

Голові разової спеціалізованої  
вченої ради Харківського  
національного університету  
імені В.Н. Каразіна  
професору Дмитру ШАБАНОВУ  
майдан Свободи 4, м. Харків,  
61022

## **РЕЦЕНЗІЯ**

офіційного рецензента, професора закладу вищої освіти кафедри генетики і цитології Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна, доктора біологічних наук, старшого наукового співробітника Володимира Юрійовича СТРАШНЮКА на дисертаційну роботу Марії Юріївни ШРЕСТХИ «Бранхіобделіди Західної Палеарктики (Annelida: Branchiobdellida): систематика, географічне поширення та еволюція», поданої на здобуття наукового ступеня доктора філософії з галузі знань 09 – Біологія за спеціальністю 091 – Біологія.

**1. Обґрунтування вибору теми дослідження.** Актуальність теми дисертаційної роботи Марії Юріївни Шрестхи обумовлена необхідністю комплексного вивчення бранхіобделід, які є важливим компонентом прісноводних екосистем. Бранхіобделіди (Clitellata: Branchiobdellida) є obligatними ектосимбіонтами ракоподібних, а їхня систематика, географічне поширення та еволюція залишаються недостатньо вивченими. Досі мало відомо про особливості їхнього способу життя, поширення, симбіотичних відносин, філогенетичні зв'язки. Дослідження М. Ю. Шрестхи спрямоване на заповнення існуючих пробілів у знаннях про цю групу організмів, зокрема в регіоні Західної Палеарктики.

**2. Оцінка змісту дисертації, її завершеності в цілому і оформлення.** Дисертаційна робота викладена на 242 сторінках, складається з анотацій українською та англійською мовами, змісту, вступу, чотирьох основних розділів, висновків, списку використаних джерел (170 посилань) та дев'яти додатків. Робота містить 19 таблиць і 57 рисунків.

У «ВСТУПІ» автор обґрунтовує вибір теми дослідження, надає відомості про об'єкт і предмет дослідження, формулює мету і завдання

дисертаційної роботи, обговорює застосовані в роботі методи дослідження, наукову новизну та практичне значення отриманих результатів, свій особистий внесок у виконання поставлених завдань, надає відомості про структуру та обсяг дисертації, публікації та апробацію її матеріалів, про зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами.

В розділі 1 «ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ» автор аналізує сучасний стан досліджуваних проблем за даними літератури. Зокрема, в цьому розділі дана загальна характеристика бранхіобделід та їх симбіотичних відносин з річковими раками, наведені відомості про регіон дослідження, обговорюються поширення і різноманіття роду *Branchiobdella* на території Західної Палеарктики, проблематика досліджуваної групи бранхіобделід, їх еволюційне походження, філогенія та систематичне положення, наведена характеристика аборигенних та інвазивних видів раків на території Західної Палеарктики, які є хазяями бранхіобделід.

У розділі 2 «МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ» дисертант надає цілком повні відомості про використаний в роботі матеріал, його походження, методи, застосовані при вивченні ознак зовнішньої морфології та анатомії бранхіобделід, їх локалізації на річкових раках, про методи молекулярно-генетичного аналізу бранхіобделід. Обсяг матеріалу цілком достатній для досягнення поставленої мети. Методи сучасні й адекватні завданням дослідження. Значущість отриманих результатів перевірена відповідними статистичними методами.

Розділи 3 і 4 присвячені власне результатам дослідження. Зокрема, в розділі 3 «РЕЗУЛЬТАТИ. РІЗНОМАНІТТЯ» обговорюється таксономічна диференціація видів роду *Branchiobdella* за морфологічними та анатомічними ознаками, фауна бранхіобделід Західної Палеарктики та їх філогенетична структура, проводиться делімітація видів і таксономічна ревізія роду *Branchiobdella*, досліджуються еволюційні зв'язки, морфологічна мінливість, сучасний стан популяцій, генетичне різноманіття та еволюція бранхіобделід Західної Палеарктики.

У розділі 4 «РЕЗУЛЬТАТИ. СИМБІОТИЧНІ ВІДНОСИНИ» описано життєвий цикл бранхіобделід, локалізація різних видів бранхіобделід на річкових раках, обговорюються взаємовідносини бранхіобделід з інтродукованими видами річкових раків, їхня специфічність щодо хазяїв, вплив бранхіобделід на стан популяцій річкових раків.

Висновки дисертації цілком відповідають отриманим результатам.

Анотація відповідає змісту і основним положенням дисертації.

**3. Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами.** Дослідження виконане в рамках наукових програм, спрямованих на вивчення біорізноманіття прісноводних екосистем Західної Палеарктики. Робота підтримувалася декількома грантами в період 2009–2012 рр: “Taxonomic status and ecology of key invertebrate species in continental waters of Europe/Ministry of Education and Science of Ukraine, Ministry of Education and Science of Slovenia”, а з 2023 року грантом “Establishment of a molecular laboratory for the study of biodiversity/Science and Technology Center in Ukraine (STCU) and Academic Sanctuaries Fund”.

**4. Обґрунтованість та достовірність наукових положень, результатів і висновків** дисертації забезпечена використанням адекватних, сучасних методів дослідження, які включають, зокрема, морфологічний аналіз (стереомікроскопія, вивчення щелеп та сперматеки), філогенетичний аналіз (метод Максимальної правдоподібності та Бассове висновування), геоінформаційні методи (QGis) для визначення ареалів поширення. В роботі широко застосовувався молекулярно-генетичний аналіз, в результаті чого вперше було отримано послідовності чотирьох генетичних маркерів бранхіобделід (CO1, 16S, 28S та ITS) для всіх досліджуваних видів. Варто відзначити значну роботу автора з удосконалення існуючих методів, зокрема, модифікації протоколів ампліфікації, що дозволило отримати послідовності і для виду п'явки *Hemiclepsis marginata*, яка використовувалася як зовнішня група при побудові мультилокусного філогенетичного дерева з вищою підтримкою. Вперше отримано та розміщено в GenBank послідовності ДНК для виду *Branchiobdella kozarovi*.

**5. Основні наукові результати, одержані автором, та їх новизна.** Серед основних наукових здобутків дисертанта, що вирізняються новизною, слід відзначити наступне. Автором описано новий вид *Branchiobdella* sp.n. Розширено уявлення про межі ареалів виду *Branchiobdella hexadonta* та *Branchiobdella parasita*. Уточнено таксономічний статус підвиду *Branchiobdella balcanica sketi*. Виявлено декілька гаплогруп *Branchiobdella kozarovi*, що відображає еволюційну історію річкового рака – хазяїна *Astacus leptodactylus*. Отримано нові дані щодо морфологічних особливостей та генетичної варіації виду *Branchiobdella parasita*, а також географічного поширення цього виду в Україні. Вперше отримано послідовності чотирьох генів для всіх досліджуваних видів бранхіобделід, що значно розширило можливості філогенетичного аналізу. Продемонстровано філогенетичні

зв'язки між видами бранхіобделід Західної Палеарктики. Вивчено особливості локалізації видів бранхіобделід на річкових раках. Досліджено особливості локалізації *Branchiobdella kozarovi* на річковому раку *Astacus leptodactylus* та інтродукованих видах раків, що дозволило з'ясувати можливість їхнього зараження.

**6. Апробація дисертації та публікації.** Основні результати дослідження були предсавлені автором на міжнародних конференціях та симпозіумах, зокрема, на *4th International Conference HIRUDINEA: biology, taxonomy, faunistics (18-21 May, 2011, Wierzba, Poland)*, *Young Zoologist Scientists Conference, Zoology Shmalgauzen Institution, Ukrainian National Academy of Sciences (8-9 April, Kyiv, 2009)* та на *4th Central European Symposium of Aquatic Invertebrates (Stara Lesna, Slovakia, 7-12 July 2024)*. Результати дослідження опубліковані в трьох наукових статтях. Одна з них опублікована в закордонному виданні, яке індексується в базах даних Web of Science / Scopus та належить до другого квартилю (Q2). Дві інші статті опубліковані у наукових виданнях, що входять до переліку фахових видань України (категорії А та Б). Крім того, за участі автора було опубліковано три статті, які додатково відображають наукові результати, представлені в дисертації.

