

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертацію **ПАВЛОВСЬКОЇ Марії Олексіївни**
на тему: **«Процеси самовідновлення екосистеми Чорного моря
за дії ксенобіотиків різного походження»,**
представлену до захисту на здобуття ступеня доктора філософії
зі спеціальності 101 «Екологія»
галузі знань 10 «Природничі науки»

Актуальність обраної теми та зв'язок з науковими програмами

Ксенобіотики є чужорідними для екосистеми хімічними речовинами, які не беруть участі у природних циклах обігу речовин, відповідно накопичуються у зовнішньому середовищі. Зазвичай, це речовини, які з'являються в екосистемі внаслідок людської діяльності. Мікробіота є власне тим компонентом, який здатний до утилізації цієї групи речовин, зокрема в морських екосистемах. Тому необхідно комплексне дослідження структури та функції угруповань мікроорганізмів водної товщі та донних осадів Чорного моря. Наукова праця пані Марії Павловської присвячена вивченню відповіді мікробних угруповань Чорного моря на забруднення ксенобіотиками, а також їх роль у перенесенні генів стійкості до антибіотиків у водному середовищі.

Авторкою вперше для Чорного моря було проведено масштабний аналіз таксономічного, функціонального складу та розподілу угруповань мікроорганізмів методами метагеномного аналізу у різних регіонах. У результаті проведених авторкою досліджень виявлено, що таксономічний і функціональний склад угруповань мікроорганізмів Чорного моря змінюється із вертикальною стратифікацією водного стовпа у відповідності до градієнту фізико-хімічних умов середовища.

Метою роботи було дослідити розподіл екологічних ніш мікроорганізмів, визначити їх роль у процесах самовідновлення морської екосистеми та оцінити можливість використання наведених даних у екологічній оцінці Чорного моря.

Об'єкт дослідження – зміна структури угруповань мікроорганізмів Чорного моря під впливом градієнту фізико-хімічних умов та антропогенного навантаження.

Предмет дослідження – таксономічна та функціональна структура мікроорганізмів водної екосистеми Чорного моря та їх роль у процесах розкладу ксенобіотиків та перенесення генів антибіотикорезистентності.

Пані Марією Павловською було розроблено рекомендації щодо використання мікроорганізмів задля оцінки екологічного стану морської екосистеми згідно Рамкової Директиви про морську стратегію ЄС та Морської природоохоронної стратегії України. Рекомендується застосування індексу microgAMBI для оцінки екологічного стану середовища Чорного моря та для інших водних об'єктів, задля подальшої валідації цього методу.

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків та рекомендацій, сформульованих у дисертації, та їх достовірність

Враховуючи великий масив обробленого первинного матеріалу, а також проведений аналіз, наукові положення, представлені у дисертації Марії Павловської безумовно обґрунтовані. Мета та завдання логічно пов'язані між собою, а практична частина роботи виконана з використанням сучасних методів дослідження і враховуючи сучасні європейські підходи. Висновки цілком відображують суть проведених досліджень та відповідають поставленим завданням.

Наукова новизна положень, результатів та висновків дисертації

Авторкою вперше встановлено, що в угрупованнях бактеріопланктону Чорного моря спостерігається вертикальна диференціація у відповідності до зміни фізико-хімічних умов середовища. Виявлено присутність вертикальної (географічної) диференціації у досліджуваних угрупованнях мікроорганізмів. Знайдено, що у досліджуваних угрупованнях бактеріопланктону існують гени стійкості до антибіотиків, зокрема бета-лактамів, макролідів, глікопептидів та колістину. Виділено категорії стану вод Чорного моря за індексом microgAMBI. Знайдено кореляції між часткою Actinomycetales, Halomonadaceae та Shewanella в угрупованнях бактеріопланктону та гіршим екологічним станом вод. Уперше проведено аналіз закономірностей вертикального та горизонтального розподілу угруповань мікроорганізмів в межах

стратифікованого водного стовпа в різних ділянках акваторії Чорного моря. Проведено дослідження копійності генів розкладу ксенобіотиків в мікробному угрупованні води та донних осадів Чорного моря, аналіз експресії генів розкладу ксенобіотиків в мікробному угрупованні води та донних осадів Чорного моря, розраховано індекси microgAMBI та P_i для Чорного моря.

Авторкою вперше розроблено методологічні рекомендації щодо метагеномного аналізу некультивованих мікроорганізмів Чорного моря. Було удосконалено відомості щодо таксономічного та функціонального складу мікробних угруповань водної екосистеми Чорного моря і суттєво доповнено дані щодо поширення антибіотикорезистентності в угрупованнях мікроорганізмів акваторії Чорного моря. Розроблено методологічні протоколи метагеномного аналізу для оцінки біорізноманіття екосистеми Чорного моря в контексті оцінки екологічного стану водного середовища.

