

РІШЕННЯ СПЕЦІАЛІЗОВАНОЇ ВЧЕНОЇ РАДИ ПРО ПРИСУДЖЕННЯ СТУПЕНЯ ДОКТОРА ФІЛОСОФІЇ

Разова спеціалізована вчена рада Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України, м. Київ, прийняла рішення про присудження ступеня доктора філософії в галузі знань 09 «Біологія» на підставі прилюдного захисту дисертації «Поширення купрумрезистентних мікроорганізмів та перспективи їх використання для охорони довкілля» за спеціальністю 091 «Біологія».

«17» листопада 2022 року

Гаврилюк Олеся Анатоліївна,

1995 року народження, громадянка України,
освіта вища: закінчила у 2018 р. Національний авіаційний університет за спеціальністю 162 «Біотехнології та біоінженерія».

Навчалась в аспірантурі Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного Національної академії наук України, м. Київ, з 2018 р. до цього часу.

Дисертацію виконано у Інституті мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України, м. Київ.

Наукові керівники: Говоруха Віра Михайлівна, кандидат біологічних наук, с.н.с. відділу біології екстремофільних мікроорганізмів Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України, м. Київ, Україна.

Марійчук Руслан Тарасович, кандидат хімічних наук, доцент, завідувач кафедри екології факультету природничих та гуманітарних наук Пряшівського університету, м. Пряшів, Словачка Республіка.

Здобувачка має 19 наукових публікацій за темою дисертації, з них 8 статей у фахових журналах, 3 статті входять до наукометричних баз Scopus та

Web of Science та другого квартиля Q2, 10 тез матеріалів національних та міжнародних конференцій та 1 лабораторний практикум:

1. Havryliuk O, Hovorukha V, Gladka G, Tashyrev O. Bioremoval of copper(II) via hydrogen fermentation of ecologically hazardous multicomponent food waste. *Ecol Eng Environ Prot* 2020;2:5–14. doi.org/10.32006/eeep.2020.2.0514.
2. Havryliuk O, Hovorukha V, Patrauchan M, Youssef N H, Tashyrev O. Draft whole genome sequence for four highly copper resistant soil isolates *Pseudomonas lactis* strain UKR1, *Pseudomonas panacis* strain UKR2, and *Pseudomonas veronii* strains UKR3 and UKR4. *Curr Res in Microbial Sci* 2020;1:44–52. doi.org/10.1016/j.crmicr.2020.06.002.
3. Havryliuk O, Hovorukha V, Savitsky O, Trilis V, Kalinichenko A, Dołhanczuk-Sródka A., Janecki D., Tashyrev O. Anaerobic degradation of environmentally hazardous aquatic plant *Pistia stratiotes* and soluble Cu(II) detoxification by methanogenic granular microbial preparation. *Energies* 2021;14, 3849. doi.org/10.3390/en14133849.

У дискусії взяли участь голова і члени спеціалізованої вченої ради.

Патика Володимир Пилипович, доктор біологічних наук, професор, академік НААН України, головний науковий співробітник відділу фітопатогенних бактерій Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України, оцінка позитивна без зауважень.

Білявська Людмила Олексіївна, доктор біологічних наук, старший науковий співробітник, завідувачка відділу загальної та ґрунтової мікробіології Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України, надала позитивну рецензію із зауваженнями та запитаннями:

1. Розділ 1. Огляд літератури, як на мене, дещо завеликий і, можливо, доцільно було б представити його більш коротку версію.

2. У висновках, де представлено видові назви виділених нових штамів купрумрезистентних мікроорганізмів, доцільно було б вказати у дужках публікацію, де вперше згадується такий мікробний вид.

3. Чому були секвеновані геноми саме 4 штамів мікроорганізмів виду *Pseudomonas*?

4. Ким і де були підготовлені зразки для секвенування геномів?

5. У яких програмах Ви проводили скринінг геномів на наявність детермінант стійкості до Купруму?

6. Як Вам вдалося розчинити Купрум у поживному середовищі до концентрації більшої за 63 г/л?

7. Від яких чинників залежить рівень стійкості мікроорганізмів до сполук Купруму? Чи впливає на це форма, у якій метал внесений у середовище культивування?

8. У Вашому відділі у попередніх співробітників уже були представлені роботи по термодинамічному прогнозуванню взаємодії мікроорганізмів з металами. Що відмінного Ви показали у роботі завдяки термодинамічному прогнозуванню?

Курдиш Іван Кирилович, доктор біологічних наук, професор, завідувач відділу мікробіологічних процесів на твердих поверхнях Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України, надав позитивну рецензію з зауваженнями:

1. На стор. 107 дисерантка вказує, що нерозчинні сполуки Купруму є малотоксичними, однак на наступній сторінці зазначено, що токсичність CuSO_4 значно перевищує токсичність Купруму в комплексі з цитратом. Як це зрозуміти, оскільки відомо, що цитратні сполуки є більш розчинними? На стор. 108 вказано, що хелатування призводить до зменшення токсичності сполук Cu^{2+} ? Як це пояснити?