**7. Практичне значення отриманих результатів.** Дисертаційна робота спрямована на вивчення бранхіобделід Західної Палеарктики. Зважаючи на симбіотичні зв'язки бранхіобделід з річковими раками, отримані в роботі результати мають важливе значення для розуміння екологічних наслідків інтродукції екзотичних видів раків у водні екосистеми. Вони можуть бути використані для розробки заходів біобезпеки та карантинного контролю при ввезенні живих раків, що є особливо актуальним у контексті розвитку аквакультури. Крім того, результати дослідження можуть бути застосовані для розробки стратегій збереження аборигенних видів раків, які знаходяться під загрозою через інтродукцію чужорідних видів.

**8. Дискусійні положення та зауваження до змісту дисертації.** Деякі положення дисертації викликають запитання і зауваження. Зокрема, маю такі зауваження:

- Об'єктом дослідження автора були бранхіобделіди (Clitellata: Branchiobdellida) Західної Палеарктики (с. 13). Водночас в роботі серед іншого досліджувався матеріал, зібраний в росії та Казахстані.

Чи коректно вважати, що території цих країн належать до Західної Палеарктики, зважаючи на те, що східна межа Західної Палеарктики, як зазначає автор, проходить по басейну річки Волга (с. 156)?

- Обговорюючи поширення *Branchiobdella pentadonta*, автор відзначає фіксацію цього виду на Балканах, у південній Македонії (біля Консько) та у східній Македонії (потік Осойниця біля Берово) (с. 116). Судячи з вказаних географічних назв населених пунктів, йдеться про Північну Македонію, а не про регіон в Греції. То ж вірно було б говорити про південний та східний регіони Північної Македонії.
- Обговорюючи поширення *Branchiobdella kozarovi*, зазначається, що найостанніша знахідка цього виду була зроблена за участі автора у Нідерландах (с. 97). Водночас на представленій карті (рис. 3.13, с. 96) ця локація не позначена.
- В обговоренні результатів знаходження бранхіобделід на ракоподібних, йдеться про те, що в 9-ти локаціях були виявлені лише кокони бранхіобделід (с. 82). Досліджені ракоподібні, як відзначає автор, «належали до п'яти видів». Однак, судячи з того, які види перераховує автор, стає зрозумілим, що їх не п'ять, а шість: «чотири автохтонні (аборигенні) види Західної Палеарктики – *Astacus astacus* (Linnaeus, 1758), *Austropotamobius torrentium* (Schrank, 1803), *Austropotamobius pallipes* (Lereboullet, 1858) та *Astacus leptodactylus*, а також інтродуковані види – *Orconectes limosus* (Rafinesque, 1817) та *Pacifastacus leniusculus* (Dana, 1852) з Північної Америки».

Також маю запитання:

- При дослідженні генетичних відстаней всередині виду *B. italica* за геном CO1, обговорюючи результати тестів на нейтральність еволюції (с. 145–146), автор вказує на те, що за результатами Z-тесту, заснованого на порівнянні кількості синонімічних  $dN$  (нейтральних) та несинонімічних  $dS$  (вибіркових) замін у гені, відхилення від нейтральної еволюції не було статистично значущим. Але за використання тесту МакДональда – Крайтмана для *B. italica* (а також для *B. kozarovi*) результат виявився статистично значущим. То ж виникає питання: який можна зробити остаточний висновок, і якому тесту варто віддати перевагу у даному дослідженні?
- Одне з питань, яке досліджує автор, стосується можливості переселення аборигенних видів бранхіобделід на інтродуковані види раків (с. 13, 172). А як щодо зараження аборигенних видів раків

інвазивними видами бранхіобделід, зокрема, від тих таки інтродукованих видів раків? Чи існує така загроза?

Варто зазначити, що висловлені зауваження не змінюють загальної позитивної оцінки дисертаційної роботи.

**9. Загальні висновки.** Дисертаційна робота М. Ю. Шрестхи на тему «Бранхіобделіди Західної Палеарктики (Annelida: Branchiobdellida): систематика, географічне поширення та еволюція» відповідає вимогам «Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії» (постанова Кабінету Міністрів України від 12.01.2022 р. № 44) та наказу Міністерства освіти і науки України від 12.01.2017 р. № 40 «Про затвердження Вимог до оформлення дисертацій».

За рівнем теоретичної обґрунтованості, новизною та практичним значенням результатів дисертація є завершеною, самостійно виконаною науковою працею, а її автор Марія Юріївна Шрестха заслуговує на присудження ступеня доктора філософії з галузі знань 09 – Біологія за спеціальністю 091 – Біологія.

#### **Рецензент**

доктор біологічних. наук,  
старший науковий співробітник,  
професор закладу вищої освіти  
кафедри генетики і цитології  
Харківського національного університету  
імені В. Н. Каразіна

Володимир СТРАШНЮК

Онлайн сервіс створення та перевірки кваліфікованого та удосконаленого електронного підпису

ПРОТОКОЛ  
створення та перевірки кваліфікованого та удосконаленого електронного підпису

Дата та час: 08:58:53 04.06.2025

Назва файлу з підписом: Шрестха М.Ю.\_Рецензія\_Дис..pdf.asice  
Розмір файлу з підписом: 232.1 КБ

Перевірені файли:

Назва файлу без підпису: Шрестха М.Ю.\_Рецензія\_Дис..pdf  
Розмір файлу без підпису: 237.4 КБ

Результат перевірки підпису: Підпис створено та перевірено успішно. Цілісність даних підтверджено

Підписувач: СТРАШНЮК ВОЛОДИМИР ЮРІЙОВИЧ

П.І.Б.: СТРАШНЮК ВОЛОДИМИР ЮРІЙОВИЧ

Країна: Україна

РНОКПП: 2253400916

Організація (установа): ФІЗИЧНА ОСОБА

Час підпису (підтверджено кваліфікованою позначкою часу для підпису від Надавача): 08:58:51 04.06.2025

Сертифікат виданий: КНЕДП АЦСК АТ КБ "ПРИВАТБАНК"

Серійний номер: 5E984D526F82F38F04000000444F3201A7D8A805

Алгоритм підпису: ДСТУ 4145

Тип підпису: Удосконалений

Тип контейнера: Підпис та дані в архіві (розширений) (ASiC-E)

Формат підпису: З повними даними для перевірки (XAdES-B-LT)

Сертифікат: Кваліфікований

Версія від: 2025.02.05 13:00

Голові разової спеціалізованої вченої ради  
Харківського національного  
університету імені В.Н. Каразіна  
доктору біологічних наук,  
професору Дмитру ШАБАНОВУ  
майдан Свободи, 4, м. Харків, 61022

## РЕЦЕНЗІЯ

офіційного рецензента ГРОМАКОВОЇ Алли Борисівни, кандидата біологічних наук (03.00.05 – Ботаніка), доцента, завідувача кафедри ботаніки та екології рослин біологічного факультету Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна на дисертаційну роботу **Шрестхи Марії Юріївни «Бранхіобделіди Західної Палеарктики (Annelida: Branchiobdellida): систематика, географічне поширення та еволюція»**, поданої на здобуття наукового ступеня доктора філософії з галузі знань 09 Біологія за спеціальністю 091 Біологія.

### 1. Обґрунтування вибору теми дослідження.

Branchiobdellida як група симбіотичних організмів, що пов'язані із річковими раками, мають важливе фундаментальне та прикладне значення. Їх унікальні симбіотичні взаємини (від мутуалізму до паразитизму) впливають на стан господарів, виконуючи санітарні функції або, при надмірному розмноженні, спричиняючи патології раків. Ці організми слугують чутливими біоіндикаторами стану водних екосистем, реагуючи на зміни фізико-хімічних параметрів. В аквакультурі їх дослідження критично важливе для контролю життєдіяльності ракоподібних. Крім того, бранхіобделіди представляють еволюційний інтерес у зв'язку з проміжним положенням між олігохетами та п'явками, а їх біогеографічні особливості допомагають реконструювати історичні процеси формування прісноводної фауни. Таким чином, вивчення цієї групи є ключовим для розуміння екологічних процесів у прісноводних екосистемах, моніторингу довкілля та раціонального природокористування.



