

До спеціалізованої вченої ради РСВР 099
Національного університету біоресурсів
і природокористування України
Міністерства освіти і науки України
м. Київ, вул. Героїв Оборони, 15

ВІДГУК

офіційного опонента завідувачки кафедри мікробіології, сучасних біотехнологій, екології та імунології Інституту біомедичних технологій Відкритого міжнародного університету розвитку людини «Україна», доктора біологічних наук, професора **ТУГАЙ Тетяни Іванівні** на дисертацію **ВОЛКОГОНА Івана Віталійовича** на тему: «**Оцінка целюлозоруйнівної активності мікробіоти на забруднених радіонуклідами дерново-підзолистих ґрунтах**», подану на здобуття ступеня доктора філософії зі спеціальності 091 «Біологія» галузі знань 09 «Біологія»

Актуальність теми дослідження. Мікробні спільноти мають вирішальне значення для підтримки функцій екосистеми через їхню роль у циклічності, утриманні та вивільненні основних поживних речовин та вуглецю у ґрунті. Після чорнобильської катастрофи, ґрунти зони відчуження та прилеглих територій і їх мікробіота зазнають постійного впливу хронічного опромінення різної інтенсивності. Незважаючи на вирішальну екологічну роль мікроорганізмів у довкіллі, нині робіт щодо дослідження впливу хронічного опромінення на мікробіоту ґрунтів зони відчуження та територій безумовного відселення в умовах лабораторно-польових експериментів обмаль. Не з'ясованими є питання щодо впливу низько інтенсивного хронічного опромінення, яке на цих територіях є постійним антропогенним фактором вже впродовж більш ніж 30 років, на функціональну активність мікробного ценозу, ступінь його адаптованості до дії певного діапазону доз опромінення. Отримання таких даних дозволяє на їх основі зробити висновки щодо відновлюваності мікробного ценозу загалом, зокрема, процесів мінералізації, деструкції рослинних решток, збагачення ґрунту карбоном та нітрогеном, і з рештою ці дані є базою для оцінки сільськогосподарської

цінності цих ґрунтів та мають важливе соціально-економічне значення для охорони довкілля. Саме цим питанням й присвячена дисертація Івана Волкогона і саме вони визначають високий ступінь її актуальності як за фундаментальними, так і за прикладними аспектами.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертація виконана у контексті науково-дослідних робіт Національного університету біоресурсів і природокористування України. Дисертацію виконано на кафедрі загальної екології, радіобіології та безпеки життєдіяльності Національного університету біоресурсів і природокористування України в рамках науково-дослідної роботи кафедри за договором з МОН України від 20.05.2021 р. № 200/01/0489 «Целюлозоруйнуюча активність мікрофлори ґрунтів Українського Полісся в умовах радіоактивного забруднення та її участь у ґрунтоутворюючих процесах (включаючи пірогенно трансформовані ґрунти)» (номер державної реєстрації 0120U104939, 2020–2021 рр.).

Ступінь обґрунтованості та достовірності наукових положень, висновків, сформульованих у дисертації. Дисертація Івана Волкогона на тему: «Оцінка целюлозоруйнівної активності мікробіоти на забруднених радіонуклідами дерново-підзолистих ґрунтах» є закінченою кваліфікаційною роботою, в якій отримано нові наукові результати, що мають теоретичну і практичну значимість. Дослідження проведено із залученням значної кількості сучасних мікробіологічних, фізико-хімічних, газохроматографічних, радіобіологічних, біохімічних методів. Проведено ретельний статистичний аналіз отриманих результатів. Висновки роботи відповідають отриманим результатам.

Перший розділ дисертації представлено у вигляді аналізу проблематики дослідження та існуючих результатів, викладених у працях вітчизняних і зарубіжних авторів щодо характеристики дерново-підзолистих ґрунтів, ролі мікроорганізмів у розкладанні органічних решток в процесах ґрунтоутворення. Описано сучасні підходи для стандартизованого визначення інтенсивності розкладання рослинної мортмаси за методом Tea Bag Index (TBI), роль мікроорганізмів в утворенні органічної ґрунтової речовини. Наведено аналіз

реакції мікроорганізмів на дію іонізуючої радіації, дані щодо їх як радіостійкості, так і радіаційного гормезису та механізмів, які забезпечують такі реакції-відповіді на дію опромінення. Надано аналіз небагаточисленних даних моніторингу наслідків впливу на мікро- та мікобіоту ґрунту чорнобильської зони відчуження радіонуклідного забруднення територій, спричиненого аварією на Чорнобильській АЕС.

