

Відгук отриманий 29.12.2021
Голова спеціалізованої
вченої ради ДР 04.051.075
Молов А.І. Абраменко
а.І.

ВІДГУК

на дисертаційну роботу Березкіної Анни Євгенівни

«Популяційна структура та ресурси червоногого молюска *Nacella concinna* (Strebel, 1908) у прибережних водах Української антарктичної станції «Академік Вернадський», архіпелаг Аргентинські острови, Західна Антарктика», подану на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 – біологія

Дисертаційна робота Березкіної А. Є. є детальним дослідженням структури популяції червоногого молюска *Nacella concinna* та встановлення його таксономічного статусу в акваторії Української Антарктичної станції «Академік Вернадський». Головним напрямом цього дослідження є пошук відповіді на питання чи належать три морфотипи молюска до одного виду.

Тема дисертації є цілком актуальною у зв'язку з широким розповсюдженням *N. concinna* та значним морфологічним різноманіттям даного виду в акваторії Аргентинських островів. Знайдено не два, як зазначено з літературних джерел, а три морфотипи молюска в районі Української антарктичної станції «Академік Вернадський», що відрізняються за скульптурою раковини. Крім того помічено субпопуляції з різними розмірними класами на різноманітних підводних ландшафтах. Інформація про їхнє поширення, генетичне різноманіття та видову належність є важливим знанням, необхідним для організації ефективної охорони цих видів.

Дисертацію викладено на 217 сторінках і містить список використаних джерел на 13 сторінках, два додатки на 35 сторінках.

Вона включає вступ, чотири розділи, присвячені огляду літератури, матеріалам і методам, результатам та обговоренню, а також семи висновків. А. Є. Березкіна є автором (співавтором) п'яти наукових статей у наукових фахових виданнях України, дві з яких входять до міжнародної наукометричної бази Scopus. Вона брала участь у 16 конференціях, в тому числі міжнародних, і опублікувала відповідні тези.

У **Вступі** переконливо обґрунтовано актуальність теми дисертації та чітко сформульовано мету дисертаційного дослідження, а саме: визначення таксономічного статусу і структури популяцій представників роду *Nacella* з різних ділянок акваторії Аргентинських та прилеглих островів за морфологічними, молекулярно-генетичними та екологічними ознаками. Далі автор ставить п'ять завдань дослідження, які стосуються розподілу *N. concinna* по різних глибинах і ландшафтах на різних ділянках акваторії, вивчення морфологічних особливостей трьох морфотипів; встановленню їх систематичного положення; здійсненню реконструкції філогенетичних зв'язків *Patellogastropoda* Південної півкулі; встановленню систематичного положення моллюск-асоційованої мікробіоти та здійсненню реконструкції їх філогенетичних зв'язків.

Чітко і коректно представлено об'єкт і предмет досліджень. Характеризуються матеріал і методи досліджень. Серед новітніх методологій автор використовував молекулярний філогенетичний аналіз. Автор оволодів морфометричними, статистичними, картографічними, молекулярно-генетичними, мікробіологічними, культуральними, мікроскопічними, біохімічними методами досліджень. Робота ґрунтується на репрезентативному матеріалі. Висвітлено наукову новизну отриманих результатів. За допомогою неруйнуючого аналізу популяції антарктичного лімнета в акваторії архіпелагу Вільгема (Західна Антарктика), встановлено відсутність чітких закономірностей розподілу моллюска за глибинами, морфометричними параметрами раковини (довжина, ширина) та вагою лімнета. За допомогою філогенетичного аналізу чотирьох генів (*12S*, *16S*, *CO1*, *28S*) було визначено філогенію родини *Nacellidae*. Всі три морфотипи належать до одного виду *N. concinna*. Філогенетичні реконструкції показали близькі зв'язки *N. concinna* з нацеллідами Вогняної Землі і субантарктичних островів. Продемонстровано автохтонність нацеллід для Антарктики. Молекулярно-генетичним баркодингом за фрагментом гену *16S* показано, що асоційована мікробіота з *N. concinna* представлена протеобактеріями (*Pseudoalteromonas*, *Psychrobacter*,

Shewanella, *Cobetia*, *Psychromonas*), бактероїдами (*Bizionia*) та фірмікутами (*Oceanobacillus*).

Наведено необхідні відомості про творчий внесок здобувача в дисертаційне дослідження та друковані праці. Як я вже зауважувала, автор має достатню кількість публікацій у фахових виданнях. Надано інформацію про апробацію результатів дисертації на конференціях.