## **2. Оцінка змісту дисертації, її завершеності в цілому і оформлення.**

Дисертаційна робота складається з анотацій, вступу, чотирьох розділів, висновків, списку використаних джерел та дев'яти додатків. Загальний обсяг роботи складає 241 сторінки друкованого тексту: 165 сторінок основного тексту, 57 рисунків, 19 таблиць, список використаних літературних джерел із 170 найменувань.

У «Вступі» дисертаційної роботи обґрунтовано вибір теми дослідження, мету та основні завдання, наведено методи досліджень, наукову новизну та практичне значення отриманих результатів дослідження, зазначено особистий внесок здобувача, надано відомості щодо наукових публікацій за темою дисертації, апробацію її матеріалів та практичного значення отриманих результатів, встановлено зв'язок роботи з науковими програмами та грантами.

В розділі 1 «Огляд літератури» автор надає загальну характеристику бранхіобделід, вказує на характер їх взаємовідносин з річковими раками, аналізує дані щодо поширення та різноманіття роду *Branchiobdella*, їх еволюційного походження та філогенії, наводить також характеристику аборигенних та інвазивних видів раків на території Західної Палеарктики, які є хазяями бранхіобделід.

У розділі 2 «Матеріали і методи» наведено відомості щодо досліджуваного автором матеріалу (понад 4000 екземплярів бранхіобделід), окреслено методи збору та обробки матеріалу. Автор надає інформацію щодо використаних анатомо-морфологічних методів дослідження бранхеобделід з використанням світлової та сканувальної електронної мікроскопії, детально наводить опис проведення молекулярно-генетичного аналізу досліджених зразків з модифікаціями автора умов ПЛР та протоколів ампліфікації, описує методи філогенетичного аналізу.

У розділі 3 представлені результати власних досліджень здобувача. Для виявлених здобувачем видів бранхіобделід надано морфологічні та анатомічні описи з основними видоспецифічними ознаками, які добре проілюстровані фотографіями автора, наведено асоціації з хазяями та поширення видів на основі літературних даних і власних зборів здобувача. Наступна частина цього розділу розкриває філогенетичні зв'язки проаналізованих видів бранхіобделід, їх генетичне різноманіття,

результати делімітації видів з виявленням нового для науки виду. Завершується розділ таксономічною ревізією роду *Branchiobdella*, аналізом еволюційних зв'язків, морфологічної мінливості та сучасного стану популяцій окремих видів.

У розділі 4 «Симбіотичні відносини» проаналізовано особливості життєвих циклів представників роду *Branchiobdella* та характер їх взаємодії з хазяями. Результати дослідження виявили диференційовану стратегію симбіозу: окремі види бранхіобделід демонструють пластичність у виборі хазяїв та широкий ареал поширення, тоді як інші виявляють строгу специфічність до певних видів річкових раків.

**Висновки** дисертаційної роботи підкреслюють наукову новизну проведених досліджень та логічно виходять із викладеного матеріалу, достатньо повно його відображають, дають відповідь на поставлені в роботі мету та завдання дослідження.

Список використаних літературних джерел містить посилання на відповідні літературні та власні публікації за темою дисертації.

### **3. Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами.**

Дослідження виконане в рамках наукових програм, спрямованих на вивчення біорізноманіття прісноводних екосистем Західної Палеарктики. Робота підтримувалася грантами в період 2009–2012 рр: “Taxonomic status and ecology of key invertebrate species in continental waters of Europe/Ministry of Education and Science of Ukraine, Ministry of Education and Science of Slovenia”, а з 2023 року – грантом “Establishment of a molecular laboratory for the study of biodiversity/Science and Technology Center in Ukraine (STCU) and Academic Sanctuaries Fund”.

### **4. Обґрунтованість та достовірність наукових положень, результатів і висновків, сформульованих у дисертації.**

Мета та завдання дисертаційної роботи М.Ю. Шрестхи сформульовані лаконічно та зрозуміло. Для досягнення поставленої мети і реалізації завдань дисертантка використала широкий спектр традиційних і сучасних методів: порівняльний морфологічний метод дослідження, що включає вивчення морфологічних ознак брахнеобделід з використанням відповідної мікроскопії (стереомікроскопія, скануюча електронна мікроскопія), молекулярно-генетичний метод, що дозволив вперше

отримати послідовності двох мітохондріальних (CO1, 16S) та двох ядерних (28S, ITS) генетичних локусів для 8 видів бранхіобделід, методи філогенетичного аналізу, а саме, метод Максимальної правдоподібності та Баєсове висновування, геоінформаційні методи (QGIS) для визначення ареалів поширення видів. Окремо слід зауважити, що дисертанткою проведена значна робота з модифікації протоколів ампліфікації генетичних маркерів. Отримані результати свідчать про самостійність у науковій роботі, вміння застосовувати міждисциплінарні підходи та аналітичні здібності.

Вважаю, що отримані здобувачем результати, наукові положення та висновки є значущими та науково обґрунтованими.

### **5. Основні наукові результати, одержані автором, та їх новизна.**

Дослідження, присвячене маловивченій групі Branchiobdellida, принесло низку фундаментальних відкриттів: опис нового для науки виду роду *Branchiobdella* sp. n., ревізію ареалів інших видів бранхіобделід Західної Палеарктики, а також перегляд таксономічного статусу *B. balcanica* sketi. Вперше отримані та депоновані в GenBank генетичні послідовності для *B. kozarovi* та інших видів, що дозволило провести комплексний філогенетичний аналіз на основі чотирьох генних маркерів. Модифікація молекулярних протоколів дала змогу побудувати надійне мультилокусне філогенетичне дерево з високою підтримкою. Вивчення особливостей локалізації бранхіобделід на автохтонних та інтродукованих раках допомогло розширити знання про їх екологічні взаємини. Отримані результати значно доповнюють дані щодо біорізноманіття, еволюції та екології цієї групи організмів, демонструючи високий рівень наукової новизни та відповідність сучасним стандартам досліджень.

### **6. Апробація дисертації та публікації.**

Основні результати дисертаційної роботи Шрестхи Марії Юріївни відображені у 6 публікаціях, з яких 1 стаття у міжнародному виданні Q2, що індексується у базах даних Web of Science/Scopus), 2 статті у фахових виданнях України (категорії А та Б), 3 додаткові публікації, що доповнюють результати дисертації. Результати дослідження були представлені на престижних міжнародних наукових заходах, зокрема: 4th Central European Symposium of Aquatic Invertebrates (Словаччина, 7-12 липня 2024 р.), 4th International Conference HIRUDINEA: biology,

taxonomy, faunistics (Польща, 18-21 травня 2011 р.); Конференції молодих зоологів Інституту зоології ім. І.І. Шмальгаузена НАН України (Київ, 8-9 квітня 2009 р.).

#### **7. Практичне значення отриманих результатів.**

Науково-практична значущість дослідження полягає у теоретичному вкладі в розуміння малодослідженої групи організмів – бранхіобделід Західної Палеарктики, зокрема в аспектах її систематики, філогенії та екології, що створює основу для подальших еволюційних досліджень. Отримані результати мають прикладне значення для оцінки екологічних ризиків, пов'язаних з інтродукцією екзотичних ракоподібних, та розробки науково обґрунтованих заходів біобезпеки в аквакультурі, зокрема карантинних протоколів і стратегій збереження автохтонних видів раків, що знаходяться під загрозою через поширення чужорідних видів.

