

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертацію **ПАВЛОВСЬКОЇ Марії Олексіївни**
на тему: **«Процеси самовідновлення екосистеми Чорного моря
за дії ксенобіотиків різного походження»,**
подану на здобуття ступеня доктора філософії
зі спеціальності 101 «Екологія»

Актуальність теми дисертації. Чорне море є екосистемою напівзакритого типу, що перебуває під впливом значного річкового стоку з дренажного басейну, який охоплює регіони із сільськогосподарською та промисловою активністю. Це зумовлює присутність антропогенного тиску на дану екосистему через, зокрема, надходження поллютантів та евтрофікацію. Збройна агресія російської федерації поглибила проблему негативного впливу людської діяльності на Чорне море через надходження компонентів ракетного палива, нафтопродуктів та руйнування очисної інфраструктури на річках, що впадають у Чорне море. Через руйнування дамби Каховської ГЕС до акваторії Чорного моря надійшла велика маса прісної води, забрудненою ксенобіотиками та органікою.

Нині проведення масштабної екологічної оцінки стану Чорного моря є неможливим через ведення активних бойових дій. Тим більш цінною є інформація щодо екологічного стану Чорного моря. У дисертації наведено детальну оцінку стану мікробних угруповань Чорного моря до повномасштабного вторгнення, що є важливим з точки зору використання для порівняльного аналізу у майбутньому з метою оцінки впливу воєнних дій на екосистему.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційне дослідження виконано М. О. Павловською особисто під керівництвом кандидата біологічних наук Л. І. Соломенко та доктора біологічних наук А. В. Клепко, у співпраці із Національним антарктичним науковим центром (Київ, Україна) та Українським науковим центром екології моря (Одеса, Україна).

Дослідження є частиною масштабної екологічної оцінки стану Чорного моря, виконаної в рамках міжнародних проєктів ЕМБЛАС-II (EMBLAS II – Environmental Monitoring in the Black Sea) та ЕМБЛАС+ (EMBLAS-Plus – «Improving Environmental Monitoring in the Black Sea – Selected Measures») за підтримки ПРООН. Здобувачка є Експертом з біорізноманіття (Biodiversity Expert) у проєкті EU4EMBLAS (European Union for Improving Environmental Monitoring in the Black Sea), що присвячено вдосконалення моніторингу Чорного моря.

Матеріали дисертації є складовою частиною робіт, виконаних в рамках проєкту «Екологічна оцінка впливу ксенобіотиків на біологічні системи водного середовища» (номер державної реєстрації 0120U101299).

Нині здобувачка є Експертом з біорізноманіття (Biodiversity Expert) у проєкті EU4EMBLAS (European Union for Improving Environmental Monitoring in the Black Sea), що присвячено вдосконаленню моніторингу Чорного моря.

Наукова новизна роботи полягає у проведенні масштабної оцінки таксономічної та функціональної структури угруповань мікроорганізмів Чорного моря в районі шельфових та відкритих вод на різних глибинах, що охоплюють градієнт параметрів навколишнього середовища. Вперше встановлено закономірності розподілу бактеріопланктону та визначено фактори, що несуть найбільш істотний вплив на це.

Досліджено екологічну роль мікроорганізмів вод та донних осадів Чорного моря у процесах розкладу ксенобіотиків. Вперше для Чорного моря визначено потенційну та реалізовану активність представників угруповань бактеріопланктону у процесах біотрансформації поллютантів різного походження.

Дисертаційне дослідження суттєво доповнює існуючі дані щодо перенесення генів стійкості до антибіотиків мікроорганізмами Чорного моря та їх розподілу у різних районах акваторії.

Вперше випробувано методи екологічної оцінки Чорного моря за метагеномними даними щодо структури угруповань мікроорганізмів. Розраховано відповідні індекси для вод та донних осадів. Проведено оцінку перспективності використання даного підходу.

Теоретичне та практичне значення одержаних результатів. Результати даного дисертаційного дослідження істотно доповнюють наявні відомості щодо таксономічної та функціональної структури угруповань мікроорганізмів вод та донних осадів Чорного моря. Отримані дані можуть бути використані як підґрунтя для розроблення методів екологічної оцінки середовища Чорного моря.

