ґрунти ЗВП ФАЕС мали вищу забезпеченість азотом. Субстрати ОУ ЧАЕС не мали генетичних ознак сформованого ґрунту, характеризувалися лужною реакцією середовища (рН 7,5–8,5) і вмістом рухомих сполук заліза до 39 мг/кг.

2. Адаптовано методичні підходи до метагеномного аналізу мікробіомів радіонуклідно забруднених ґрунтів і техногенних субстратів. Оптимізовано процедури виділення сукупної ДНК, підготовки бібліотек для ампліконного секвенування гена 16S рРНК, контролю якості та фільтрації даних секвенування. Адаптовано послідовність біоінформатичної обробки з використанням QIIME, PICRUSt, HUMAnN та FastQC. Для повногеномного секвенування відібрано два зразки: R7 - із внутрішнього виходу шахти Ю-9-В системи моніторингу «Фініш» у зоні лімітованого доступу об'єкта «Укриття» ЧАЕС; R12 - контрольний зразок із-під зовнішньої стіни саркофага з боку проммайданчика ЧАЕС, за межами ОУ. Із двох зразків зони суворого режиму ОУ ЧАЕС (R2 та R8) виділити ДНК не вдалося.

3. Встановлено відмінності таксономічного складу та показників біорізноманіття мікробних угруповань внутрішнього техногенного субстрату ОУ ЧАЕС та контрольного зразка з прилеглого проммайданчика. За результатами ампліконного секвенування гена 16S рРНК у зразку з шахти Ю-9-В (R7) ідентифіковано 133 бактеріальні родини, тоді як у контрольному зразку, відібраному із зовнішнього боку стіни саркофага (R12) - 207 родин. Повногеномний аналіз виявив ширший спектр таксономічних одиниць в обох зразках порівняно з ампліконним секвенуванням. Для контрольного зразка встановлено вищі показники таксономічного багатства та вирівняності мікробного угруповання. Виявлені відмінності характеризують мікробіоми субстратів, сформованих за різних радіаційних, фізико-хімічних і техногенних умов.

4. Визначено функціональний потенціал мікробних угруповань субстрату з шахти Ю-9-В об'єкта «Укриття» ЧАЕС та контрольного зразка з проммайданчика. За результатами повногеномного аналізу частка білків, пов'язаних із репарацією та рекомбінацією ДНК, становила 2,29 % для внутрішнього техногенного субстрату (R7) та 2,24

% для зовнішнього контрольного зразка (R12). Частка АВС-транспортів становила відповідно 2,64 та 3,11 %. Виявлено функціональні категорії, пов'язані з транспортом речовин, підтриманням клітинної стійкості та окисно-відновними процесами. Отримані результати характеризують функціональний потенціал мікробіомів за різних умов формування субстратів, однак не дозволяють відокремити внесок дозового навантаження від впливу їхніх фізико-хімічних властивостей.

5. Встановлено таксономічний склад і показники біорізноманіття мікробіомів ґрунтів Чорнобильської зони відчуження. У досліджених ґрунтах ідентифіковано понад 4300 видів мікроорганізмів із переважанням представників *Actinomycetales* (14–16 %), *Acidobacteriales* (11–16 %) та *Rhizobiales*. Найвищий показник видового багатства серед досліджених зразків встановлено для ґрунту траншеї Т22 Рудого лісу (5297 OTU), для якого також визначено найнижчий індекс домінування ($ID = 0,005$). Виявлено відмінності структури мікробних угруповань між ґрунтами ділянок із різним характером антропогенного порушення та рівнем радіонуклідного забруднення.

6. Охарактеризовано таксономічну структуру та сезонну мінливість мікробіомів ґрунтів зон, які важко повернути у господарювання навколо АЕС Фукусіма-1. У досліджених ґрунтах ідентифіковано понад 7000 видів мікроорганізмів, серед яких переважали представники *Clostridia* та *Actinobacteria*. Встановлено сезонні відмінності показників альфа-різноманіття: максимальне видове багатство (до 7239 OTU) зафіксовано восени, мінімальне (від 55 OTU) - узимку. Показано відмінності таксономічного складу мікробіомів ЧЗВ та ЗВП ФАЕС, зокрема за співвідношенням домінантних таксономічних груп. Сезонна мінливість мікробіомів ЗВП ФАЕС розглядалася з урахуванням температури, вологості, поживного режиму ґрунтів і змін радіаційних умов.

7. Встановлено зв'язки між характеристиками мікробіомів, дозовим навантаженням та біогеохімічними показниками ґрунтів. Для ґрунтів ЧЗВ виявлено зв'язок концентрації тотальної ДНК із вмістом легкогідролізованого азоту ($R^2 = 0,48$) та гумусу ($R^2 = 0,75$). Для ґрунтів ЗВП ФАЕС встановлено статистично значущий зв'язок концентрації ДНК із загальним вмістом азоту ($p < 0,05$). Аналіз надлишковості (RDA) виявив зв'язок таксономічної структури мікробних угруповань із поєднанням потужності поглинутої дози, зумовленої ^{137}Cs , та вмісту амонійного азоту; для ґрунтів ЧЗВ отримано граничний рівень статистичної значущості ($p = 0,05$). У ЗВП ФАЕС характер цих зв'язків залежав від сезону відбору зразків. Прямої кореляції між потужністю поглинутої дози та показниками альфа-різноманіття досліджених ґрунтових мікробіомів не встановлено.

