

РЕЦЕНЗІЯ

доцента кафедри екології агросфери та екологічного контролю
Національного університету біоресурсів і природокористування України,
кандидата педагогічних наук, доцента **СТРОКАЛЬ Віти Петрівни**
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»
галузі знань 10 «Природничі науки»

Актуальність теми дисертаційного дослідження. Дисертація Павловської Марії Олексіївни присвячена дослідженню мікробних угруповань водного стовпа та донних осадів Чорного моря та аналізу можливості використання отриманих даних в екологічній оцінці середовища.

У країнах ЄС сучасна екологічна оцінка морського середовища базується на дискрипторах, визначених Рамковою Директивою про морську стратегію. У відповідь на потребу гармонізації національного морського моніторингу із вимогами ЄС Україною було прийнято Морську природоохоронну стратегію, згідно з якою регулярна екологічна оцінка Чорного моря є пріоритетом для регулювання та планування природоохоронної діяльності в чорноморському регіоні. У зв'язку з воєнними діями повноцінний моніторинг морського середовища наразі є неможливим, однак уже зараз важливо планувати майбутні заходи в цьому напрямі й удосконалювати методи та протоколи оцінки стану Чорного моря.

Нині біологічний блок дискрипторів стану морського середовища включає показники угруповань фіто- та зоопланктону, фіто- та зообентосу, риб та морських ссавців. Проте у країнах ЄС вже певний час ведуться дискусії щодо можливості ширшого використання даних щодо мікробних угруповань у морському моніторингу. Таксономічні та функціональні показники угруповань мікроорганізмів можуть бути застосовані в оцінці за наступними дискрипторами: Біорізноманіття, Харчові ланцюги, Евтрофікація, стан морського дна, Забруднюючі речовини. На користь використання угруповань мікроорганізмів в екологічній оцінці стану морського середовища свідчить їх чутливість до антропогенних змін, що виявляється у зміні таксономічних та функціональних показників.

Мікробні угруповання Чорного моря неодноразово ставали об'єктом досліджень, що стосувалися окремих таксономічних груп. Однак, масштабна оцінка таксономічного та функціонального різноманіття даних угруповань в межах різних географічних зон та глибин проведена вперше в рамках дисертаційного дослідження М. О. Павловської. Отримані результати дозволили вперше провести розрахунки індексу екологічного стану середовища Чорного моря за складом бактеріопланктону та мікроорганізмів донних осадів.

Крім того, М. О. Павловською розроблено та валідовано протоколи метагеномного аналізу мікробних угруповань Чорного моря, що можуть бути застосовані у майбутньому під час оцінки екологічного стану Чорного моря та наслідків воєнних дій для даної екосистеми.

Таким чином, актуальність дисертаційного дослідження М. О. Павловської полягає у потребі гармонізації та осучаснення методів екологічного оцінювання морських екосистем в Україні та необхідності визначити та зафіксувати базовий стан мікробних угруповань до повномасштабних воєнних дій у чорноморському регіоні.

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій сформульованих у дисертації. Дисертація М. О. Павловської містить нові результати щодо таксономічного та функціонального різноманіття угруповань мікроорганізмів водного стовпа та донних осадів Чорного моря. Зокрема, вперше проведено масштабну оцінку різноманіття в межах шельфу та відкритих вод, а також в межах різних зон стратифікованого водного стовпа, виявлено закономірності розподілу мікробних угруповань та ключові фактори, що його визначають. Вперше проведено оцінку потенційної та реалізованої активності мікроорганізмів щодо розкладу забруднюючих речовин у воді та донних осадах Чорного моря методом ПЛР у реальному часі. А також, суттєво доповнено дані щодо ролі мікроорганізмів у перенесенні та поширенні генів антибіотикорезистентності, що наразі розглядаються, як полютанти середовища. У даному дисертаційному дослідженні вперше розраховано експериментальні індекси оцінки екологічного стану середовища з таксономічним складом мікробних угруповань. На основі наявних методик, що застосовуються в країнах ЄС, М. О. Павловською укладено та валідовано протоколи застосування метагеномного аналізу угруповань мікроорганізмів для використання у моніторингу Чорного моря. Таким чином, дисертація М. О. Павловської є першим прикладом застосування даних метагеномного аналізу угруповань мікроорганізмів для оцінки екологічного стану Чорного моря.