У *другому розділі* дисертації представлено детальний опис радіологічного обстеження територій для обрання дослідних полігонів (майданчиків), методу Tea Bag Index (ТВІ), регламентованих ДСТУ методів для встановлення агрохімічних характеристик ґрунту експериментальних полігонів, мікробіологічних, фізико-хімічних та біохімічних методів визначення у ґрунті чисельності представників окремих еколого-трофічних груп мікроорганізмів, загальної біологічної активності ґрунту, визначення ферментативної активності у ґрунті гідролаз (целюлази, протеази) і оксидоредуктаз (каталази, поліфенолоксидази). Отримані результати досліджень опрацьовували статистично. Отже, для вирішення поставлених завдань було застосовано низку сучасних методів. Обрана методологія є сучасною і цілком адекватною поставленим меті і завданням.

Результати власних досліджень містять основні результати роботи та висвітлені у розділах 3–7.

У *третьому розділі* роботи сфокусовано увагу на дослідженнях реальної екологічної ситуації на майданчиках у зоні безумовного (обов'язкового) відселення та на майданчиках у зоні відчуження ЧАЕС. Представлена детальна радіологічна характеристика радіонуклідного забруднення експериментальних ділянок у зоні безумовного (обов'язкового) відселення ЧАЕС та майданчиках у зоні відчуження ЧАЕС, проведено детальний аналіз агрохімічних показників ґрунту у ділянках для потенційної закладки рослинного субстрату.

За результатами проведених автором досліджень було визначено ділянки на Полігоні № 1 у зоні безумовного (обов'язкового) відселення ЧАЕС, що характеризуються достатньо значимим градієнтом радіонуклідного забруднення та мають близькі за агрохімічними показниками характеристики

грунту. Обрані ділянки Полігону № 2 також мають схожі агрохімічні параметри ґрунту в межах полігону. Автором розраховано сумарні потужності поглиненої дози, яку отримують мікроорганізми на ділянках Народичі-1 та ЧЗВ-4, встановлено, що вони відрізняється більш, ніж у 420 разів, що дає підстави для оцінки досліджуваних параметрів стану мікробіоти ґрунтів в залежності від потужності поглиненої дози.

Четвертий розділ дисертації присвячено дослідженням особливостей целюлозоруйнівної активності ґрунтової мікробіоти за показниками ТВІ-індексу. Встановлено, що біологічна активність ґрунтів залежала від рівня забруднення радіонуклідами. Автором встановлено, що за невисоких значень потужності поглинутої дози у ґрунті полігону № 1 виявлена відсутність стимуляції розкладання рослинної мортмаси, а за потужності поглиненої дози до 1,57 мкГр/год у зразках Народичі-3 виявлено стимуляцію цього процесу. Показано, що показники ТВІ-індексу не залежали від рівня забруднення радіонуклідами в діапазоні потужностей поглинутих доз від 3,7 мкГр/год до 84 мкГр/год. Автором було виявлено зниження функціональної активності мікроорганізмів на полігоні № 2, порівняно з полігоном № 1, яке пов'язується з негативним впливом певного рівня доз опромінення.

У *п'ятому розділі* представлено результати аналізу залежності розвитку ґрунтової мікробіоти від рівня радіоактивного забруднення. Автором показано, що невисокі рівні радіоактивного забруднення сприяли активізації розвитку мікроорганізмів. У межах Полігону № 1 накопичення мікробної біомаси було найбільшим за забруднення, що складало 1,57 мкГр/год (Народичі 3). А проведення аналізу у ґрунті Полігону № 2 свідчить про значно нижчі показники, і особливо на ділянці з найвищим рівнем забруднення, яка, крім того, зазнала пожежі кілька років тому. Автором встановлено, що чисельність мікроміцетів у ґрунті Полігону № 2 у всі строки проведення досліджень нижча за таку у ґрунті Полігону № 1. При дослідженні чисельності амоніфікувальних мікроорганізмів автором встановлено, що чисельність цієї групи представників ґрунтової мікробіоти збільшується зі зростанням рівнів радіоактивного забруднення ґрунту Полігону № 1, проте, її кількість

зменшується у ґрунті Полігону № 2, особливо у точці з найвищим рівнем забруднення.