8. Розроблено та застосовано модель оцінки поглинутої дози для ґрунтових мікроорганізмів. На основі геометричного представлення бактеріальної клітини й характеристик β - та γ -випромінювання ^{137}Cs виконано розрахунки поглинутої енергії та дозового навантаження для модельної бактеріальної клітини. Результати зіставлено з оцінками, отриманими за допомогою Biota DC та ERICA Tool. Для досліджених ґрунтів ЧЗВ визначено просторові відмінності потужності поглинутої дози від 0,1 до 34,9 мкГр/год; для ґрунтів ЗВП ФАЕС встановлено сезонні відмінності з максимальними значеннями до 401,7 мкГр/год. Модель дозволила зіставити характеристики радіонуклідного забруднення середовища з розрахунковими дозовими характеристиками мікроорганізмів. За результатами порівняльного аналізу встановлено, що в межах досліджених умов відмінності структури мікробіомів не можуть бути однозначно пояснені лише величиною поглинутої дози без урахування фізико-хімічних властивостей і походження субстратів.

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧКИ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Колективні монографії

1. **Паренюк, О. Ю.**, Ілленко, В. В., Гудков, І. М. Мікрофлора забруднених радіонуклідами ґрунтів. Монографія. Київ: НУБіП України, 2018. 210 с. *(Здобувачкою сформульовано наукову ідею роботи, виконано узагальнення літературних даних і результатів власних досліджень щодо мікрофлори радіонуклідно забруднених ґрунтів, проведено інтерпретацію отриманих результатів та підготовлено основний текст монографії за участю співавторів).*

Статті у періодичних наукових виданнях,
включених до категорії «А» Переліку наукових фахових видань України
та/або у закордонних виданнях, проіндексованих у базах даних
Web of Science Core Collection та/або Scopus

2. **Паренюк О. Ю.**, Мошинець О. В., Титова Л. В. та ін. Qualitative composition of dominating forms of microorganisms isolated from radionuclide contaminated soil and their ability to accumulate ^{137}Cs . Мікробіологічний журнал. 2013. Vol. 75, No. 1. P. 33–40. *(Здобувачкою взято участь у постановці дослідження, аналізі якісного складу домінантних форм мікроорганізмів, інтерпретації їхньої здатності до акумуляції ^{137}Cs та підготовці матеріалів статті).*

3. **Pareniuk O.**, Shavanova K., Laceby J. P. et al. Modification of ^{137}Cs transfer to rape (*Brassica napus* L.) phytomass under the influence of soil microorganisms. Journal of Environmental Radioactivity. 2015. Vol. 149. P. 73–80. *(Здобувачкою проведено постановку експерименту, опрацювання та інтерпретацію даних щодо впливу ґрунтових мікроорганізмів на перехід ^{137}Cs у фітомасу ріпаку, сформульовано основні висновки та підготовлено рукопис статті за участю співавторів).*

4. Ruban Y., Illienko V., Nesterova N., **Pareniuk O.** et al. Estimation of the effect of radionuclide contamination on *Vicia sativa* L. induction of chlorophyll fluorescence parameters using “floratest” optical biosensor. Progress in Biomedical Optics and Imaging - Proceedings of SPIE. 2017. *(Здобувачкою взято участь у формуванні радіоекологічної постановки дослідження, інтерпретації впливу радіонуклідного забруднення на фізіологічні показники рослин та обговоренні отриманих результатів).*

5. **Паренюк О. Ю.**, Шаванова К. Є., Ілленко В. В. та ін. Різноманіття мікрофлори у зруйнованому четвертому енергоблоці ЧАЕС. Ядерна фізика та енергетика. 2017. Т. 18, № 2. С. 179–187. *(Здобувачкою виконано відбір та підготовку зразків, проведено аналіз мікробного різноманіття субстратів об'єкта «Укриття» ЧАЕС, здійснено інтерпретацію результатів і підготовлено основний текст статті за участю співавторів).*

6. Konoplev A., Golosov V., Wakiyama Y., **Pareniuk O.** et al. Natural attenuation of Fukushima-derived radiocesium in soils due to its vertical and lateral migration. Journal of Environmental Radioactivity. 2017. Vol. 186. P. 23–33. *(Здобувачкою взято участь в аналізі та інтерпретації даних щодо поведінки радіоцезію у ґрунтах територій, забруднених унаслідок аварії на АЕС Фукусіма-1, а також у підготовці матеріалів публікації).*

7. Ruban Y., Shpyrka N., **Pareniuk O.** et al. BLV leucosis biosensor based on ZnO nanorods photoluminescence: 2017 IEEE 37th International Conference on Electronics and Nanotechnology, ELNANO 2017 - Proceedings. 2017. *(Здобувачкою взято участь в обговоренні біологічної частини дослідження, інтерпретації результатів щодо застосування біосенсорних підходів та підготовці матеріалів публікації).*

8. Nesterova N., **Pareniuk O.**, Illienko V. et al. Physiological reactions in cereals family *Avena sativa* L. and *Avena nuda* L., caused by low-temperature stress factors: 2019 IEEE 39th International Conference on Electronics and Nanotechnology, ELNANO 2019 - Proceedings. 2019. *(Здобувачкою взято участь у радіоекологічній інтерпретації результатів, обговоренні*

впливу стресових чинників на фізіологічні реакції рослин та підготовці матеріалів публікації).