#### **8. Дискусійні положення та зауваження до змісту дисертації.**

При рецензуванні роботи виникли деякі зауваження та запитання, які пропонується обговорити в рамках наукової дискусії:

1. В тексті дисертації на рисунках 3.12 (A-B, F2-E2), 3.16 (A-B, D-G), 3.17, 3.18, 3.19, 3.20, 3.22, 3.24 відсутній масштаб на деяких фотографіях, що відображають морфологічні та анатомічні ознаки різних видів роду *Branchiobdella*. На рисунках 3.10, 3.15, 3.23 також немає масштабів на картах поширення видів бранхіобделід.

2. В розділі 4 наголошено, що деякі види бранхіобделід виявляють строгу специфічність до певних видів річкових раків. З чим саме пов'язана ця специфічність?

3. В розділі 4 вашої роботи присвячено багато уваги дослідженню розподілу різних видів бранхіобделід та їх коконів на одному хазяїні. Виникає питання, як розділяються екологічні ніші різних видів бранхіобделід на одному виді хазяїна? Якщо вони мешкають разом, то які взаємовідносини вони утворюють між собою?

Проте зазначені зауваження не впливають на якість дисертаційної роботи і обґрунтованість наведених здобувачем висновків.

#### **9. Загальні висновки щодо дисертаційної роботи.**

За своїм фаховим спрямуванням, науковою новизною і практичною значимістю дисертаційна робота Шпрестхи Марії Юріївни «Бранхіобделіди Західної Палеарктики (Annelida: Branchiobdellida):

**систематика, географічне поширення та еволюція»,** представлена на здобуття наукового ступеня доктора філософії з галузі знань 09 Біологія за спеціальністю 091 Біологія, є актуальною, завершеною науковою працею, що виконана на належному науково-теоретичному рівні з логічно та доступно викладеним матеріалом.

Дисертація повністю відповідає 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 від 12 січня 2022 р. №44 (редакція від 01.01.2024р.). Дисертація оформлена згідно з вимогами Наказу Міністерства освіти і науки України від 12 січня 2017 р. №40 (із змінами, внесеними згідно з Наказом Міністерства освіти і науки №759 від 31.05.2019 р.).

Вважаю, що Шрестха Марія Юріївна заслуговує на присудження ступеня доктора філософії з галузі знань 09 Біологія за спеціальністю 091 Біологія.

Офіційний рецензент,  
кандидат біологічних наук (03.00.05 – Ботаніка),  
доцент, завідувач кафедри ботаніки  
та екології рослин біологічного факультету  
Харківського національного  
університету імені В.Н. Каразіна

Алла ГРОМАКОВА

ПРОТОКОЛ  
створення та перевірки кваліфікованого та удосконаленого електронного підпису

Дата та час: 11:01:23 17.06.2025

Назва файлу з підписом: Рецензія\_Громакова\_Шрестха.pdf.p7s  
Розмір файлу з підписом: 17.2 КБ

Перевірені файли:

Назва файлу без підпису: Рецензія\_Громакова\_Шрестха.pdf  
Розмір файлу без підпису: 254.1 КБ

Результат перевірки підпису: Підпис створено та перевірено успішно. Цілісність даних підтверджено

Підписувач: ГРОМАКОВА АЛЛА БОРИСІВНА

П.І.Б.: ГРОМАКОВА АЛЛА БОРИСІВНА

Країна: Україна

РНОКПП: 2426612109

Організація (установа): ФІЗИЧНА ОСОБА

Час підпису (підтверджено кваліфікованою позначкою часу для підпису від Надавача): 11:01:23 17.06.2025

Сертифікат виданий: КНЕДП АЦСК АТ КБ "ПРИВАТБАНК"

Серійний номер: 5E984D526F82F38F040000006A53C3014B643606

Алгоритм підпису: ДСТУ 4145

Тип підпису: Удосконалений

Тип контейнера: Підпис та дані в окремих файлах (CAAdES detached)

Формат підпису: З повними даними ЦСК для перевірки (CAAdES-X Long)

Сертифікат: Кваліфікований

Версія від: 2025.02.05 13:00

Голові разової спеціалізованої  
вченої ради Харківського  
національного університету  
імені В.Н. Каразіна  
професору Дмитру ШАБАНОВУ  
майдан Свободи 4, м. Харків, 61022

## РЕЦЕНЗІЯ

офіційного опонента ГУМОВСЬКОГО Олексія Васильовича, доктора біологічних наук (03.00.09 Ентомологія), члена-кореспондента НАН України, завідувача відділу систематики ентомофагів та екологічних основ біометоду Інституту зоології імені І.І.Шмальгаузена Національної Академії Наук України на дисертаційну роботу **Шрестхи Марії Юріївни «Бранхіобделіди Західної Палеарктики (Annelida: Branchiobdellida): систематика, географічне поширення та еволюція»**, поданої на здобуття наукового ступеня доктора філософії з галузі знань 09 Біологія за спеціальністю 091 Біологія.

Дисертаційна робота М.Ю. Шрестхи є детальним дослідженням бранхіобделід (Annelida: Branchiobdellida) Західної Палеарктики, їх систематиці, географічному поширенню та еволюції.

Обрану тему можна вважати цілком актуальною оскільки присвячена малопомітним, проте широко поширеним симбіонтам річкових раків. Разом з хазяями бранхіобделіди є важливим компонентом прісноводних екосистем, але особливості їх способу існування, поширення, філогенетичні зв'язки залишаються недостатньо дослідженими. Крім того, важливо зазначити, що крім розгляду класичних питань зоології, автор дослідження звертає увагу на поширення різних видів бранхіобделід у зв'язку із розвитком аквакультури та інтродукції чужорідних видів. Саме проясненню цих питань присвячена представлена М.Ю. Шрестхою дисертаційне дослідження.

Дисертацію викладено на 242 сторінках (включно з додатками). Робота містить вступ, чотири розділи (огляд літератури, матеріали та методи, результати, 10 висновків та бібліографію. М.Ю. Шрестха є автором трьох наукових статей у наукових фахових

виданнях України та іноземних, одне з яких входить до міжнародної наукометричної бази Scopus (Q2), а також тез конференцій та інших публікацій, що відображають вміст дисертації.

У **“Вступі”** ясно обгрунтована актуальність теми дисертації та сформульована мета дисертаційного дослідження – комплексне вивчення бранхіобделлід (Clitellata: Branchiobdellida), ектосимбіонтів річкових раків, Західної Палеарктики, а саме їх систематики, географічного поширення та еволюційних зв’язків. На цій підставі сформульовані завдання, які відповідають поставленій меті. Відповідно до мети наведені основні методи досліджень, а саме морфологічні, молекулярно-генетичні, філогенетичні, геоінформаційні. Сформульовані основні результати та наукова новизна дослідження, серед яких треба відзначити виявлення нового виду бранхіобделлід та уточнення таксономічного статусу існуючих видів, розширення уявлень про ареали видів дослідженої групи, уточнення еволюційної історії річкових раків та бранхіобделлід, отримання послідовностей фрагментів 4-х мітохондріальних та ядерних генів бранхіобделлід та модифікація протоколів ПЛР, прояснення поведінки деяких видів бранхіобделлід тощо. Відзначено особистий внесок здобувача в досліджувану проблему, а саме участь в експедиціях та самостійний збір живих зразків бранхіобделлід та їх хазяїв, самостійне проведення морфологічних, молекулярно-генетичних та філогенетичних досліджень та їх інтерпретація.

**“Огляд літератури”** містить необхідну інформацію про попередні дослідження в галузі систематики, філогенетики, морфології, різноманіття та екології бранхіобделлід. В огляді розглядаються особливості симбіотичних відносин бранхіобделлід та річкових раків та їх еволюція, особливості поширення бранхіобделлід та річкових раків в Палеарктиці, та особливості еволюції бранхіобделлід.

Розділ **«Матеріали та методи»** містить інформацію про кількість обстеженого матеріалу, річкових раків та бранхіобделлід. Кількість обстеженого матеріалу біля 700 раків та 4000 екземплярів бранхіобделлід. Детальний опис матеріалу представлений у вигляді таблиці та карти місць збору зразків. Розділ містить опис методів молекулярно-генетичного аналізу – локусів, праймерів, програм ПЛР, пакетів обробки та аналізу сіквенсів та реконструкції філогенії, делімітації видів. Також представлені методи морфологічного та геоінформаційного аналізу.