Практичне значення отриманих результатів

Отримані пані Марією результати дають можливість для подальшого розроблення методів оцінки стану навколишнього середовища. Було запропоновано подальші шляхи моніторингу поширення антибіотикорезистентності в акваторії Чорного моря та дослідження джерел даного феномену. На основі мікробних даних розраховано індекси екологічного стану вод і донних осадів Чорного моря. Проведено оцінку доцільності використання даних метагеномного аналізу мікроорганізмів у моніторингових дослідженнях. Показано, що дані метагеномного аналізу мікроорганізмів можуть потенційно використовуватися для оцінки дескрипторів екологічного стану згідно вимог Рамкової Директиви про морську стратегію ЄС.

Запропоновано валідовані протоколи для оцінки різноманіття мікроорганізмів Чорного моря.

Повнота викладу основних результатів у наукових виданнях

Результати роботи викладено у 13 наукових працях, з яких три тези та матеріали конференцій, звіт щодо міжнародного проєкту, а також 9 наукових статей, з яких 3 – у фаховому науковому виданні України, 4 – у журналах

індексованих Scopus і WoS, а решті два – англomовні публікації у міжнародних виданнях.

Загальна характеристика роботи

Основний текст дисертації викладено на 207 сторінках. Він складається з наступних розділів: «Вступ», «Екологічні проблеми Чорного моря», «Матеріали та методи досліджень», «Аналіз структури, розподілу та екологічної функції мікроорганізмів Чорного моря», «Використання даних метагеномного аналізу угруповань мікроорганізмів чорного моря для оцінки екологічного стану середовища», «Висновки», «Практичні рекомендації» і «Список використаних джерел». Також, робота містить 10 додатків, викладених на додаткових 20 сторінках. Список використаних джерел містить 287 посилань. Робота містить 15 таблиць і 36 рисунків. Структура роботи в цілому відповідає загальній схемі побудови дисертацій на здобуття ступеня доктора філософії.

Вступ. В цьому розділі логічно сформульовано та обґрунтовано актуальність обраної теми, визначено мету, завдання, об'єкт і предмет дослідження. Також, чітко описано наукову новизну і значення дисертації, її обсяг і структуру.

Екологічні проблеми Чорного моря. Приведено океанографічну характеристику специфіки Чорноморської екосистеми. Оглянуто сучасні екологічні проблеми Чорного моря, роботи щодо морської мікробіології, метагеномного аналізу. Пояснено різницю, яка існує у визначенні екологічного стану водної екосистеми за Водною Рамковою Директивою та за Рамковою Директивою про морську стратегію.

Матеріали та методи досліджень. В розділі описано місця відбору проб у ПЗЧМ, наведено відповідно карту. Описано методи відбору мікробіологічних проб, протоколи й методи проведення молекулярного аналізу, біоінформатичного та статистичного аналізу. Надано перелік використаних індексів для визначення екологічного стану Чорного моря на основі метагеномних даних, а також методи їх розрахунків. Наведене схематичне зображення етапів проведення дослідження мало особливе позитивне

враження – це чудова ідея технічного донесення інформації, яку я пропоную всім використовувати!

Аналіз структури, розподілу та екологічної функції мікроорганізмів Чорного моря. Це перший розділ результатів власних досліджень. Тут приведені таксономічний і функціональний склад угруповань мікроорганізмів Чорного моря, таксономічна й функціональна структура бактеріопланктону, а також диференціація угруповань бактеріопланктону. Описано роль угруповань мікроорганізмів у процесі трансформації ксенобіотиків в екосистемі Чорного моря, роль мікроорганізмів у поширенні генів антибіотикорезистентності, копійність генів антибіотикорезистентності. Описано поширеність маркерів фекального забруднення в угрупованнях мікроорганізмів Чорного моря.

Використання даних метагеномного аналізу угруповань мікроорганізмів Чорного моря для оцінки екологічного стану середовища. Це другий розділ результатів власних досліджень. Тут наведені дані розрахунків індексу тиску на навколишнє середовище для водної товщі та донних осадів Чорного моря, індексу microgAMBI для угруповань мікроорганізмів водної товщі та донних осадів. Проведено порівняння значень індексу тиску на навколишнє середовище та індексу екологічного стану microgAMBI.

Незважаючи на цілком позитивне враження від дисертації, слід навести низку **зауважень**:

1. Основне негативне враження викликає загальна неохайність у стилістиці та оформленні тексту:

- Технічні помилки, такі як наприклад: «методи мета**г**номного аналізу» (с. 3), «у волі та донних осадах» (с. 7), «чорномос**р**ького басейну» (с. 25). У «Змісті» назва Розділу 4 розбита, із двома посиланнями на сторінку 148 для кожної з частин (див. с. 23). «Чорне море» написано з маленької літери (с. 101).