9. **Pareniuk O.**, Yasuda N. Chornobyl exclusion zone: current status and challenges. *Annals of the ICRP*. 2021. Vol. 50, No. 1_suppl. P. 201–208. *(Здобувачкою виконано узагальнення даних щодо сучасного стану Чорнобильської зони відчуження, проаналізовано наукові та радіоекологічні виклики її подальшого функціонування, сформульовано основні положення публікації спільно зі співавтором).*

10. Turbat B., Yoshida K., El-Hameed A. A., Ruban Y., **Pareniuk O.**, Rashed Nizam Q. M., Yasuda N. Verification of historical radiation monitoring data at residential areas for nuclear emergency occurred in a neighboring country. *Journal of Nuclear Science and Technology*. 2022. Vol. 59, No. 2. P. 188–197. *(Здобувачкою взято участь в аналізі історичних даних радіаційного моніторингу, інтерпретації їхнього значення для оцінки ядерних аварій у сусідніх країнах та підготовці матеріалів статті).*

Статті у наукових виданнях,

включених до Переліку наукових фахових видань України

11. **Паренюк О. Ю.**, Сімутін І. О., Самофалова Д. О. Визначення основних метрик різноманіття мікробіомів забруднених радіонуклідами ґрунтів. *Біоресурси і природокористування*. 2018. Т. 10, № 5–6. *(Здобувачкою сформульовано мету дослідження, виконано аналіз метрик різноманіття мікробіомів радіонуклідно забруднених ґрунтів, проведено біоінформатичну та статистичну обробку даних, узагальнено результати й підготовлено основний текст статті).*

12. Boretska M., Shavanova K. E., Ruban Y., **Pareniuk O.** Impact of γ -irradiation on biofilm-formation by corrosion-relevant heterotrophic bacteria. *Наукові доповіді НУБіП України*. 2020. Т. 5, № 5 (87). *(Здобувачкою взято участь у постановці дослідження, аналізі впливу γ -опромінення на біоплівкоутворення корозійно-релевантних гетеротрофних бактерій, інтерпретації результатів та підготовці тексту статті).*

13. Рубан Ю. В., Нестерова Н. Г., Шаванова К. Є., **Паренюк О. Ю.** та ін. Вплив рельєфу на формування дозового навантаження на рослини внаслідок радіонуклідного забруднення після аварії на АЕС «Фукусіма-1». *Науковий вісник Східноєвропейського національного університету імені Лесі Українки*. 2020. Т. 2, № 390. *(Здобувачкою взято участь в аналізі радіоекологічних умов території АЕС Фукусіма-1, інтерпретації впливу рельєфу на формування дозового навантаження та обговоренні результатів дослідження).*

14. Рубан Ю. В., Шаванова К. Є., Ілленко В. В., **Паренюк О. Ю.** та ін. PLFA аналіз структури мікробної спільноти на пунктах тимчасової локалізації радіоактивних відходів зони відчуження ЧАЕС. Фактори експериментальної еволюції організмів. 2020. Т. 26. С. 149–153. *(Здобувачкою сформульовано радіоекологічну частину дослідження, взято участь в аналізі структури мікробної спільноти ПТЛРВ Чорнобильської зони відчуження, інтерпретації результатів та підготовці висновків).*

15. Корепанова К. Д., Шаванова К. Є., Ілленко В. В., **Паренюк О. Ю.** та ін. Розрахунок дозових навантажень на мікрофлору ґрунту, сформованих на пунктах зберігання радіоактивних відходів на території зони відчуження ЧАЕС. *Екологічні науки*. 2020. Т. 32. С. 164–168. *(Здобувачкою взято участь у постановці задачі, підготовці вихідних даних для розрахунку дозових навантажень на ґрунтову мікрофлору, інтерпретації результатів та формулюванні висновків щодо радіобіологічного значення отриманих оцінок).*

16. Ілленко В. В., Шаванова К. Є., Рубан Ю. В., **Паренюк О. Ю.** та ін. Надходження ^{137}Cs у рослини зернових культур за впливу комплексних бактеріальних препаратів. *Вісник ХНУ імені В. Н. Каразіна. Серія «Екологія»*. 2020. Т. 23. С. 139–149. *(Здобувачкою взято участь у формуванні наукової ідеї, аналізі впливу комплексних бактеріальних препаратів на надходження ^{137}Cs у рослини зернових культур, інтерпретації результатів і підготовці матеріалів статті).*