Всі результати достовірні та належним чином науково обґрунтовані. Застосовано сучасні методи, що показали свою ефективність у попередніх дослідженнях інших авторів. Широке географічне охоплення та великий масив отриманих даних дозволили провести розрахунки та відповідні статистичні тести, якими підкріплено висновки дисертаційного дослідження.

Аналіз структури і змісту дисертації. Дисертація складається із анотації, вступу, чотирьох розділів, висновків, списку використаних джерел та додатків. 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 «**Вступі**» обґрунтовано актуальність обраної тематики в контексті гармонізації практики морського моніторингу України із такими, що застосовуються у ЄС. Наведено зв'язок із поточними проєктами в галузі, сформульовано мету та завдання дослідження, подано короткий огляд застосованих методів. Також наведено відомості щодо наукової новизни, ступеню апробації результатів дослідження та публікацій.

У першому розділі «**Огляд літератури**» детально проаналізовано сучасні екологічні проблеми Чорного моря, наведено інформацію щодо надходження до даної екосистеми ксенобіотиків. Також розглянуто попередні дослідження мікроорганізмів Чорного моря. Проаналізовано дослідження перспектив використання мікробних угруповань у розрахунку індексів екологічного стану морського середовища у відповідності до вимог Рамкової директиви про морську стратегію ЄС.

У другому розділі «**Матеріали та методи досліджень**» викладено схему роботи, карти із розташуванням точок відбору води та донних осадів. Наведено протоколи екстракції ДНК та РНК мікроорганізмів води та донних осадів, протоколи та термічні профілі ПЛР та секвенування. Викладено список генів для оцінки участі угруповань мікроорганізмів у процесах біотрансформації ксенобіотиків та у поширенні явища антибіотикорезистентності та аргументовано їх вибір. Описано всі біоінформатичні та статистичні методи – тест Шапіро-Уїлка на нормальність розподілу, непараметричний тест Краскела-Уолліса, параметричний дисперсійний аналіз (ANOVA), t-критерій та критерій Уїлкоксона тощо.

Третій розділ «**Аналіз структури, розподілу та екологічної функції мікроорганізмів Чорного моря**» поділено на три логічні частини. У першій частині наведено аналіз таксономічного та функціонального різноманіття угруповань бактеріопланктону Чорного моря у відповідності до вертикальної стратифікації водного стовпа та горизонтальної диференціації (від шельфу до відкритих вод). Павловською М. О. проведено кореляційний аналіз з метою визначення таксономічних кластерів мікроорганізмів із подібною екологічною нішею, та для оцінки впливу факторів середовища на формування функціональної структури досліджуваного угруповання. Друга частина третього розділу присвячена потенційній та реалізованій активності мікроорганізмів водного стовпа та донних осадів Чорного моря щодо розкладу політантів, які надходять у морське середовище разом із річковим стоком. Для оцінки активності мікроорганізмів щодо біотрансформації ПАВ, біфенілів та хлороорганічних сполук застосовано ПЛР у реальному часі. Показники копійності та транскрипції обраних генів співставлено з концентрацією відповідних забруднюючих речовин у воді та донних осадах на момент відбору. У третій частині проведено оцінку ролі угруповань мікроорганізмів у перенесенні та поширенні генів стійкості до антибіотиків, що вважаються політантами. Оцінено копійність генів, що кодують стійкість антибіотиків першої лінії та крайнього вибору – бета-лактамів, макролідів, глікопептидів та колістину.

Проведено аналіз географічного поширення генів антибіотикорезистентності і достовірно показано їх вищу копійність в межах шельфових вод. Копійність генів стійкості до антибіотиків пропонується включити, як додатковий параметр до національного морського моніторингу в Україні.

У четвертому розділі **«Використання даних метагеномного аналізу угруповань мікроорганізмів Чорного моря для оцінки екологічного стану середовища»** наведено синтез отриманих даних із аналізом можливостей їх застосування в оцінці екологічного стану Чорного моря. На основі таксономічних даних розраховано індекс екологічного стану морського середовища для вод та донних осадів. Проведено порівняння даного індексу із показником, що розраховується на основі хімічних параметрів. Визначено таксономічні групи мікроорганізмів, що потенційно можуть використовуватися в екологічній оцінці стану Чорного моря під час подальшого моніторингу.