2. Як визначали вміст Cu(OH)_2 та Cu_2O в осаді?

3. На стор. 115 вказано, що мікробіом чорноземного ґрунту взаємодіяв з Cu^{2+} в діапазоні концентрацій 500-10500 мг/л. На мою думку, ця взаємодія може відбуватись і за нижчих концентрацій, тільки треба знайти підходи для виявлення такої взаємодії.

4. На стор. 120 вказано, що фільтр містив велику кількість мікроорганізмів ($1,0 \times 10^5$ кл/мл). По-перше, фільтр був з наповнювачем? Якщо так, то чому чисельність клітин наведена в мл? По – друге, така кількість мікроорганізмів не є «великою».

5. На стор. 153 вказано: «Менше зниження рН можна пояснити нейтралізацією органічних кислот лужними фосфат-іонами». Оскільки фосфат іони мають кислотні властивості, як ці іони можуть нейтралізувати інші кислотні групи?

6. На стор. 150 вказано: «Концентрація Cu^{2+} у розчині становила 150 ± 10,2 мг/л, у осаді 45 ± 7,3 мг/л та у клітинах 3 ± 0,2 мг/л». Як це зрозуміти – на літр осаду чи на літр клітин?

7. Які методи Ви використовували для визначення концентрації органічних сполук?

8. У роботі Ви досліджували мікроорганізми, що резистентні до Cu^{2+} у надвисоких концентраціях (тисячі і десятки тисяч мг/л). Чи існують техногенні екосистеми або зони забруднення ґрунтів чи стічних вод з таким високим вмістом Купруму?

Козировська Наталія Олексіївна, кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник, завідувачка лабораторії мікробної екології Інституту молекулярної біології і генетики НАН України, надала позитивний відгук з зауваженнями:

1. Тема геомікробіології і біорізноманіття є актуальною для вироблення нових стратегій боротьби з забруднюючими металами у довкіллі. У дисертації цьому приділено увагу, зважаючи на виділення зразків у 9 різнохарактерних біогеоценозах. Проте, чи є підстави вважати, що зроблено

скринінг природних екосистем декількох регіонів земної кулі на наявність стійких до міді мікроорганізмів (стор. 22).

2. У таблиці 2.1 «Характеристика зразків для скринінгу на наявність купрурезистентних мікроорганізмів» представлена інформацію про місце відбору зразків та регіон. До цієї таблиці доцільно було б додати інформацію про рік та кліматичні умови відбору проб, а також загальні біохімічні показники зразків ґрунту (рН, вміст сухої речовини, тощо). Надмірна лаконічність стосується не лише легенд таблиць, але й деяких рисунків.

3. За виконання експериментальної частини, виділення купрурезистентних мікроорганізмів здебільшого відбувалося у мезофільних умовах за температури 28-30 °С. Чому були обрані такі умови культивування, оскільки досліджені зразки були відібрані у біогеоценозах з різним типом клімату (від арктичного до помірного)?

4. У роботі згадується, що ізольовані купрурезистентні мікроорганізми є надстійкими до сполук міді і здатні існувати за одномолярної концентрації Cu^{2+} . Як охарактеризувати такий стан бактерій? Вони здатні рости, взаємодіяти чи переходятять у стан некультивованості за вищих концентрацій?

5. Чи планується більш детальний порівняльний аналіз геномів бактерій *P. veronii*, виділених з різних географічних зон, та їх транскриптомів?

6. Якою програмою визначили локалізацію білка CopC у перiplазмі бактерій (стор. 141)?

7. Чи плануєте аналіз множинної стійкості бактерій до металів та спряженої з нею стійкості до антибіотиків у геномах стійких до міді бактерій *P. veronii*?

8. Щодо вживання наукових термінів: «колоніє утворюючі одиниці» (колонієутворюальні) (стор. 19); «двохвалентного» (двалентного) – стор. 22; хромосома (геномна ДНК) (стор. 137); мікробні біотехнології (мікробні технології) (стор. 180).

Іваниця Володимир Олексійович, доктор біологічних наук, професор, член-кореспондент НАН України, проректор з наукової роботи, професор кафедри мікробіології, вірусології та біотехнології Одеського національного університету імені І.І. Мечникова, надав позитивний відгук з зауваженнями:

1. Назва теми в частині «Поширення купрумрезистентних мікроорганізмів» сформульована занадто широко та потребує конкретизації, наприклад, «Поширення купрумрезистентних мікроорганізмів в біогеоценозах з різними екологічними умовами та перспективи їх використання для оздоровлення довкілля».

2. Одне із завдань, а саме, «З'ясувати здатність рослин акумулювати Купрум та інші метали за росту у забруднених ґрунтах, а також оцінити роль асоційованих з рослинами мікроорганізмів для біоремедіації» явно випадає із загального контексту дисертаційного дослідження. Рослини не наведені при визначенні мети, об'єкту і предмету дослідження. Цілком оправданим було б зосередити увагу на другій частині цього завдання, а саме «Оцінити взаємодію з сполуками Купруму мікроорганізмів, асоційованих з рослинами».