17. Рубан Ю. В., Шаванова К. Є., Самофалова Д. О., **Паренюк О. Ю.** та ін. Порівняння мікробіомів двох різних екотипів Чорнобильської зони відчуження: пунктів тимчасової локалізації радіоактивних відходів (ПТЛРВ) та забруднених екосистем. Вісник проблем біології та медицини. 2020. Т. 157, № 3. С. 83–88. *(Здобувачкою сформульовано концепцію порівняльного аналізу мікробіомів різних екотипів ЧЗВ, проведено інтерпретацію мікробіомних даних, узагальнено результати та підготовлено основні положення статті за участю співавторів).*

18. Boretska M., Datsenko I., Suslova O., **Pareniuk O.**, Moshynets O. et al. Amino acid composition of tightly bound exopolymeric substances produced by corrosion-related bacteria in presence of mild steel. *Advances in Microbiology*. 2014. Vol. 4, No. 12. P. 808–815. *(Здобувачкою взято участь в інтерпретації результатів щодо властивостей корозійно-асоційованих бактерій, узагальненні даних про екзополімерні речовини та підготовці наукової публікації).*

19. **Паренюк Е. Ю.**, Шаванова Е. Е., Ильенко В. В. и др. Влияние почвенной микрофлоры на переход ^{137}Cs в растения. *Радиационная биология. Радиоэкология*. 2015. Т. 55, № 1. *(Здобувачкою сформульовано наукову ідею дослідження, виконано експериментальну частину щодо оцінки впливу ґрунтової мікрофлори на перехід ^{137}Cs у рослини, проведено аналіз та інтерпретацію результатів, підготовлено основний текст статті за участю співавторів).*

20. Illienko V., Nesterova N., **Pareniuk O.** et al. Estimation of the effect of radionuclide contamination on *Vicia sativa* L. induction of chlorophyll fluorescence parameters using “Floratest” optical biosensor. *Biophotonics—Riga 2017, SPIE, 07 December 2017*. P. 20. *(Здобувачкою взято участь у постановці радіоекологічної частини дослідження, аналізі впливу радіонуклідного забруднення на індукцію флуоресценції хлорофілу та підготовці матеріалів публікації).*

21. **Паренюк Е. Ю.**, Шаванова Е. Е., Ильенко В. В. и др. Состояние микробиома в помещениях четвертого энергоблока Чернобыльской АЭС. *Радиационная биология. Радиоэкология*. 2018. Т. 58, № 2. С. 195–204. *(Здобувачкою виконано відбір і підготовку зразків із приміщень четвертого енергоблока ЧАЕС, проведено аналіз стану мікробіому, інтерпретацію отриманих даних та підготовку основних положень статті за участю співавторів).*

Тези наукових доповідей та матеріали конференцій

1. **Pareniuk O.**, Shavanova K., Illienko V., Nanba K., Gudkov I. Is there a possibility to use soil microflora for elevating the efficiency of phytoremediation on radionuclide contaminated territories like Chornobyl and Fukushima? *15th International Symposium on Microbial Ecology*, Seoul, South Korea, August 2014: conference paper. DOI: 10.13140/2.1.4249.6804.

2. **Pareniuk O.** Changes in ^{137}Cs bioavailability under the influence of soil microflora. *International Conference on Radioecology & Environmental Radioactivity*, Barcelona, Spain, 7–12 September 2014: conference presentation.

3. **Pareniuk O.** Influence of soil bacteria on the redistribution of elements in the environment. *The 1st Annual Progress Report Meeting*, Institute of Environmental Radioactivity, Fukushima University, Fukushima, Japan, 19 March 2015: conference presentation.

4. **Pareniuk O.** Soil bacteria and their role in the redistribution of Cs in ecosystems. *The 2nd Annual Progress Report Meeting*, Institute of Environmental Radioactivity, Fukushima University, Fukushima, Japan, 7 March 2016: conference presentation.

5. **Паренюк О. Ю.**, Ілленко В. В., Рубан Ю. В., Шаванова К. Є. Вплив інокуляції мікроорганізмами насіння вики та ріпаку на морфометричні показники рослин, вирощуваних на забрудненому радіонуклідами ґрунті. *XI Міжнародна наукова конференція молодих науковців «Біологія: від молекули до біосфери»*, Харків, 29 листопада – 2 грудня 2016 р.: матеріали конференції. Харків, 2016. С. 24.

6. **Паренюк О. Ю.**, Рубан Ю. В., Ілленко В. В., Шаванова К. Є., Гудков І. М. Оцінка зміни параметрів фотосинтезу *Vicia sativa* L. під впливом забруднення ^{137}Cs .