Розділ **«Результати. Різноманіття»** містить результати морфологічного аналізу дослідженого матеріалу, представлені варіанти морфологічних та анатомічних структур. Особливо треба відзначити представлення варіантів будови статеві системи та щелеп, що має значення для ідентифікації бранхіобделід за морфологічними ознаками. Значна частина розділу присвячена систематичному опису. Данний опис містить такі розділи: джерело першоопису, синоніми, типовий екземпляр, типова локація, етимологія, опис морфології та анатомії зі стандартизованими зображеннями, опис коконів та локалізація на тілі хазяїна зі стандартизованими зображеннями, поширення з картою та асоціація з хазяями. Фактично розділ є класичним монографічним описом фауни бранхіобделід Західної Палеарктики. Представлені філогенетичні реконструкції за 4-ма фрагментами мітохондріальних і ядерних генів, а саме – COI, 16S, ITS, 28S. В реконструкціях використані всі доступні послідовності з ген банку та отримані власноруч у ході виконання дослідження. Філогенетичні реконструкції з використанням Байєсівського аналізу та максимальної правдоподібності підтвердили монофілетичність всіх виділених за морфологічними ознаками видів, а також підтвердив виділення нового виду роду *Branchiobdella* з високим бутстрепом. Також проведено делімітацію видів інструментами ASAP, ABGD, bPTP. Представлено діапазони внутрішньовидових парних відстаней та між монофілетичними кладами за одним локусом та кількома локусами. Для досліджених видів визначене їх генетичне різноманіття. Виділені гаплотипи для кожного виду бранхіобделід і встановлено їх відповідність картині географічного поширення кожного виду та висунуті припущення щодо часу розселення по ландшафтах Західної Палеарктики. Показані внутрішньовидові та міжвидові генетичні відстані, що відповідають картині розселення видів та окремих MOTU. В розділі розглянуті коеволюційні процеси та відповідність поширення окремих гаплогруп видів бранхіобделід процесам поширення хазяїв та формуванню окремих ландшафтів на яких формуються їх ареали.

Розділ **«Результати. Симбіотичні відносини»** містить результати власних спостережень за динамікою інтенсивності та екстенсивності інвазії хазяїв бранхіобделідами в різних локалітетах. Показано ймовірність сумісного зараження хазяїв різними видами бранхіобделід та різний рівень специфічності до хазяїв. Показано розподіл на поверхні тіла раків, спектри живлення, розташування коконів бранхіобделід, що відповідає розподілу екологічних ніш для досліджених

видів. Важливими є експерименти із зараженням бранхіобделідами інтродукованих видів раків. Показано можливість їх заселення бранхіобделідами. Також показано можливість тривалого вільного існування при наявності поживних ресурсів.

Розділ «**Висновки**» містить 10 висновків які відображають основні результати дослідження та відповідають поставленим завданням і меті роботи.

Список використаних літературних джерел містить 170 посилань, які охоплюють майже всю доступну літературу з теми дослідження і свідчить про обізнаність автора.

Також треба відзначити наявність додатків, які доповнюють розділи що стосуються молекулярно-філогенетичного аналізу дослідженого матеріалу, а саме групи отримані різними інструментами при делімітації видів, а також інформацію о джерелах походження послідовностей фрагментів генів COI, 16S, 28S та ITS використаних у філогенетичному аналізі.

Робота справляє позитивне враження. Вона є класичним зоологічним дослідженням обраної групи з додаванням сучасних методів молекулярно-філогенетичного та зоогеографічного аналізу. Роботу дуже добре проілюстровано авторськими зображеннями, які органічно доповнюють текст. Обговорення розділів та висновки є обґрунтованими.

**Однак треба зробити деякі зауваження щодо оформлення роботи:**

- У Таблиці 3.1 коди країн варто було б перенести до приміток до таблиці.
- У Таблицях 3.2 - 3.6 частину тексту в назвах слід віднести до приміток до таблиці.
- На стор. 82, в розділі 3.2. вказано, що в Європі існує 6 видів роду *Branchiobdella*, проте в переліку наведено 7 видів. Систематичний опис також містить 7 відомих видів та опис ще одного нового виду.
- В деяких частинах тексту назви родів не виділені курсивом.
- На рисунках 3.33 та 3.36 зображено мережу, яку варто було б пов'язати з картою і додати пояснення в підпису, аби показати відповідність ділянок мережі географічним регіонам.

- Новий вид, опис якого планується опублікувати, як я розумію, згодом наводиться або як «sp. n.», «n. sp.», варто було б уніфікувати цю аббревіатуру.

**Також маю запитання:**

- Ви пропонуєте описати один новий вид, хоча за результатами делімітації виявлено більше потенційно нових таксонів (MOTU). Чому ви не описуєте більше видів? Чим обраний вид відрізняється від інших, які також чітко відокремлюються за результатами аналізу делімітації?
- Вид рака *Pontastacus leptodactylus* (за сучасною класифікацією) наведений в роботі як вид роду *Astacus*, чим це пояснити?
- Також на с. 147 є фраза «... відповідає дивергенції двох родів річкових раків *As. astacus* та *As. leptodactylus*», хоча йдеться про види (які насправді нині розглядаються в різних родах, хоча в дисертації наводяться в складі роду *Astacus*). Далі теж згадуються роди. Поясніть, будь ласка, ці таксономічні нюанси.
- В публікації Л.Фюредера та ін. (Füreder et al., 2009) продемонстровано узгодженість філогенії роду бранхіобделла з біогеографією аборигенних видів раків. У Висновках дисертації також йдеться про те, що філогенія бранхіобделід відповідає філогенії їхніх хазяїв – річкових раків. При цьому Ваше обговорення отриманих дерев переважно сконцентровано на специфічності окремих видів бранхіобделід до їхніх хазяїв. Чи можете Ви узагальнено порівняти отримані Вами результати з філогенетичними даними Л.Фюредера та ін. (2009), і вказати на основні доповнення до результатів попередників?
- Як пояснити те, що цікаві матеріали опубліковано в нерейтингових журналах? Адже серед видань, де опубліковано результати дисертації лише «*Ecologica Montenegrina*» – відомий журнал з фауністики безхребетних, зокрема водних – належить до Q2. Принаймні хотілося б сподіватися, що додаткові статті з теми дисертації невдовзі вийдуть друком у відомих рейтингових журналах. Чи це заплановано?

Однак варто наголосити на тому, що виявлені недоліки мають технічний характер, не впливають на представлені результати та висновки і жодним чином не знижують загальної позитивної оцінки роботи.

Загалом дисертаційна робота Марії Юріївни Шрестхи характеризується високою актуальністю, різноманіттю та сучасністю методичних підходів, значною новизною отриманих результатів. Результати представлені в достатній кількості публікацій, зокрема статтях що вийшли в фахових виданнях України та іноземному виданні, що входить до бази SCOPUS, та апробовані на достатній кількості міжнародних конференцій. Вимоги щодо академічної доброчесності не порушені.

Висновки дисертації ґрунтуються на великому обсязі первинного матеріалу, коректному аналізі даних та інтерпретації результатів. Дисертаційна робота є завершеною науковою працею та має високе наукове значення.

З огляду на актуальність теми, високий методичний рівень та обсяг досліджень, наукову новизну результатів розглянутої роботи, вважаємо, що дисертація Марії Юріївни Шрестхи «Бранхіобделіди Західної Палеарктики (Annelida: Branchiobdellida): систематика, географічне поширення та еволюція», відповідає 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 від 12 січня 2022 р. No 44 (редакція від 01.01.2024 р.). Дисертація оформлена згідно з вимогами Наказу МОН України від 12.01.2017 р. No 40 (із змінами, внесеними згідно з Наказом Міністерства освіти і науки No 759 від 31.05.2019 р.), а її автор Марія Юріївна Шрестха заслуговує на присудження ступеня доктора філософії з галузі знань 09 - Біологія за спеціальністю 091 – Біологія.