- Тотальне ігнорування правила милозвучності. Так, тільки в анотації «та» використано замість «і» 5 разів (с. 5, 6, 8), а «і» замість «та» – один раз (с. 8). Далі за текстом ці помилки рясніють, тому не бачу сенсу наводити детально.

- Резюме англійською бажано було б вчитати англомовним колегам, на наявність помилок, які там присутні. Англійська є аналітичною мовою, натомість, викладений авторкою текст рясніє повторами, що банально «ріже вуха». Іноді ці повтори не пов'язані із аналітичним топом мови, а скоріш із неухважністю. Так, друге і третє речення починаються із одного і того ж слова, additionally.

- Список робіт, опублікованих за темою роботи, так само як і список джерел, оформлені без дотримання певного стилю. Зовні більш-менш перелік відповідає Гарвардському стилю для природничих наук, але є ціла низка невідповідностей. Те саме стосується цитат в тексті. Теоретично, слід було б у Вступі, в пункті «Структура та обсяг дисертації» вказати, якого стилю дотримувався автор, із посиланням на відповідне джерело.

- Розділ 1, та його підрозділ 1.1. мають спільну назву – «Екологічні проблеми Чорного моря».

- Порушена нумерація рисунків – Рис. 2.6 йде одразу після 2.4. Посилання на Рис. 2.6 (мав би бути 2.5!) відсутнє в тексті.

- Порушена нумерація переліку літератури – відсутнє джерело № 133, таким чином останнє джерело має № 287, хоча на справді перелік містить 286 джерел.

2. Вказано, що Чорне море сполучене із Середземним морем через канал Босфор (с. 35), що не відповідає дійсності. Через Босфор воно сполучено із Мармуровим морем, а те, в свою чергу – із Середземним Дарданеллами. Відповідно Чорне сполучено із Середземним як мінімум двома протоками!

У порядку дискусії до авторки виникла низка **запитань**:

1. Вертикальні й регіональна диференціація угруповань мікроорганізмів приводиться в одному плоті (див. Рис. 3.2). Хоча подібне поєднання різних категорій може виглядати нелогічним, можливо це мало під собою якусь мету?

2. Авторка кілька разів приводить порівняння із ситуацією у Балтійським морем. Це зокрема стосується подібної частки дисиміляційного відновлення нітрату в різних шарах води (с. 93–95), а також зв'язку дисиміляційної

сульфатредукції із часткою DNRA та денітрифікації (с. 99). Це логічно, оскільки ці моря мають низьку мінералізацію й подібну стратифікацію, із безкисневою, «мертвою» зоною. Ця стратифікація більш подібна до такої в озерах. Тому логічно було б порівнювати ситуацію, яка склалася в Чорному морі, не тільки із Балтикою, а й великими озерами, такими, як наприклад, група Північноамериканських Великих озер. Чи є у Вас такі дані, і навіть якщо немає – як Ви могли б порівняти? І як це подібно на інші, «нормальні» моря, із припливами, типовою стратифікацією й мінералізацією?

3. Авторка стверджує, що аналіз таксономічного складу мікробних угруповань водної товщі та донних осадів Чорного моря свідчить про потенційну здатність мікроорганізмів до біотрансформації ксенобіотиків (с. 111). Це не викликає сумніву, але цікаво було б побачити порівняння із іншими водоймами. Чи можна теж казати про інші моря? Про великі озера?

4. Копійність, як генів розкладу ксенобіотиків, так і 16S рРНК є вищою у донних осадах, ніж у водній товщі (с. 118). Чи свідчить це про накопичення у донних осадах ксенобіотиків? В свою чергу, копійність генів стійкості до антибіотиків була високою в ПЗЧМ, що є подібним до Жовтого моря. А чому саме до Жовтого моря, як Ви можете пояснити?

5. В табл. 3.10 вказано, що за копійованістю *Bacteroidetes* людини та жуйних тварин є різниця між окремими районами моря, натомість за копійованістю *Bacteroidetes* свиней не спостерігалось різниці. Поясніть будь ласка чому?

В цілому, вказані вище граматичні та стилістичні помилки не впливають на сприйняття результатів, тим більше не принижують вагомий внесок пані Марії у знання й розуміння процесів, які відбуваються в екосистемі Чорного моря. В цілому, робота написана фаховою мовою з використанням професійної лексики, а стиль викладення матеріалу відповідає прийнятому у науковій літературі.

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

Офіційний опонент
Провідний науковий співробітник
відділу екологічної інтеграції біоциклів
ДУ «Інститут морської біології НАН України»,
доктор біологічних наук,
старший науковий співробітник

Юрій КВАЧ

Підпис Юрія Квача засвідчую,
помічник директора
ДУ «ІМБ НАН України»



Єлизавета Сафонова