International Science Conference of Students and Young Scientists "Ecology, NeoEcology, Environmental Protection and Balanced Environmental Management": book of abstracts. Kharkiv, 2016. C. 57

7. Ruban Yu., Illienko V., **Pareniuk O.**, Shavanova K. Estimation of the effect of radionuclide contamination on *Vicia sativa* L. CFI parameters using "Floratest" optical biosensor. *Developments in Optics and Communications 2015*: 12th International Young Scientist Conference, Riga, Latvia, 21–24 March 2016: book of abstracts. Riga, 2016. P. 47

8. Ruban Yu., Illienko V., Shavanova K., **Pareniuk O.**, Starodub M. Визначення та оцінка параметрів фотосинтезу рослин горошку посівного *Vicia sativa* L. під впливом радіонуклідного забруднення. *Молодь і поступ біології*: XII Міжнародна наукова конференція студентів та аспірантів, Львів, 19–21 квітня 2016 р.: тези доповідей. Львів, 2016. С. 175–176.

9. Ruban Yu., Illienko V., Nesterova N., **Pareniuk O.**, Shavanova K. The impact of microorganisms to modify the induction of chlorophyll fluorescence in vetch plants planting on soils contaminated with ^{137}Cs . *Developments in Optics and Communications 2017*: 13th International Young Scientist Conference, Riga, Latvia, 6–7 April 2017: book of abstracts. Riga, 2017. P. 39.

10. Ruban Yu., Illienko V., Nesterova N., **Pareniuk O.**, Shavanova K. Estimation of the effect of radionuclide contamination on *Vicia sativa* L. induction of chlorophyll fluorescence parameters using "Floratest" optical biosensor. *2nd International Conference "Biophotonics – Riga 2017"*, Riga, Latvia, 27–29 August 2017: conference materials. Riga, 2017. P. 45.

11. Ruban Yu., Illienko V., Nesterova N., **Pareniuk O.**, Shpyrka N., Shavanova K. Estimation of the effect of radionuclide contamination on *Vicia sativa* L. inoculated with different species of bacteria. *XV з'їзд Товариства мікробіологів України ім. С. М. Виноградського*, Львів, 11–15 вересня 2017 р.: матеріали конференції. Львів: СПОЛОМ, 2017. С. 25.

12. Ruban Y., Shpyrka N., **Pareniuk O.** et al. BLV leucosis biosensor based on ZnO nanorods photoluminescence. *2017 IEEE 37th International Conference on Electronics and Nanotechnology (ELNANO)*, Kyiv, Ukraine, 18–20 April 2017: conference paper. DOI: 10.1109/ELNANO.2017.7939779.

13. Simutin I., **Pareniuk O.**, Shavanova K., Illienko V., Samofalova D., Gudkov I. Microbiome of the destroyed 4th unit of Chornobyl Power Plant. *EMBO|EMBL Symposium "New Approaches and Concepts in Microbiology"*, Heidelberg, Germany, 27–30 June 2017: poster. DOI: 10.13140/RG.2.2.18973.00486.

14. Ruban Yu. V., **Pareniuk O. Yu.**, Shavanova K. Ye. Оцінка мікробіологічного профілю ґрунтів з пунктів тимчасової локалізації відходів у зоні відчуження Чорнобильської АЕС за допомогою вивчення мембранних фосфоліпідів. «*Біологія: від молекули до біосфери*»: XIII Міжнародна наукова конференція молодих науковців, Харків, 29–30 листопада 2018 р.: матеріали конференції. Харків, 2018. С. 109.

15. Volkogon I. V., Ruban Yu. V., Illienko V. V., Shpyrka N. F., **Pareniuk O. Yu.**, Shavanova K. Ye. Трав'янисті фітоценози: особливості флуктуації у весняний період при різному трофічному навантаженні в острівній екосистемі. «*Біологія: від молекули до біосфери*»: XIII Міжнародна наукова конференція молодих науковців, Харків, 29–30 листопада 2018 р.: матеріали конференції. Харків, 2018. С. 194–196.

16. Shpyrka N. F., Ruban Yu. V., Pavlov O., Shavanova K., **Pareniuk O.**, Illienko V., Nesterova N. Контролювання мікотоксинів у зерні пшениці озимої за різних систем землеробства. «*Біологія: від молекули до біосфери*»: XIII Міжнародна наукова конференція молодих науковців, Харків, 29–30 листопада 2018 р.: матеріали конференції. Харків, 2018. С. 184–186.

17. Ruban Y., **Pareniuk O.**, Shavanova K. The microbiological profile assessment of soils from the sites of temporary localization of radioactive waste in the Chornobyl NPP exclusion

zone using PLFA analysis. *XV Міжнародна наукова конференція студентів і аспірантів "Молодь і поступ біології"*, Львів, 9–11 квітня 2019 р.: матеріали конференції. Львів, 2019.

18. **Паренюк О. Ю.**, Шаванова К. Є., Самофалова Д. О., Іллєнко В. В., Нестерова Н. Г., Шпирка Н. Ф., Рубан Ю. В., Гудков І. М. Вплив факторів навколишнього середовища на мікробні спільноти ґрунтів, відібраних з територій зони відчуження ЧАЕС. *7-й з'їзд Радіобіологічного товариства України*, Київ, 1–4 жовтня 2019 р.: матеріали конференції. Київ, 2019. С. 98.