Офіційний опонент  
доктор біологічних наук, професор,  
член-кореспондент НАН України,  
завідувач відділу систематики  
ентомофагів та екологічних основ  
біометоду Інституту зоології  
імені І.І.Шмальгаузена Національної  
Академії Наук України

Олексій ГУМОВСЬКИЙ

## ГУМОВСЬКИЙ ОЛЕКСІЙ ВАСИЛЬОВИЧ

Результат перевірки підпису

Підпис вірний

П.І.Б.

ГУМОВСЬКИЙ ОЛЕКСІЙ ВАСИЛЬОВИЧ

РНОКПП

2675514710

Організація (установа)

ФІЗИЧНА ОСОБА

Код ЄДРПОУ

Посада

Час підпису (підтверджено кваліфікованою  
позначкою часу для даних від Надавача)

18:25:48 15.06.2025

Сертифікат виданий

КНЕДП АЦСК АТ КБ "ПРИВАТБАНК"

Серійний номер

5E984D526F82F38F0400000078EED001B04A6306

Тип носія особистого ключа

Захищений

Алгоритм підпису

dstu4145

Тип підпису

Кваліфікований

Формат підпису

CAAdES-T

Сертифікат

Кваліфікований



Голові разової спеціалізованої

вченої ради Харківського  
національного університету

імені В.Н. Каразіна

професору Дмитру ШАБАНОВУ

майдан Свободи 4, м. Харків,

61022

### **ВІДГУК**

Офіційного опонента, доктора біологічних наук, старшого дослідника, заступника директора з наукової роботи ДУ «Інститут морської біології НАН України» Віктора Олексійовича Демченко на дисертаційну роботу **ШРЕСТХИ Марії Юріївни «БРАНХІОБДЕЛІДИ ЗАХІДНОЇ ПАЛЕАРКТИКИ (ANNELIDA:BRANCHIOBDELLIDA): СИСТЕМАТИКА, ГЕОГРАФІЧНЕ ПОШИРЕННЯ ТА ЕВОЛЮЦІЯ»**, подану на здобуття наукового ступеня доктора філософії з галузі знань 09 – Біологія за спеціальністю 091 – Біологія.

#### ***Актуальність обраної теми дисертаційної роботи.***

Важливість вивчення Branchiobdellida, групи кільчастих червів, споріднених із п'явками, що зазвичай мешкають на ракоподібних, зокрема раках, зумовлена їхньою екологічною, еволюційною та прикладною роллю. Branchiobdellida — це особлива група кільчастих червів, які живуть переважно на прісноводних раках. Їхнє вивчення є важливим як з точки зору фундаментальної науки, так і з прикладного боку. Унікальність цієї групи полягає у специфічних симбіотичних зв'язках із господарями, здатності виконувати екологічні функції, а також у високій чутливості до змін у середовищі існування.

Одним з головних аспектів значення Branchiobdellida є їхня здатність утворювати різноманітні симбіотичні взаємини з раками — від мутуалізму до паразитизму. У разі мутуалістичних відносин ці черви виконують роль санітарів, очищуючи тіло раків від залишків їжі, обростань, водоростей і патогенних мікроорганізмів. Це покращує фізіологічний стан господаря й може навіть підвищувати його життєздатність. Проте за умов масового розмноження Branchiobdellida можуть почати пошкоджувати покриви рака,



спричиняючи стрес і підвищуючи ризик інфекцій. Отже, вони є важливими для розуміння складних міжвидових відносин у прісноводних екосистемах.

Ще один ключовий аспект — індикаторна роль цієї групи. Через свою біологію та вузьку спеціалізацію Branchiobdellida чутливо реагують на зміни у фізико-хімічних параметрах водного середовища, зокрема на вміст кисню, температуру, органічне забруднення. Це робить їх перспективними біоіндикаторами стану прісноводних водойм, особливо у контексті моніторингу якості середовища в природоохоронних зонах або в районах, де ведеться господарська діяльність.

У сфері аквакультури важливість вивчення Branchiobdellida також не можна недооцінювати. У сучасних умовах зростаючого інтересу до вирощування раків як об'єкта харчової промисловості, знання про симбіонтів і потенційних паразитів набуває прикладного значення. Ефективне управління популяціями Branchiobdellida на фермах може позитивно впливати на здоров'я та продуктивність ракоподібних.

Крім того, ця група є важливою з еволюційної та біогеографічної точки зору. Її представники займають проміжне положення між олігохетами та п'явками, що робить їх цікавими для досліджень у галузі систематики та філогенії. Їх видове розмаїття та регіональна специфіка також дозволяють простежити історичні процеси розселення та адаптації прісноводної фауни.

Таким чином, вивчення Branchiobdellida є важливим для комплексного розуміння функціонування прісноводних екосистем, аналізу міжвидових зв'язків, оцінки стану довкілля та вдосконалення методів у галузі аквакультури. Це перспективний напрям як для фундаментальних наукових досліджень, так і для практичної екології.

**Метою** дисертаційної роботи є комплексне вивчення бранхіобделід Західної Палеарктики, зокрема їхньої систематики, географічного поширення та еволюційних зв'язків, а також дослідження можливості зараження інтродукованих видів раків аборигенними бранхіобделідами.

Загалом окреслену мету автор досить повно розкрив в рамках дисертаційної роботи.

**Наукова новизна одержаних результатів проведених досліджень, їх наукова обґрунтованість та відповідність темі дисертації.** Враховуючи досить низький рівень вивченості даної групи тварин робота має велику новизну Автор роботи зазначає, що в рамках дослідження було:

1. Описано новий для науки вид *Branchiobdella* sp.n.
2. Розширено уявлення про межі ареалів виду *Branchiobdella hexadonta* та *Branchiobdella parasita*.



3. Уточнено таксономічний статус підвиду *Branchiobdella balcanica sketi*, що дозволило поставити під сумнів його валідність.

4. Виявлено декілька гаплогруп *Branchiobdella kozarovi*, що відображає еволюційну історію річкового рака - хазяїна *Astacus leptodactylus*.

5. Отримано нові дані щодо морфологічних особливостей та генетичної варіації виду *Branchiobdella parasita*, а також його географічного поширення в Україні.

6. Вперше отримано послідовності чотирьох генів для всіх досліджуваних видів бранхіобделід, що значно розширило можливості філогенетичного аналізу. Вперше отримано та розміщено в GenBank послідовності для *Branchiobdella kozarovi*.

7. Проведено модифікацію протоколів ампліфікації для отримання послідовностей зовнішньої групи (*Hemiclepsis marginata*), що дозволило побудувати мультилокусне філогенетичне дерево з високою підтримкою.

8. Продемонстровано філогенетичні зв'язки між видами бранхіобделід Західної Палеарктики.

9. Досліджено особливості локалізації видів бранхіобделід на річкових раках.

10. Досліджено особливості локалізації *Branchiobdella kozarovi* на річковому раку *Astacus leptodactylus* та інтродукованих видах раків, що дозволило з'ясувати можливість їхнього зараження.

У цілому тематика дисертаційного дослідження повністю відповідає визначеним цілям, спрямованим на розробку системного підходу до вивчення окремої систематичної групи. Запропоновані в роботі інноваційні рішення – з використанням сучасних методів досліджень логічно вписуються в обрану тематику та посилюють її наукову й практичну значущість.

**Оцінка рівня виконання наукового завдання та оволодіння здобувачем методологією наукової діяльності.**

Здобувач повністю реалізував наукове завдання, поставлене в дисертаційній роботі, що підтверджує високий рівень його фахової підготовки. Автором було проведено комплексне дослідження, яке включало морфологічний аналіз (стереомікроскопія, вивчення щелеп та сперматеки), філогенетичний аналіз (метод Максимальної правдоподібності та Баєсове висновування), а також геоінформаційні методи (QGis) для визначення ареалів поширення. В рамках молекулярно-генетичного аналізу автор вперше для даної групи тварин отримав послідовності чотирьох мітохондріальних (CO1, 16S) та ядерних (28S, ITS) генетичних локусів для восьми досліджуваних видів бранхіобделід Західної Палеарктики. Загалом у процесі роботи автор продемонстрував глибокі знання методології наукових досліджень, зокрема



просторового аналізу, моделювання екологічних процесів та оцінки біорізноманіття. Представлені результати засвідчують його самостійність, аналітичне мислення та вміння застосовувати міждисциплінарні підходи. Загалом, дисертація вирізняється науковою новизною й практичною цінністю.