Основна частина дисертації починається з огляду літератури. Звідси ми дізнаємося про попередні дослідження в галузі систематики й еволюції нацеллід. Автор продемонстрував знання як класичних, так і сучасних літературних джерел, де обговорюються таксономічні проблеми родини Nacellidae.

Наступний розділ – «**Матеріал і методи**». Як зазначено вище, автор використав усі доступні методи дослідження для розв'язання поставлених задач, зокрема застосовано неруйнуючий метод дослідження популяції молюсків, мікробіологічні методи для вивчення бактерій у якості екологічного маркеру, обчислення ресурсів молюску в акваторії за допомогою GIS-методів тощо.

А. Є. Березкіна оволоділа ключовими стадіями молекулярного філогенетичного аналізу, починаючи з виділення геномної ДНК, полімеразної ланцюгової реакції, редагування хроматограм, вирівнювання послідовностей і, власне, філогенетичного аналізу.

Далі слідує розділ «**Результати**». Він є найголовнішою частиною роботи й містить результати дисертаційного дослідження. Перший підрозділ цього розділу «Морфометричний аналіз популяції *N. concinna*» містить детальні статистичні дані щодо морфометричних показників (ширини та довжини раковини), обчисленої ваги окремого молюска (за обчисленими формулами), щільності популяції та глибини. Даний підрозділ проілюстровано інформативними рисунками та таблицями. Розділ містить дані щодо ресурсів *N. concinna* в акваторії Української антарктичної станції «Академік Вернадський». Крім того, цей розділ містить частини, присвячені результатам філогенетичного

аналізу, який продемонстрував філогенетичні зв'язки в родині Nacellidae і виявив головні еволюційні лінії (клади) серед пателлогастропод. Автор використав різні молекулярні маркери (12S, 16S, 28S і COI), порівняв філогенетичні дерева й охарактеризував отримані угруповання за морфологічними ознаками. Крім побудови філогенетичних дерев, автор виділив чисті культури бактерій (як ймовірного екологічного маркеру), що асоційовані з *N. concinna*, дослідив морфологію клітин, деякі фізіолого-біохімічні властивості культур, жирнокислотний склад, ферментативну активність тощо. За фрагментом гену 16S автор здійснив молекулярно-генетичні дослідження антарктичних штамів. Результати мікробіологічних досліджень проілюстровано інформативними таблицями й діаграмами. Такий підхід відповідає всім сучасним вимогам дослідження, його, поза сумнівом, можна назвати інтегративним.

У розділі «Обговорення» автор формулює головні гіпотези свого дослідження. Надзвичайно важливим для визначення таксономічного статусу трьох морфотипів є комплексний підхід до розв'язання даної задачі, а саме - застосування морфометричного, молекулярно-генетичного та мікробіологічного аналізу.

Поділ популяції молюсків на літоральний та субліторальний морфотипи не підтверджений для акваторії дослідженої острівної системи. Розподіл популяції *N. concinna* по підводних ландшафтах не має чітких закономірностей між морфометричними параметрами раковини, вагою молюска та глибиною. *N. concinna* заселяє всі доступні ландшафти, утворює панміктичну популяцію, яка включає три морфотипи за скульптурою раковини, і становить необмежений ресурс в дослідженій акваторії. Молекулярно-філогенетичний аналіз за мітохондріальними 12S, 16S, COI генами і ядерним геном 28S показав належність трьох морфотипів *N. concinna*, виділених за морфологією раковини, до одного виду в акваторії архіпелагу Вільгема, Західна Антарктика. Філогенетичні реконструкції продемонстрували близькі зв'язки *N. concinna* з нацеллідами Вогняної Землі і субантарктичних островів. Продemonстровано

автохтонність нацеллід для Антарктики. Вперше виділено і баркодовано за геном 16S rRNA моллюск-асоційовану бактеріальну мікрофлору, встановлено філогенетичні зв'язки з полярною мікробіотою Північної півкулі. Молекулярно-генетичним баркодингом показано, що асоційована мікробіота з *N. concinna* представлена протеобактеріями (*Pseudoalteromonas*, *Psychrobacter*, *Shewanella*, *Cobetia*, *Psychromonas*), бактероїдами (*Bizionia*) та фірмікутами (*Oceanobacillus*). Реконструкція філогенетичних зв'язків моллюск-асоційованої мікрофлори показала їх спорідненість з бактеріями Арктичного регіону і можливий біполярний характер їх поширення.

Далі слідують сім **висновків**. Вони сформульовані чітко, відповідають поставленим завданням і результатам роботи.

