

Відзив

офіційного опонента на дисертаційну роботу Брена Олександра Геннадійовича «Водорості солоних приморських водойм Приазовського національного природного парку», представлену на здобуття вченого ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.05 – ботаніка

Актуальність. Пізнання та збереження біорізноманіття, його раціональне використання для забезпечення сталого розвитку людства є однією з пріоритетних задач світової спільноти, актуальність якої обумовлена Конвенцією про біорізноманіття (1992) та Стратегічним планом в галузі збереження та стійкого використання біорізноманіття на 2011-2020 р.

В межах нашої держави територія Приазовського НПП охоплює більшу частину українського узбережжя Азовського моря, включаючи особливо цінні в природоохоронному, рекреаційному та економічному аспектах локації. В деяких з них, зокрема, приморських водно-болотяних угіддях, санаторно-курортних зонах, родовищах приморських пелоїдів, водорості відіграють особливу роль як провідні продуценти органічної речовини, ключові агенти самоочищення вод, фактори формування умов консервації гідротроеліту, інших біологічно-активних речовин з терапевтичними властивостями, обумовлюючи формування лікувального мулу.

Водорості приазовських водойм неодноразово привертала увагу дослідників різного профіля (біологів, екологів, гідрогеологів, медиків, тощо), проте фундаментальні альгологічні питання про склад, поширення, угруповання, багаторічну динаміку, тенденції трансформації водоростевої біоти водойм українського Приазов'я і досі залишаються фрагментарними. Саме цим питанням присвячено дисертаційну роботу О.Г.Брена, що, власне, і визначає її актуальність.

Наукова новизна роботи.

1. Найбільший інтерес з точки зору наукової новизни, на думку опонента, являє положення висновку №8, згідно з яким протягом останніх 20-30 років альгофлора та водоростеві угруповання Приазовських водойм (особливо – лимани озерного типу та ефемерні водойми) відчують помітну трансформацію в напрямку аридизації, яка супроводжується зростанням в альгоугрупованнях частки наземних та амфібіальних галофільних видів при зменшенні участі водних оліго- та мезогалобних форм. Особливу увагу і занепокоєння привертає факт трансформації найбільшого в межах України приазовського лиману – Молочного – з оліго-мезогалобного лиману лагунного типу в мезо-еугалобний лиман озерного типу з частими випадками його часткового пересихання. Аналогічне явище, хоча й в менших масштабах,

відмічено і для Тубальського лиману. Цей процес виявлений саме на основі ретроспективного аналізу динаміки водоростевих угруповань. На думку опонента, висновок №8 варто було б заявляти як основне положення, яке виноситься на захист.

2. Конспект флори. Друге фундаментальне положення наукової новизни слідує з аналізу конспекту флори водоростей Приазовського ННП. Він складений на основі літературних та оригінальних даних і включає відомості про 437 видів водоростей. Інтерес викликає аналіз пропорції видів, наведених в літературних джерелах (378 видів) та виявлених дисертантом (153 види): дисертант підтверджує наявність у рецентній альгофлорі 94-х видів з 378-и, які цитуються у літературі, наводить 59 видів, нових для даної території і не підтверджує власними даними 284 інших види. Ці дані також використані для формулювання висновку №8: різноманіття водоростей в межах Приазовського НПП наразі зменшується, хоча пропорції розподілу видів по відділах в цілому зберігається. Опонент проаналізував це положення, виходячи з методів збору та обробки оригінального матеріалу дисертантом, і не виявив методичних причин, які могли б обумовити таку розбіжність літературних та оригінальних даних: дисертант використав ті ж методи збору матеріалу (як гідробіологічні, та і ґрунтово-альгологічні), що і його попередники, обсяг відібраних проб достаній – на 10-и полігонах відібрано 148 проб, переважно об'єднаних (еквівалент не менше 3-х тис. індивідуальних проб), ідентифікація проведена з застосуванням трьох основних підходів – пряма мікроскопія живого матеріалу, мікроскопія фіксованого матеріалу та ідентифікація культурального матеріалу. При цьому методичний спектр, порівняно з попередниками, розширений – при застосуванні культуральних методів використано не лише накопичувальні культури, але й ідентифікація матеріалу за альгологічно чистими культурами. Крім того, при ідентифікації двох критичних видів-домінантів альгоугруповань Молочного лиману та ефемерних водойм Степанової коси дисертантом було застосовано метод молекулярно-генетичної ідентифікації за послідовностями ITS1-ITS2 кластеру ядерних рибосомальних генів. Таким чином, обсяг обробленого матеріалу, набір методів та методик, використаних при ідентифікації, дозволяє вважати факт зменшення видового багатства водоростей в приазовських водоймах достовірним.