Було встановлено роль мікроорганізмів у розкладі політантів та у перенесенні генів стійкості до антибіотиків. Виявлено присутність екологічної проблеми поширення антибіотикорезистентності в угрупованнях бактеріопланктону прибережних та відкритих вод та запропоновано використання копійності генів стійкості до антибіотиків у якості додаткового індикатора оцінки екологічного стану середовища. Варто зазначити, що гени антибіотикорезистентності трактуються, як політанти у сучасних екологічних дослідженнях і застосування даного показника у моніторингу вод розглядається у ЄС.

Важливим практичним аспектом дисертаційного дослідження М. О. Павловської є експериментальний розрахунок індексів екологічного стану середовища Чорного моря на основі метагеномних даних. Отримані дані свідчать, що розрахунок даних індексів є перспективним інструментом для оцінки дескрипторів екологічного стану вод та донних осадів Чорного моря, однак потребує подальшого дослідження.

Результати роботи є перспективним з точки зору використання у навчальних програмах підготовки фахівців у галузі екології та оцінки стану навколишнього середовища.

Структура роботи, обґрунтованість та достовірність результатів досліджень, заключень та висновків дисертанти. Дисертація складається із анотації, вступу, чотирьох розділів, висновків, додатків, списку використаних джерел. Загальний обсяг роботи становить 202 сторінки, додатки складають 20 сторінок. Дисертацію ілюстровано 15 таблицями та 36 рисунками. У списку використаних джерел 287 найменувань, з них 286 – латиницею.

У Розділі 1 викладено огляд сучасного стану екосистеми Чорного моря, поточних екологічних проблем регіону, наведено відомості щодо дослідження угруповань мікроорганізмів, їх ролі у розкладі політантів та перенесенні генів стійкості до антибіотиків. Крім того, викладено сучасний погляд на методи оцінки екологічного стану середовища Чорного моря у відповідності до Рамкової Директиви про морську стратегію ЄС та надано дані щодо експериментального використання даних метагеномного аналізу в екологічній оцінці водного середовища.

Узагальнені літературні дані підкреслюють актуальність обраної тематики дослідження.

У Розділі 2 викладено методи польового відбору, молекулярного, біоінформатичного та статистичного аналізу. Описано використані методи екстракції ДНК та РНК з клітин мікроорганізмів, сиквенування ампліконів, кількісної та якісної ПЛР в реальному часі. Обґрунтовано вибір праймерів для оцінки участі мікробних угруповань у розкладі забруднюючих речовин та перенесенні генів стійкості до антибіотиків.

За результатами роботи дисертанткою запропоновано оптимізовані протоколи молекулярно-генетичного аналізу мікроорганізмів вод та донних осадів Чорного моря.

Розділ 3 присвячено аналізу структури, розподілу та екологічної функції мікроорганізмів Чорного моря. У першій частині наведено результати досліджень таксономічної та функціональної структури угруповань мікроорганізмів вод та донних осадів Чорного моря. Показано, що структура досліджуваних угруповань змінюється із глибиною у відповідності із вертикальним градієнтом параметрів навколишнього середовища. Так, для насичених киснем поверхневих вод було характерне домінування гетеротрофних представників бактеріопланктону, що беруть участь у розкладі ескудатів фітопланктону, а з глибиною зростала роль таксономічних груп здатних до відновлення сульфатів та ферментації. Крім того, було показано присутність географічної диференціації бактеріопланктону між шельфовою зоною та відкритими водами.

У другій частині Розділу 3 розглядається роль мікроорганізмів Чорного моря у розкладі забруднюючих речовин. Показано присутність у таксономічній структурі груп, представники яких мають попередньо експериментально встановлену здатність до розкладу полютантів. Також методом ПЛР в реальному часі встановлено присутність та транскрипцію генів, що кодують різні етапи розкладу ксенобіотиків – поліароматичних вуглеводнів, хлорорганічних сполук та поліфторбіфенілів. Таким чином, встановлено присутність потенційної та реалізованої активності щодо розкладу забруднюючих речовин в угрупованнях мікроорганізмів вод та донних осадів Чорного моря.