19. Nesterova N., **Parenjuk O.**, Illienko V., Ruban Y., Shpyrka N., Shavanova K. Physiological reactions in cereals family *Avena sativa* L. and *Avena nuda* L., caused by low-temperature stress factors. *2019 IEEE 39th International Conference on Electronics and Nanotechnology (ELNANO)*, Kyiv, Ukraine, 16–18 April 2019: conference paper. DOI: 10.1109/ELNANO.2019.8783870.

20. **Parenjuk O.** Soil bacteria and their role in the redistribution of Cs in ecosystems. *The 2nd Annual Progress Report Meeting*, Institute of Environmental Radioactivity, Fukushima University, Fukushima, Japan, 7 March 2016: conference presentation.

АНОТАЦІЯ

Паренюк О.Ю. Комплексна оцінка мікробіомів забруднених радіонуклідами ґрунтів і субстратів антропогенних систем. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора біологічних наук за спеціальністю 03.00.01 «Радіобіологія». – Національний університет біоресурсів та природокористування України, МОН України, Київ, 2026.

Дисертаційна робота присвячена комплексному дослідженню впливу радіонуклідного забруднення та сформованих ним дозових навантажень на видове багатство, таксономічну структуру та функціональні характеристики мікробних угруповань ґрунтів і субстратів антропогенного походження.

За результатами морфолого-генетичних, фізико-хімічних та агрохімічних досліджень встановлено, що ґрунти Чорнобильської зони відчуження (ЧЗВ), відібрані в місцях досліджень, є відносно однорідними за основними агрохімічними показниками та відповідають типовим для Українського Полісся дерново-підзолистим супіщаним і легкосуглинковим ґрунтам. Забезпеченість цих ґрунтів гумусом, легкогідролізованим азотом і обмінним калієм переважно була низькою або дуже низькою; вміст рухомого фосфору варіював від низького до середнього. Натомість субстрати, відібрані всередині об'єкта «Укриття» ЧАЕС, сформовані шарами розплавленого піску, пилу та техногенного матеріалу і ще не набули генетичних ознак ґрунту. Ґрунти зон, які важко повернути у господарювання навколо АЕС Фукусіма (ЗВП ФАЕС), виявилися більш забезпеченими азотом і більш вирівняними за вмістом рухомих сполук фосфору та калію, що відповідає властивостям бурих лісових ґрунтів гірських регіонів Японії.

Встановлено тенденцію до кореляції між концентрацією тотальної ДНК і вмістом легкогідролізованих сполук азоту ($R^2 = 0,48$), а також тісніший зв'язок між вмістом загального гумусу та концентрацією тотальної ДНК у дерново-підзолистих ґрунтах ($R^2 = 0,75$), що свідчить про суттєвий внесок поживного режиму ґрунту у формування мікробної біомаси.

За допомогою програмних пакетів Biota DC та ERICA Tool розраховано індивідуальні потужності доз для бактеріальних клітин у точках відбору проб. Показано, що у зразках з об'єкта «Укриття» ЧАЕС потужність поглинутої дози становила від 1 до 135 мГр/год, у ґрунтах ЧЗВ - від 0,1 до 10 мГр/год, а для мікробіомів ЗВП ФАЕС була характерна виражена сезонна динаміка – від 6-168 мГр/год улітку до 12-402 мГр/год узимку.

Із досліджуваних зразків виділено сукупну бактеріальну ДНК, підібрано праймери для ампліфікації 16S рРНК та оптимізовано підходи до підготовки зразків для секвенування. Концентрації ДНК у виділених пробах варіювали в широких межах, однак залишалися придатними для подальшої ампліфікації та секвенування. Для повногеномного аналізу відібрано зразки із зони лімітованого доступу ОУ ЧАЕС (R7) і контрольної точки із зони вільного доступу (R12).

Секвенування 16S рРНК-ампліконів показало, що найбільший обсяг первинних файлів було отримано для зразків із ЗВП ФАЕС, дещо менший – для ґрунтів ЧЗВ, а найменший – для субстратів ОУ ЧАЕС. Це свідчить як про відмінності у структурі мікробіомів, так і про обмеження, пов'язані з типом досліджуваного субстрату.

Для аналізу таксономічного складу та оцінки впливу метаданих, зокрема радіонуклідного забруднення і дозового навантаження, адаптовано біоінформатичні протоколи з використанням програмного забезпечення QIIME, PICRUST та HUMAnN. Показано, що мікробіоми субстратів ОУ ЧАЕС суттєво відрізняються за показниками альфа-різноманіття: найвищу різноманітність виявлено у контрольному зразку із зони вільного доступу, тоді як у зразках із зони лімітованого доступу спостерігалось формування спільнот із вираженими домінантами, що може свідчити про екстремальність умов існування та обмежену доступність поживних речовин. Встановлено наявність мікроорганізмів і формування протоекосистем у приміщеннях ОУ ЧАЕС з різними режимами доступу. Водночас виділити ДНК із частини зразків зони суворого режиму не вдалося, що може бути пов'язано як із високими дозовими навантаженнями, так і з особливостями матриці зразків.