Шостий розділ присвячено дослідженню біологічної активності ґрунту в залежності від рівня радіоактивного забруднення. Автором при дослідженні азотфіксувальної активності у ґрунті Полігону № 1 виявлено певну закономірність – її зростання при збільшенні радіоактивного навантаження, а саме показники на ділянці Народичі-3, вищі у 3,6–3,9 раза від значень у точках Народичі-1 і Народичі-2. В межах Полігону № 2 діяльність азотфіксувальних бактерій зменшувалася по мірі зростання радіаційного навантаження і в точці ЧЗВ-4 сягала найменшого рівня.

При дослідженні целюлазної активності автором показано, що у ґрунті Полігону № 1 активність целюлази зростає зі збільшенням поглиненої мікроорганізмами дози радіації і є найбільшою у точці Народичі-3. Виявлено, що на полігоні № 2 на активність целюлази не впливають зміни потужності поглинутої дози в діапазоні від 3,7 до 61,6 мкГр/год, а доза в 84 мкГр/год призводить до пригнічення активності, це може свідчити про певний діапазон, в якому реалізується резистентність ферментів. Активність каталази також була суттєво вищою у ґрунті Полігону № 1, якщо порівнювати з Полігоном № 2. Найвищі показники каталазної активності виявлено автором у всі строки проведення досліджень у точці Народичі-3. Найнижчі значення активності ферменту отримано у точці ЧЗВ-4.

У *сьомому розділі* роботи наведено аналіз літератури, присвяченої вивченню впливу як гострого та хронічного опромінення на мікробіологічні об'єкти, проаналізовано дані, отримані дослідниками у перші роки та десятиріччя після чорнобильської катастрофи. Автором наведено узагальнення та обговорення отриманих результатів, умови, що складаються у ґрунті, наголошено, що ділянка Народичі-3, є більш сприятливою порівняно з іншими ділянками для розвитку як деструкторів рослинної мортмаси, так і для мікроорганізмів-представників інших еколого-трофічних груп.

Висновки дисертаційного дослідження ґрунтуються на значному фактичному матеріалі і грамотному статистичному аналізі отриманих даних, тому їх достовірність не викликає сумнівів.

Наукова новизна положень, результатів та висновків дисертації.

Наукова новизна дисертаційного дослідження Івана Волкогона чітко представлена як на рівні визначення мети і завдань роботи, так і при формулюванні висновків.

Розширено існуючі уявлення щодо віддалених наслідків впливу хронічного опромінення на функціональну активність мікробіоти у дерново-підзолистих ґрунтах Українського Полісся через більш ніж 35 років після аварії на Чорнобильській АЕС. Вперше показано, що відносно невисокі дози іонізуючої радіації (до 1,6 мкГр/год) не пригнічують розвиток мікроорганізмів і активність процесів мінералізації органічної речовини у ґрунті. Виявлено стимулюючий вплив відносно низького опромінення (за потужністю поглинутої дози) на кількісний склад різних еколого-трофічних груп мікроорганізмів, а саме азотфіксаторів, денітрифікаторів, іммобілізаторів азоту, фосфатмобілізувальних бактерій. Встановлено, що відносно високі дози опромінення (за потужністю поглинутої дози до 84 мкГр/год) пригнічують діяльність мікробіоти та інтенсивність трансформації у ґрунті рослинних решток. Показано, що основна целюлозоруйнівна активність у ґрунті притаманна мікрومیцетам.

Практичне значення результатів дисертаційного дослідження.

Одержані дані поглиблюють сучасні уявлення про стан мікробіоценозу ґрунтів за впливу різних рівнів хронічного забруднення радіонуклідами. Виходячи з того, що мікроорганізми є первинною ланкою багатьох трофічних ланцюгів, отримані у ході досліджень дані, що свідчать про активізацію ґрунтово-біологічних процесів за відносно невисоких рівнів забруднення, можуть бути використані для створення відповідної бази даних та розроблення науково-практичних рекомендацій щодо використання забруднених радіонуклідами територій Українського Полісся. Запропоновано швидкий чутливий тест при дослідженні реакції мікробіоти на радіоактивне забруднення ґрунтів

з використанням методики газохроматографічного визначення потенційної активності азотфіксації.

Повнота викладення в опублікованих працях наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації. Основні положення та висновки дисертації знайшли відображення у 13 наукових працях, з яких стаття у періодичному науковому виданні, включеному до категорії «А» Переліку наукових фахових видань України та/або у закордонному виданні, проіндексованому у базах даних Scopus та/або Web of Science Core Collection, 3 статті у наукових виданнях, включених до Переліку наукових фахових видань України, стаття у колективній монографії, 8 тез наукових доповідей.

Оформлення дисертації. Дисертація Івана Волкогона оформлена у відповідності до наказу Міністерства освіти і науки 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 травня 2019 року).