***Зв'язок роботи з науковими програмами, планами та темами.***

Дисертаційне дослідження виконано в рамках наукових програм, спрямованих на вивчення біорізноманіття прісноводних екосистем Західної Палеарктики. Робота підтримувалася декількома грантами в період з 2009 - 2012 "Taxonomic status and ecology of key invertebrate species in continental waters of Europe/Ministry of Education and Science of Ukraine, Ministry of Education and Science of Slovenia", а з 2023 " року грантом Establishment of a molecular laboratory for the study of biodiversity/Science and Technology Center in Ukraine (STCU) and Academic Sanctuaries Fund". Це дозволило провести масштабні польові дослідження, молекулярно-генетичний аналіз та опублікувати результати у провідних наукових виданнях.

***Практичне і теоретичне значення роботи.*** Теоретичне значення дисертаційного дослідження Марії Юріївни полягає у отриманні нових знань про групу тварин які були малодосліджені. Робота спрямована на вирішення актуальних питань систематики, географічного поширення та еволюції бранхіобделід Західної Палеарктики, що робить її значущою для подальшого розвитку науки. Отримані результати мають важливе практичне значення для розуміння екологічних наслідків інтродукції екзотичних видів раків у водні екосистеми. Вони можуть бути використані для розробки заходів біобезпеки та карантинного контролю при ввезенні живих раків, що є особливо актуальним у контексті розвитку аквакультури. Крім того, результати дослідження можуть бути застосовані для розробки стратегій збереження аборигенних видів раків, які знаходяться під загрозою через інтродукцію чужорідних видів.

***Обсяг і структура дисертації.*** Структура дисертаційної роботи складена логічно й послідовно, що дозволило вирішити поставлені завдання. Дисертаційна робота складається з анотації, вступу, чотирьох розділів, висновків, списку використаних джерел, додатків. Загальний обсяг дисертації становить 241 машинописну сторінку, з яких основний текст викладено на 165 сторінках. Список використаних літературних джерел нараховує 170 англійською мовою.

У «Вступі» дисертаційної роботи обґрунтовано мету та основні завдання, методи досліджень, наукову новизну та практичне значення результатів дослідження.



У розділі 1 «**ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ**» автором аналізуються проблеми та перспективи вивченості даної групи тварин. Розділ складається з 6 підрозділів, в яких, за літературними даними описується загальна характеристика бранхіобделід та їх симбіотичні відносини з річковими раками. Характеризується регіон досліджень та описується видовий склад даної групи на території Західної Палеарктики. Досить детально характеризуються питання систематики видів роду *Branchiobdella*, їх походження та філогенію. Автор зазначає, що історично бранхіобделіди класифікувалися як п'явки, але згодом їх виокремили в окрему групу. Проте їх таксономічний статус залишається дискусійним через недостатню кількість досліджень. Це є раз підтверджує важливість та актуальність даного дослідження.

У розділі 2 «**МАТЕРІАЛ ТА МЕТОДИ**» автор розкриває методологічні підходи до проведення дослідження. Розділ складається з 6 підрозділів. Зазначається, що дослідження за темою дисертації проводилися протягом 2007-2024 років. У рамках роботи було обстежено близько 700 екземплярів річкових раків, які належать до 4 аборигенних та 3 інвазивних видів. З цих зразків було зібрано понад 4000 екземплярів бранхіобделід, що представляють 8 видів. Автор наводить інформацію щодо методів збору матеріалу та його обробки. Описуються методи та процеси збору зразків, їх фіксації, збереження, аналізу та ін.

Розділ 3. «**РЕЗУЛЬТАТИ. РІЗНОМАНІТТЯ**» складається з п'яти підрозділів, які всебічно описують таксономічні особливості досліджуваної групи. Так в підрозділі 3.1. «Таксономічна диференціація видів роду *Branchiobdella* за морфологічними та анатомічними ознаками» висвітлюються питання морфологічних відмінностей головного відділі з перистоміумом, тулубного відділу, заднього адгезійного диску. Такий аналіз дає можливість віднайти морфологічні відмінності між різними видами роду *Branchiobdella*. Даний підрозділ досить добре ілюстрований як оригінальними фото так і малюнками.

Підрозділ 3.2. «Фауна бранхіобделід Західної Палеарктики» дає уявлення про поширення видів в регіоні досліджень. Зазначається щодорослі бранхіобделіди були знайдені на ракоподібних із 146 локацій. З них на ракоподібних із 9 локацій були виявлені лише кокони бранхіобделід або вони взагалі не були інфіковані. Досліджені ракоподібні належали до п'яти видів: чотири автохтонні (аборигенні) види Західної Палеарктики- *Astacus astacus* (Linnaeus, 1758), *Austropotamobius torrentium* (Schränk, 1803), *Austropotamobius pallipes* (Lereboullet, 1858) та *Astacus leptodactylus*, а також інтродуковані види - *Orconectes limosus* (Rafinesque, 1817) та *Pacifastacus leniusculus* (Dana, 1852) з Північної Америки. Присутність *Pacifastacus leniusculus* була зафіксована у



двох локаціях на північному сході Словенії, тоді як полосатий рак *Orconectes limosus* був знайдений в одній словенській локації, «Тіха при Забарю» (1982 р), на території Білорусі (м. Брест) у 2009 р. та на о. Сицилія (колекція F. Maronne).

Для формування таксономічного опису використовувалися морфологічні ознаки. Попередні таксономічні описи різних авторів зосереджувалися на комбінації таких ознак, як щелепи, кількість зубців, зовнішня морфологія та особливо репродуктивні органи. При цьому автор зазначає що даний підхід ускладнює видову ідентифікації через неможливість через складність вивчення репродуктивної системи. Тому було запропоновано зосередитися на детальному спостереженні зовнішньої морфології бранхіобделід та пошуку відмінностей між видами на основі морфології їхніх щелеп, а саме: співвідношення довжини до ширини, кривизни базової лінії щелеп та розташування зубців. Такий підхід дозволив розробити морфологічні зовнішні ознаки які можуть використовуватися для ідентифікації видів, а саме співвідношення ширини першого сегмента тулуба до ширини четвертого та шостого сегментів тіла. Також даний підрозділ детально характеризує ідентифіковані види і описує їх поширення, особливості морфології, філогенетичне положення та генетичне різноманіття, асоціацію з хазяями та співіснування з іншими видами.

Підрозділ 3.3. «Філогенетична структура бранхіобделід Західної Палеарктики» презентує результати філогенетичного дослідження. На основі аналізу послідовностей гена *COI* автором було побудовано філогенетичне дерево, на якому виокремлено сім основних монофілетичних клад із високою бутстреп-підтримкою. Також зафіксовано значну генетичну диференціацію в межах досліджуваних видів із максимальними значеннями *p-distance* до 17% для *B. parasita*.

Новий вид *B. sp.n.* утворює кладу разом із іншими представниками. Вид *B. hexadonta* поділяється на дві субклади, тоді як *B. astaci*, *B. hexadonta*, *B. parasita* та *B. kozarovi* формують сусідні клади. Така структура може вказувати на спільні екологічні адаптації до тісного симбіотичного способу життя, але не на безпосередні філогенетичні зв'язки.

Підрозділ 3.4. «Делімітація видів роду *Branchiobdella*» представляє результати молекулярно-генетичного аналізу, спрямованого на визначення меж видів за допомогою таких інструментів делімітації, як ASAP, ABGD, bPTP. Також представлено діапазони внутрішньовидових некорегованих парних відстаней (p-відстаней) всередині та між монофілетичними групами видів *Branchiobdella* за локусом *COI* та декількома локусами.