Уперше в Україні проведено повногеномне секвенування зразків із ОУ ЧАЕС. Повногеномний аналіз зразків R7 і R12 дозволив виявити значно вищий таксономічний потенціал мікробіомів порівняно з аналізом 16S рРНК, зокрема ідентифікувати нові, раніше не описані таксономічні групи на рівні родин. Показано, що за результатами повногеномного аналізу мікробіоми характеризуються вищими показниками альфа-різноманіття, а їхній функціональний профіль визначається переважанням білків транспортної функції.

У результаті аналізу метабеномів ґрунтів ЧЗВ ідентифіковано понад 4300 видів мікроорганізмів, а в ґрунтах ЗВП ФАЕС – понад 7000. Для ґрунтів ЧЗВ показано варіювання індексів різноманіття і домінування, а також зв'язок структури мікробіомів із вмістом амонійної форми азоту та ^{137}Cs . У ґрунтах ЗВП ФАЕС встановлено виражену сезонну динаміку таксономічного складу та його зв'язок із рівнями радіонуклідного забруднення. На відміну від ЧЗВ, де серед домінант переважали *Actinobacteria* та *Alphaproteobacteria*, у ґрунтах ЗВП ФАЕС домінували *Clostridia* та *Actinobacteria*, що відображає відмінності природних умов, трофічного режиму та характеру антропогенного впливу.

Наукова новизна одержаних результатів полягає в узагальненні теоретичних і практичних положень щодо структури мікробіомів забруднених радіонуклідами субстратів та в розробленні концепції впливу радіонуклідного забруднення на мікробні угруповання.

Уперше:

- визначено фундаментальні характеристики біорізноманіття мікроорганізмів у ґрунтах і субстратах, забруднених радіонуклідами, на територіях України та Японії;
- запропоновано наукову концепцію впливу малих доз іонізуючого випромінювання на структуру мікробіомів аварійно забруднених територій;
- розроблено підходи до оцінки стабільності мікробних угруповань усередині ОУ ЧАЕС та в ґрунтах зон відчуження;
- одержано нові дані щодо впливу об'єктів ядерної енергетики на редукуючу ланку екосистем;
- оцінено ризик виникнення біокорозії на об'єктах ядерно-паливного циклу.

Удосконалено:

- біоінформатичні підходи до аналізу мікробіомів забруднених радіонуклідами субстратів;

- теоретичні та методологічні засади статистичної обробки результатів мікробіомних досліджень з урахуванням метаданих.

Набули подальшого розвитку:

- підходи до побудови моделей комплексної оцінки дозових навантажень на індивідуальних представників мікробіому;
- концептуальні уявлення про відповідь редукуючої ланки екосистеми на радіонуклідне забруднення.

Практичне значення одержаних результатів полягає в тому, що отримані дані достовірно відображають стан бактеріального біорізноманіття субстратів, відібраних у різних ізодозових умовах поблизу об'єктів ядерно-паливного циклу в Україні та Японії. Результати впроваджено у науково-дослідну діяльність трьох установ (акти впровадження): ТОВ "ГД "БТУ-ЦЕНТР" – оцінка ґрунтових мікробіомів для біологізації землеробства; ТОВ "Західний Буг" – управління ґрунтовими ресурсами; Інститут проблем безпеки АЕС НАН України – науковий супровід НДР щодо об'єкта "Укриття" ЧАЕС.

Окремі положення дисертації використовуються для підготовки фахівців на факультеті захисту рослин, біотехнологій та екології в межах спеціалізації «Радіоекологія».

Ключові слова: ґрунтова мікрофлора, метагеномний аналіз, мікробіомний аналіз, забруднені радіонуклідами ґрунти, Чорнобиль, Фукусіма.

ANNOTATION

Pareniuk O.Y. Comprehensive assessment of microbiomes of radionuclide-contaminated soils and substrates of anthropogenic systems. – Qualification scientific work with the manuscript copyright.

The thesis for Doctor in Biology scientific degree on a specialty 03.00.01 "Radiobiology" – National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Ministry of Education and Science of Ukraine, Kyiv, 2026.

The dissertation is devoted to a comprehensive study of the impact of radionuclide contamination and associated dose loads on the species richness, taxonomic structure, and functional characteristics of microbial communities inhabiting contaminated soils and anthropogenic substrates.

Morphological, genetic, physicochemical, and agrochemical analyses showed that the soils sampled within the Chornobyl Exclusion Zone (ChEZ) were relatively homogeneous in their main agrochemical characteristics and corresponded to typical sod-podzolic sandy loam and light loamy soils of Ukrainian Polissya. These soils were generally characterized by low or very low contents of humus, easily hydrolyzable nitrogen, and exchangeable potassium, whereas the content of mobile phosphorus ranged from low to medium. In contrast, the substrates sampled inside the Shelter Object of the Chornobyl Nuclear Power Plant (SO ChNPP) consisted of molten sand, dust, and technogenic material and had not yet acquired the genetic features of fully formed soils. The soils of the Fukushima Nuclear Power Plant difficult-to-return zones (FNPP DRZ) were richer in nitrogen and more balanced in terms of mobile phosphorus and potassium, corresponding to the properties of brown forest soils typical of mountainous regions of Japan.