Мету та завдання роботи сформульовано чітко і лаконічно. Структура дисертації логічно побудована, а розділи і підрозділи взаємопов'язані між собою, що дозволяє послідовно розглянути проблемні питання, визначені автором. Вибрана структура дисертації дозволила автору послідовно та систематично проаналізувати широкий спектр питань щодо актуальних досліджень з вивчення віддалених наслідків впливу хронічного опромінення різної інтенсивності на фізіологічну активність мікробіоти ґрунту, чисельність основних еколого-трофічних груп. Дисертація має чітку структуру та продуману логічну концепцію.

Дотримання академічної доброчесності. Аналіз дисертації та наукових публікацій Івана Волкогона, у яких висвітлено основні наукові результати дисертації, не дає підстав констатувати допущення ним порушень академічної доброчесності (академічного плагіату, самоплагіату, фабрикації, фальсифікації). Дисертацію виконана самостійно з поетапною публікацією проміжних результатів дослідження, що відображені автором у наукових статтях, кількість і якість яких відповідає вимогам щодо публікацій. Використані ідеї, результати

та тексти публікацій інших авторів у процесі дослідження мають належні посилання на відповідні джерела.

Дискусійні положення та зауваження щодо змісту дисертації.
У процесі ознайомлення з дисертацією у порядку дискусії до автора виникли деякі зауваження і запитання:

1. У роботі бажано було б ідентифікувати мікроміцети, або принаймні описати морфологічні типи колоній залежно від градієнту поглиненої дози радіації. Це дозволило б прояснити ситуацію зі стимулюванням невисокими дозами поглиненої радіації розвитку мікроскопічних грибів, зокрема, відповісти на питання: чи змінюється при цьому склад мікобіоти ґрунту.

2. Аналогічні побажання стосуються також і прокаріотної частини угруповань мікроорганізмів.

3. При визначенні впливу радіоактивного забруднення ґрунту на розвиток фосфатмобілізаторів бажано було б не обмежуватися обліком лише бактерій, що розчиняють мінеральні сполуки фосфору. Доцільним було б також визначити чисельність мікроорганізмів, здатних мінералізувати органічні форми фосфатів.

4. При поясненні стимуляції процесів розкладання рослинної мортмаси замість припущення, що у зразках ґрунту переважають радіотолерантні види, вірогідніше було б припустити, що «сформувалася мікробіота, адаптована до дії низьких доз опромінення», яка, виходячи зі швидкості росту за роки після аварії на ЧАЕС, утворила тисячі нових генерацій.

5. У роботі бажано було б детально обговорити дані щодо коефіцієнтів мінералізації-іммобілізації азоту в ґрунті, наведені в табл. 5.6.

6. Як пояснити відсутність залежності величини азотфіксації у зразках ЧЗВ-1, ЧЗВ-2 та ЧЗВ-3 від рівня потужності поглиненої дози, який відрізняється (збільшується) у 6 та 14 разів, відповідно?

7. У роботі зустрічаються невдалі вирази, наприклад, «збудники» пептолітичного шляху біодеструкції».

Наведені вище запитання не знижують наукової цінності дисертації, оскільки вони стосуються переважно інтерпретації результатів і не впливають на загальну позитивну оцінку роботи.

Загальний висновок та оцінка дисертації. Дисертація Івана Волкогона на тему: «Оцінка целюлозоруйнівної активності мікробіоти на забруднених радіонуклідами дерново-підзолистих ґрунтах» є завершеною кваліфікаційною науковою працею, яка за актуальністю, ступенем новизни представлених результатів, їх науковою обґрунтованістю, повнотою викладення в опублікованих наукових працях, рівнем виконання автором поставленого наукового завдання та володіння методологією наукової діяльності відповідає вимогам, які висуваються до дисертацій на здобуття ступеня доктора філософії.

Дисертація відповідає галузі знань 09 «Біологія» та спеціальності 091 «Біологія», а також вимогам 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 № 44 від 12 січня 2022 року (із змінами, внесеними згідно з постановами Кабінету Міністрів України № 341 від 21 березня 2022 року, № 502 від 19 травня 2023 року та № 507 від 03 травня 2024 року), а її автор Волкогон Іван Віталійович заслуговує на присудження ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 «Біологія» галузі знань 09 «Біологія».

Офіційний опонент завідувачка кафедри мікробіології, сучасних біотехнологій, екології та імунології Інституту біомедичних технологій Відкритого міжнародного університету розвитку людини «Україна», доктор біологічних наук, професор Тетяна ТУГАЙ