Третю частину Розділу 3 присвячено оцінці ролі угруповань мікроорганізмів у перенесенні генів стійкості до антибіотиків. У водах Чорного моря виявлено гени стійкості до бета-лактамів, глікопептидів, макролідів та колістину. Встановлено присутність достовірної різниці у копійності генів стійкості до антибіотиків між прибережними та відкритими водами. Дослідження ілюструє присутність проблеми стійкості до антибіотиків у чорноморському регіоні, а отже даний параметр має підлягати моніторингу.

У Розділі 4 висвітлено можливість використання отриманих в рамках димертаційного дослідження метагеномних даних, в екологічній оцінці Чорного моря. Розраховано експериментальні індекси екологічного стану вод та донних осадів Чорного моря та проведено порівняння даного підходу із оцінкою екологічного стану за хімічними даними. Визначено мікробні таксони, що можуть слугувати потенційними індикаторами екологічного стану водного середовища.

Апробація результатів досліджень, повнота їх викладення в опублікованих працях, достовірність і обґрунтованість наукових положень, висновків, рекомендацій. Результати дисертаційного дослідження було представлено на VII Міжнародній науково-практичній конференції студентів, аспірантів і молодих вчених «Екологія – філософія існування людства», на міжнародних конференціях «Protection of the Black Sea ecosystem and the sustainable management of maritime activities» та «World Microbe Forum, American Society for Microbiology (ASM)», «Federation of European Microbiological Societies (FEMS)».

Основний зміст дисертації опубліковано в 13 наукових працях, з яких 3 статті у наукових фахових виданнях України, 6 статей у наукових виданнях інших держав (5 з яких включено до міжнародних наукометричних баз даних), 3 тези та матеріалів конференції, розділ у фінальному звіті міжнародного проєкту ЕМБЛАС щодо екологічного стану Чорного моря.

Наукові дослідження та висновки є обґрунтованими, базуються на великій кількості матеріалу, адекватних експериментах та сучасних методах. Результати опрацьовано методами статистичного аналізу, їх інтерпретація є достовірною.

Оцінюючи позитивно дисертацію М. О. Павловської вважаємо за необхідне висловити деякі ***зауваження та дискусійні питання:***

1. У Вашому дослідженні враховано фактор регіональних відмінностей у таксономічній структурі угруповань мікроорганізмів. А наскільки вагомими, на Вашу думку, можуть бути сезонні коливання?

2. Функціональний аналіз угруповань бактеріопланктону проведено із застосуванням непрямого методу оцінки PICRUST. На нашу думку, варто було б повніше висвітлити обмеження даного підходу.

3. У частині дослідження, що стосується участі мікроорганізмів у процесах розкладу ксенобіотиків, реалізована та потенційна активність бактерій співвідноситься із концентрацією забруднюючих речовин. Проте під час аналізу поширеності генів стійкості до антибіотиків не проаналізовано вміст антимікробних речовин у воді. Чи наявні такі дані?

4. Варто було б детальніше обґрунтувати вибір генів стійкості до антибіотиків.

5. Чи спостерігався у Вашому дослідженні зв'язок між поширеністю генів антибіотикорезистентності та структурою мікробних угруповань?

Відзначені недоліки жодним чином не знижують загальної позитивної оцінки дисертації, а поставлені запитання носять уточнюючий та дискусійний характер.

Висновок. Дисертація відповідає вимогам Порядку підготовки здобувачів вищої освіти ступеня доктора філософії та доктора наук у закладах вищої освіти (наукових установах), затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 23 березня 2016 року № 261 (із змінами, внесеними згідно з Постановами Кабінету Міністрів України № 283 від 03.04.2019 р. та № 502 від 19.05.2023 р.), наказу МОН України № 40 від 12 січня 2017 року «Про затвердження Вимог до оформлення дисертації» (із змінами, внесеними згідно з Наказом Міністерства освіти і науки України № 759 від 31.05.2019 р.) і Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії, затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 12 січня 2022 року № 44 (із змінами, внесеними згідно з Постановами Кабінету Міністрів України № 341 від 21.03.2022 р. та № 502 від 19.05.2023 р.), а її автор М. О. Павловська заслуговує на присудження ступеня доктора філософії за спеціальністю 101 «Екологія» галузі знань 10 «Природничі науки».

Офіційний опонент
директор Інституту гідробіології НАН України,
доктор біологічних наук, професор,
член-кореспондент НАН України



Сергій АФАНАСЬЄВ