A tendency toward correlation between total DNA concentration and the content of easily hydrolyzable nitrogen compounds was observed ($R^2 = 0.48$), while a stronger relationship was found between total humus content and total DNA concentration in sod-podzolic soils ($R^2 = 0.75$). These results indicate a substantial contribution of soil nutrient status to the formation of microbial biomass.

Using the Biota DC and ERICA Tool software packages, individual dose rates for bacterial cells were calculated for the sampling sites. It was shown that the absorbed dose rate in samples

from the SO ChNPP ranged from 1 to 135 mGy/h, in ChEZ soils from 0.1 to 10 μ Gy/h, whereas microbiomes from the FNPP DRZ exhibited pronounced seasonal dynamics, ranging from 6–168 μ Gy/h in summer to 12–402 μ Gy/h in winter.

Total bacterial DNA was isolated from the studied samples, primers for 16S rRNA amplification were selected, and sample preparation protocols for sequencing were optimized. DNA concentrations varied widely but remained suitable for amplification and sequencing. Samples from the restricted access area of the SO ChNPP (R7) and from the free access control area (R12) were selected for whole-genome analysis.

16S rRNA amplicon sequencing demonstrated that the largest primary sequence files were obtained from the FNPP DRZ samples, somewhat smaller files from ChEZ soils, and the smallest from substrates of the SO ChNPP. These differences reflect both the specific composition of the microbiomes and the limitations associated with the substrate matrix.

Bioinformatic protocols based on QIIME, PICRUSt, and HUMAnN were adapted to assess taxonomic composition and to evaluate the effects of metadata, including radionuclide contamination and dose load. The microbiomes of the SO ChNPP substrates differed substantially in alpha-diversity indices: the highest diversity was observed in the free access control sample, whereas samples from the restricted access area were characterized by communities with pronounced dominant taxa, indicating environmental extremity and limited nutrient availability. The presence of microorganisms and the formation of proto-ecosystems were confirmed in premises of the SO ChNPP with different access regimes. At the same time, DNA could not be isolated from some samples collected in the strict regime zone, which may be explained by either high dose loads or the specific properties of the substrate.

For the first time in Ukraine, whole-genome sequencing of samples from the SO ChNPP was performed. Whole-genome analysis of samples R7 and R12 revealed a considerably higher taxonomic potential of the microbiomes than 16S rRNA analysis and allowed the identification of previously undescribed taxonomic groups at the family level. Whole-genome data also demonstrated higher alpha-diversity values, while the functional profile of both microbiomes was characterized by the predominance of proteins involved in transport functions.

Metagenomic analysis of soils from the ChEZ identified more than 4,300 microbial species, whereas more than 7,000 species were identified in soils from the FNPP DRZ. In ChEZ soils, variation in diversity and dominance indices was observed, along with relationships between microbiome structure, ammonium nitrogen content, and ^{137}Cs concentration. In FNPP DRZ soils, pronounced seasonal dynamics of taxonomic composition and its association with radionuclide contamination levels were demonstrated. In contrast to the ChEZ, where *Actinobacteria* and *Alphaproteobacteria* predominated, the dominant taxa in FNPP DRZ soils were *Clostridia* and *Actinobacteria*, reflecting differences in environmental conditions, trophic status, and the nature of anthropogenic impact.

The **scientific novelty** of the dissertation lies in the generalization of theoretical and practical aspects of the structure of microbiomes inhabiting radionuclide-contaminated substrates and in the development of a concept describing the influence of radionuclide contamination on microbial communities.

For the first time, the following results were obtained:

- fundamental data on the biodiversity of microorganisms in radionuclide-contaminated soils and substrates in Ukraine and Japan;
- a scientific concept of the effects of low doses of ionizing radiation on the structure of microbiomes in accident-affected territories;
- new approaches to the assessment of the stability of microbial communities inside the SO ChNPP and in soils of exclusion zones;
- new evidence on the impact of nuclear energy facilities on the reducing component of ecosystems;
- an assessment of the risk of biocorrosion at nuclear fuel cycle facilities.

Improved:

- bioinformatic approaches to the analysis of microbiomes in radionuclide-contaminated substrates;
- theoretical and methodological principles of statistical processing of microbiome data with consideration of metadata.

Further developed:

- approaches to modelling complex dose loads for individual microbiome representatives;
- conceptual understanding of the response of the reducing component of ecosystems to radionuclide contamination.

The **practical significance** of the results lies in the fact that the obtained data reliably reflect the state of bacterial biodiversity in substrates sampled under different isodose conditions near nuclear fuel cycle facilities in Ukraine and Japan. The developed approaches to isolation, analysis, and interpretation of microbiome data may be used in further radioecological and radiobiological studies and in the training of specialists in radioecology..

Separate provisions of the dissertation are used for the training of specialists at the Faculty of Plant Protection, Biotechnology and Ecology within the "Radioecology" specialization.

Key words: soil microflora, metagenomic analysis, microbiome analysis, soils contaminated with radionuclides, Chornobyl, Fukushima.