Загалом дисертація справляє дуже позитивне враження. Текст написано літературною мовою, проілюстровано чіткими й інформативними ілюстраціями. Гіпотези цього дослідження є добре обґрунтованими, вони спираються на репрезентативний матеріал, різні методи і підходи та порівняні з результатами інших дослідників.

Незважаючи на вищезазначені позитивні риси цієї роботи, слід зупинитися на деяких **недоліках** дисертаційного дослідження Анни Євгенівни.

1. В роботі присутні деякі термінологічні неточності, а саме: бактерійні об'єкти досліджень називаються то культурами, то ізолятами то штамми. В подальших дослідженнях бажано використовувати єдину термінологію.
2. Чи не доцільніше було б використовувати метагеномне секвенування для дослідження бактеріальної мікрофлори?
3. В розділі «матеріали і методи досліджень» вказано, що «зразки доставляли в лабораторію при різних температурних режимах, а саме – при температурі +3°C, +6°C та -20°C.». На наш погляд, у випадку з антарктичними зразками умови транспортування слід описувати більш ретельно, оскільки це є запорукою достовірних результатів досліджень.

4. Ряд ілюстрацій, як наприклад Рис. 3.27 не є інформативними та на думку рецензента є зайвими в тексті дисертаційної роботи.
5. До ілюстрацій електрофоретичного аналізу треба додавати легенду з розшифровкою треків. Бажаю це врахувати при підготовці подальших наукових робіт.
6. Наважаючи на досить ретельний аналіз ізолюваних мікроорганізмів, нажаль, автором не було проведено дослідження щодо їх антибіотикорезистентності. На погляд рецензента в 21-му сторіччі цей показник є надважливим. Чи плануються ці дослідження в подальшому?

Загалом дисертаційна робота А. Є. Березкіної характеризується високою якістю методичних підходів, значною новизною отриманих результатів, які викладені в достатній кількості публікацій, що вийшли в фахових виданнях України (кілька статей входять до міжнародної наукометричної бази Scopus). Відмічено відсутність порушення академічної доброчесності. Основні висновки дисертації ґрунтуються на достатньому матеріалі і коректному аналізі даних. Наведені вище зауваження не знижують наукової цінності дисертаційної роботи Анни Євгенівни, вони мають радше рекомендаційний характер або є приводом для подальшої дискусії та висунення нових гіпотез. Представлена дисертація є завершеною науковою працею, монографічним дослідженням структури популяції червоногого молюска *N. concinna* в акваторії Аргентинських островів. Наукове значення цієї роботи полягає в детальному аналізі матеріалу, визначенні таксономічного статусу трьох морфотипів *N. concinna*, важливих узагальненнях і гіпотезах, а також у інтегративному підході, що поєднує морфологічні, молекулярні, мікробіологічні методи дослідження.

З огляду на актуальність теми, наукову новизну результатів, обсяг досліджень і їхній високий методичний рівень, теоретичну цінність розглянутої роботи, вважаю, що дисертація Березкіної Анни Євгенівни «Популяційна структура та ресурси червоногого молюска *Nacella concinna* (Strebel, 1908) у

прибережних водах Української антарктичної станції “Академік Вернадський”, архіпелаг Аргентинські острови, Західна», подана на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 – біологія, відповідає існуючим вимогам дисертаційна робота відповідає вимогам наказу Міністерства освіти і науки України № 40 від 12 січня 2017 р., зареєстрованого в Міністерстві юстиції України від 03 лютого 2017 р. за № 155/30023 (із змінами і доповненнями, внесеними наказом Міністерства освіти і науки України від 31 травня 2019 року № 759) та пп. 9-15 «Тимчасового порядку присудження ступеня доктора філософії» (затвердженого постановою Кабінету Міністрів України № 167 від 06 березня 2019 р. із змінами, внесеними згідно з Постановою Кабінету Міністрів України № 608 від 09.06.2021 р.), а її виконавець заслуговує на присудження йому наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 – біологія.

Офіційний опонент

кандидат біологічних наук,
провідний науковий співробітник
лабораторії молекулярної діагностики
Національного наукового центру
«Інститут експериментальної і
клінічної ветеринарної медицини»

Олексій СОЛОДЯНКІН

Підпис Солодянкін О. затверджую,
Вчений секретар
Національного наукового центру
«Інститут експериментальної і клінічної
ветеринарної медицини»,
кандидат біологічних наук,
старший науковий співробітник



Лариса КОВАЛЕНКО