Висновки наведені в дисертації М. О. Павловської є вичерпними та чітко систематизують отримані результати. Достовірність висновків забезпечена широким географічними охопленням, великим масивом даних, повторностями та застосуванням адекватних методів статистичного аналізу.

Значення одержаних результатів для науки й практики та рекомендацій щодо їх можливого використання. Отримані М. О. Павловською результати можуть бути використані, як в удосконаленні методів моніторингу Чорного моря, так і в науково-педагогічній діяльності. Протоколи відбору бактеріопланктону та подальшого метагеномного аналізу доцільно використовувати під час майбутніх досліджень угруповань мікроорганізмів Чорного моря. Павловською М. О. показано, що мікробні угруповання можуть бути використані для оцінки екологічного стану Чорного моря за дискрипторами Рамкової Директиви про морську стратегію ЄС. Проведено експериментальні розрахунки індексів екологічного стану навколишнього середовища та запропоновано індикаторні параметри, що в перспективі можуть бути використані для удосконалення національної системи морського моніторингу. Результати, отримані в рамках виконання дисертаційного дослідження доцільно використовувати у ЗВО для підготовки екологів у навчальних курсах: «Моніторинг довкілля» (ОС «Бакалавр»), «Агроекологічний контроль та управління» (ОС «Магістр»).

Повнота викладення матеріалів дослідження в опублікованих працях. За результатами дисертаційного дослідження опубліковано 13 наукових праць, 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 матеріали конференції, розділ у фінальному звіті міжнародного проєкту ЕМБЛАС щодо екологічного стану Чорного моря.

Відсутність (наявність) порушення академічної доброчесності. У наукових публікаціях та дисертації М. О. Павловської не виявлено порушень академічної доброчесності.

Питання для дискусійного обговорення та недоліки дисертації щодо її змісту та оформлення. Оцінюючи позитивно дисертацію М. О. Павловської вважаємо за потрібне винести на обговорення наступні питання:

1. У частині Розділу 3, що присвячена активності мікроорганізмів Чорного моря щодо розкладу ксенобіотиків, аналіз проводиться для поверхневих вод, зони максимуму хлорофілу та кисневого мінімуму. Чому до аналізу не було включено мікробіоту безкисневої сірководневої зони?

2. У частині Розділу 3, що стосується перенесення генів стійкості до антибіотиків угрупованнями бактеріопланктону показано присутність кореляції між корисністю генів антибіотикорезистентності та маркерами фекального забруднення від жуйних тварин. Яка, на Вашу думку, причина відсутності достовірного зв'язку між поширеністю стійкості до антибіотиків та чисельністю *Bacteroidetes* людини у середовищі?

3. Чому у Розділі 4 індекс екологічної оцінки середовища за мікробними угрупованнями розраховано лише для поверхневих вод? На майбутнє було б цікаво провести подібні розрахунки для різних шарів водного стовпа, враховуючи гетерогенність умов середовища.

4. В чому, на Вашу думку, причина розбіжностей у визначенні екологічного стану водного середовища за індексами microGAMBI, M-AMBI та індексом хімічного забруднення Pi? Як можна трактувати ці відмінності і яким індексом варто керуватися?

Озвучені зауваження та питання не применшують загальної позитивної оцінки роботи М. О. Павловської і є радше побажаннями для майбутнього розвитку досліджень авторки.

Загальний висновок. Вважаю, що дисертація М. О. Павловської на тему: «Процеси самовідновлення екосистеми Чорного моря за дії ксенобіотиків різного походження» є завершеною науковою працею, яка містить низку нових, актуальних та достовірних результатів, що свідчать про її складність, систематичність та важливе значення для сфери природничих наук.

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 Павловська Марія Олексіївна заслуговує на присудження ступеня доктора філософії за спеціальністю 101 «Екологія» галузі знань 10 «Природничі науки».

Рецензент
доцент кафедри екології агросфери
та екологічного контролю
Національного університету біоресурсів
і природокористування України,
кандидат педагогічних наук,
доцент

Віта СТРОКАЛЬ