3. Чи відомо, який вміст Купруму в ґрунтах України? Наведіть приклади місць найбільш забруднених Купромом і концентрації цього металу в них. В Табл. 3.1 дисертації вказано «Вміст Купруму (без уточнення якої форми) у зразках» ґрунту, який значно перевищує затверджений в Україні норматив ГДК рухомої форми у ґрунтах (3 мг на кг). Досліджувані зразки проблематично віднести до екологічно-чистого чи навпаки ґрунту, тому що невідомо, скільки в цих зразках рухомої форми Купруму.

4. У дисертації використано показник «Максимально допустима концентрація» (МДК), але не наведено його визначення, що ускладнює аналіз отриманих результатів. Чому не використано такий загально визнаний показник як мінімальна інгібувальна концентрація (МІК)?

5. За результатами роботи рекомендується використовувати резистентні до надвисоких концентрацій Купруму штами бактерій для очищення забруднених ґрунтів. Як чином передбачається очищувати ґрунт від Купруму,

якщо за результатами досліджень Купрум під дією мікроорганізмів залишається в ґрунті і може лише переходити з розчинної форми в нерозчинну?

6. У висновку 4 і в тексті дисертації використано термін регуляція: «Вперше було експериментально підтверджено на прикладі одного надстійкого до Cu²⁺ (63 546 мг/л) штаму *Pseudomonas lactis* UKR1 можливість регуляції видів взаємодії мікроорганізмів з Купрумом за зміни складу поживного середовища...». У такому випадку не коректно використовувати термін «регуляція», оскільки справа йде лише про вплив складу середовища на зміну виду взаємодії мікроорганізмів з Купрумом, а причини таких змін, механізми та шляхи управління цими змінами невідомі.

7. На чому базується припущення: «Синтез флюoresцеїну (піовердину) може свідчити про наявність ще одного механізму захисту від екстремальних факторів (зокрема іонів Cu²⁺) у досліджених штамів *Pseudomonas*», стор. 124. Підтверджену цьому припущенню не наведено ні власних, ні інших дослідників.

8. З теоретичної точки зору важливо було б дослідити, чи наявні гени резистентності у не резистентних до Купруму штамів, наприклад, у штаму *Clostridium butyricum* 92? Оскільки відомо про поширення у бактерій мовчазних генів, що експресуються лише за певних умов, які не завжди вдається визначити.

В основному тексті роботи зустрічаються друкарські описки та невдалі стилістичні формулювання. Наприклад, «фільтр-кувшин, замість фільтр-глечик» стор. 120; «... перспективні для розробки мікробних біотехнологій для охорони довкілля, насправді, для оздоровлення або біоремедіації довкілля»; назву штаму відповідно до правил номенклатури необхідно наводити лише з повною назвою виду *Pseudomonas lactis* UKR1 (або скорочено *P. lactis* UKR1, а ніяк не UKR1); не «Скринінг геномів купрумрезистентних штамів на наявність детермінант стійкості до Купруму», а скринінг детермінант стійкості до Купруму в геномах купрумрезистентних штамів; невірні посилання на рисунки у тексті на стор. 164-166: рис. 5.15 (а, б, в, г), на цьому рисунку тільки фото двох флаконів.

Усі висловлені зауваження та побажання не носять принципового характеру, не стосуються концепції дисертаційного дослідження і не впливають на його загальну позитивну оцінку. Наведені зауваження та уточнюючі запитання не є такими, що знижують загальну позитивну оцінку дисертації, яка є завершеною самостійною науковою працею. Дисертація виконана на високому рівні і є логічно завершеним науковим дослідженням. Сукупність отриманих у дисертації результатів має практичний інтерес як для мікробіологів, так і для біотехнологів.

Результати відкритого голосування: «За» – 5 членів ради,
«Проти» – 0 членів ради

**РАЗОВА СПЕЦІАЛІЗОВАНА ВЧЕНА РАДА
ІНСТИТУТУ МІКРОБІОЛОГІЇ І ВІРУСОЛОГІЇ ІМ. Д.К. ЗАБОЛОТНОГО
НАН УКРАЇНИ**

УХВАЛИЛА:

1. Дисертаційна робота Гаврилюк Олесі Анатоліївни на тему «Поширення купрумрезистентних мікроорганізмів та перспективи їх використання для охорони довкілля», що подана на здобуття ступеня доктора філософії з галузі знань 09 «Біологія» за спеціальністю 09 «Біологія», є завершеним самостійним науковим дослідженням і 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 р. № 261; **«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 р. № 44.

2. Присудити Гаврилюк Олесі Анатоліївні ступінь доктора філософії з галузі знань 09 «Біологія» за спеціальністю 09 «Біологія».
3. Рішення разової спеціалізованої вченої ради затвердити.
4. Підготувати наказ про видачу Гаврилюк Олесі Анатоліївні диплома доктора філософії та додатка до нього європейського зразка.

Голова разової спеціалізованої

вченої ради, доктор біологічних наук,

професор, академік НААН



Володимир ПАТИКА