Підрозділ 3.5. «Обговорення розділу. Таксономічна ревізія роду *Branchiobdella*» присвячений аналізу еволюційних зв'язків, морфологічної мінливості та сучасного стану популяцій окремих видів. Автором аналізуються причини зниження чисельності окремих представників роду *Branchiobdella*.

Розділ 4. «РЕЗУЛЬТАТИ. СИМБІОТИЧНІ ВІДНОСИНИ» присвячений опису життєвих циклів *Branchiobdella* та їх симбіотичним відносинам. Встановлено, що деякі види *Branchiobdella*, вивчені в дисертаційному дослідженні, виявилися гнучкими у виборі хазяїв та мають широке географічне поширення. Симбіотичний вид *B. hexadonta*, який мешкає у зябровій камері, був виявлений на всіх досліджуваних видах раків і зустрічався у різних комбінаціях з усіма ідентифікованими видами бранхіобделід. Мікрохижак *B. parasita* спостерігався на *As. astacus* та *Au. torrentium*, співіснуючи з ектокоменсальним європейським видом *B. pentadonta*. Автор зазначає, що два найбільші види бранхіобделід, *B. astaci*, який мешкає на зябрах, та мікрохижак *B. parasita*, також були виявлені разом на одному хазяїні, що свідчить про розділення екологічних ніш та відсутність конкуренції за їжу між ними.

ВИСНОВКИ роботи є логічними та чітко характеризують отримані результати досліджень.

Загалом дисертаційна робота Шрестхи М.Ю. безперечно є актуальною, має належний рівень наукової новизни та практичне значення.

**Водночас в ході ознайомлення з роботою виникли наступні зауваження:**

1. Підрозділ 1.2. «Характеристика регіону» знаходиться в розділі 1. «Огляд літератури», але така структура видається не дуже вдалою. На нашу думку цей підрозділ описує регіон дослідження, певні екологічні умови, приналежність до водних басейнів. Отже, він має чітко характеризувати типи досліджуваних водойм. Традиційно таку інформація розглядають в окремому розділі, або об'єднують з описом методів досліджень у розділі «Характеристики регіону та методи досліджень». Звісно, автор має право й на такий спосіб викладення матеріалу, але це відрізняється від усталених стандартів.
2. Розділи 3 і 4 містять підрозділи «Обговорення розділу», що є відхиленням від традиційної структури дисертаційних робіт. Оскільки ці частини є досить розлогими та самостійними, їх важко сприймати як стислі узагальнення, які зазвичай завершують розділи.
3. У підрозділі 4.4. Вашої роботи значний обсяг аналізу ґрунтується на літературних джерелах, зокрема у розділі про вплив на стан популяцій



(1,5 сторінки). Власні експериментальні або аналітичні дані щодо впливу бранхіобделід на популяційну динаміку річкових раків представлені в обмеженому обсязі.

4. Враховуючи, що в роботі висвітлюються питання інвазій бранхіобделід на різних видах раків в тому числі і чужорідних, було би бажано отримати окремі рекомендації щодо розробки заходів біобезпеки та карантинного контролю при ввезенні живих раків, що є особливо актуальним у контексті розвитку аквакультури.
5. Висновки в цілому відображають основні результати дослідження, але їхнє викладення є дещо нерівномірним. Проте це не зменшує наукову та практичну цінність дисертації, яка ґрунтується на достовірних результатах і відповідає основним положенням роботи.

Також маю запитання:

1. Який вплив мають бранхіобделіди на популяційну динаміку річкових раків? Чи спостерігали ви кореляції між інтенсивністю інвазії та змінами чисельності чи вікової структури популяцій річкових раків?

Наведені зауваження не применшують значення дисертаційного дослідження. Рекомендації щодо біобезпеки та глибшого аналізу впливу бранхіобделід на популяції раків можуть стати цінним напрямком для подальших досліджень.

**Висновок щодо дисертаційної роботи.** Дисертаційна робота ШРЕСТХИ Марії Юріївни «БРАНХІОБДЕЛІДИ ЗАХІДНОЇ ПАЛЕАРКТИКИ (ANNELIDA:BRANCHIOBDELLIDA): СИСТЕМАТИКА, ГЕОГРАФІЧНЕ ПОШИРЕННЯ ТА ЕВОЛЮЦІЯ» – завершене нове наукове дослідження, що виконане здобувачем самостійно.

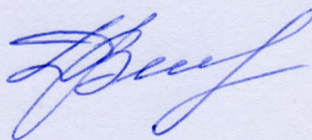
Робота присвячена вивченню бранхіобделід Західної Палеарктики, зокрема їхньої систематики, географічного поширення та еволюційних зв'язків, а також дослідження можливості зараження інтродукованих видів раків аборигенними бранхіобделідами.

На підставі проведеного аналізу можна зробити висновок, що кваліфікаційна наукова праця Марії Юріївни «БРАНХІОБДЕЛІДИ ЗАХІДНОЇ ПАЛЕАРКТИКИ (ANNELIDA:BRANCHIOBDELLIDA): СИСТЕМАТИКА, ГЕОГРАФІЧНЕ ПОШИРЕННЯ ТА ЕВОЛЮЦІЯ» за ступенем актуальності обраної теми, обґрунтованості наукових положень, висновків сформульованих у дисертації, їх новизни, повноти викладу в наукових публікаціях, зарахованих за темою дисертації, відсутністю порушення академічної доброчесності,



оформлена відповідно до вимог «Про затвердження вимог до оформлення дисертації», затвердженого наказом Міністерства освіти і науки України № 40 від 12 січня 2017 року. Також робота відповідає 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 та «Про внесення змін до деяких постанов Кабінету Міністрів України з питань підготовки та атестації здобувачів наукових ступенів», затвердженої Постановою Кабінету Міністрів України № 502 від 19 травня 2023 року, а автор цієї роботи, ШРЕСТХА Марія Юріївна, заслуговує на присудження наукового ступеня доктора філософії зі спеціальності 091 – Біологія.

Офіційний опонент,  
заступник директора з наукової роботи  
ДУ «Інститут морської біології НАН України»,  
доктор біологічних наук,  
старший дослідник



Віктор ДЕМЧЕНКО

*Підпис В.О. Демченко засвідчую*  
*Головний директор*  
*ДУ "ІМБ НАН України"*



*Опий Анастасія Овченко*

ПРОТОКОЛ  
створення та перевірки кваліфікованого та удосконаленого електронного підпису

Дата та час: 13:56:22 12.06.2025

Назва файлу з підписом: Відгук\_Демченко\_Шрехста.pdf.asice  
Розмір файлу з підписом: 5.3 МБ

Перевірені файли:  
Назва файлу без підпису: Відгук\_Демченко\_Шрехста.pdf  
Розмір файлу без підпису: 5.3 МБ

Результат перевірки підпису: Підпис створено та перевірено успішно. Цілісність даних підтверджено

Підписувач: ДЕМЧЕНКО ВІКТОР ОЛЕКСІЙОВИЧ  
П.І.Б.: ДЕМЧЕНКО ВІКТОР ОЛЕКСІЙОВИЧ  
Країна: Україна  
РНОКПП: 2882711756  
Організація (установа): ФІЗИЧНА ОСОБА  
Час підпису (підтверджено кваліфікованою позначкою часу для підпису від Надавача): 13:56:18 12.06.2025  
Сертифікат виданий: КНЕДП АЦСК АТ КБ "ПРИВАТБАНК"  
Серійний номер: 5E984D526F82F38F040000007E55B20113B3F405  
Алгоритм підпису: ДСТУ 4145  
Тип підпису: Удосконалений  
Тип контейнера: Підпис та дані в архіві (розширений) (ASiC-E)  
Формат підпису: З повними даними для перевірки (XAdES-B-LT)  
Сертифікат: Кваліфікований

Версія від: 2025.02.05 13:00