Зауваження 1. Єдиний сумнів, який виник у опонента, стосується повноти оригінального списку діатомових водоростей, оскільки чимало видів *Bacillariophyta* для ідентифікації потребують застосування методів скануючої електронної мікроскопії, яку дисертант не використовував.

Зауваження 2. В дисертації не вказано, скільки всього було виділено штамів мікродоростей та які види було ідентифіковано за цими штамми.

3. Нові для території Приазовського НПП види водоростей.
Дисертантом вперше для території Приазовського НПП відмічено 59 видів водоростей, що представляють 5 відділів. Переважна більшість нових для території видів належать до Cyanoprokaryota, Bacillariophyta та Chlorophyta. Більшість нових знахідок обумовлена використанням дисертантом, порівняно з попередниками, нових європейських флористичних видань серії "Sußwasserflora von Mitteleuropa". Для території Причорномор'я-Приазов'я більшість цих видів не є рідкісним, за винятком занесеного до Червоної книги України *Lamprothamnium papulosum* та двох кокоїдних зелених водоростей, ідентифікованих як *Chlorella sp.* (штам АВ-31) та *Desmodesmus sp.* (штам АВ-25). Розширення уявлень про видове багатство регіональної флори Приазов'я, включаючи новий локалітет виду з Червоної книги, є суттєвим елементом наукової новизни роботи.

Зауваження 3. Хоча дисертантом і виділено підрозділ 4.2 «Нові знахідки видів водоростей для території Приазовського НПП», аналіз новизни конкретних видів в цьому підрозділі має лише констатаційний характер. Самі ж нові для території види наведені лише в Додатку Ж, з якого також не зрозуміло причини новизни.

4. *Chlorella sp.* (штам АВ-31) та *Desmodesmus sp.* (штам АВ-25) як ймовірні нові для науки види. Усталена думка про те, що водорості солоних водойм з точки зору біорізноманітності вивчені погано і включають багато криптичних видів, які лише помилково ідентифікуються як добре відомі, підтверджується результатами, які отримав дисертант під час спроби молекулярно-генетичної ідентифікації двох *Chlorella*-подібних штамів зелених водоростей (АВ-31 та АВ-25), які входили до складу домінантів альгоугруповань Молочного лиману та ефемерних водойм Степанівської коси. За фенотипом обидва штами нагадують *Chlorella vulgaris* з незначними відхиленнями, які стосуються агрегації клітин, поведінки спорангію при виході автоспор та форми хлоропласту. Для більш точної ідентифікації дисертант виділив ДНК та ампліфікував ядерну послідовність ITS1-ITS2, відправив амплікони на секвенування та здійснив пошук секвенованого фрагменту в колекції послідовностей NCBI, використовуючи алгоритм BLAST. Результати пошуку показали відсутність ідентичних сіквенсів у Генбанку, і продемонстрували для штаму АВ-31 лише віддалену схожість з неідентифікованими до виду представниками родів *Micractinium*, *Parachlorella* та *Chlorella* (схожість 75-76%), а для штаму АВ-25 – з шістьма послідовностями неідентифікованих до виду представників роду

Desmodesmus. Дисертант на запит опонента, надав останньому первинні хроматограми послідовностей для перевірки.

Опонент незалежно проаналізував ці сіквенси та підтверджує: а) високу якість сіквенсів та придатність їх для ідентифікації; б) відсутність ідентичних сіквенсів у Генбанку; в) можливу таксономічну новизну об'єктів, з яких виділено секвеновані послідовності.

Зауваження 4. Попри дуже схвальну оцінку спроби молекулярно-генетичної ідентифікації складних у таксономічному відношенні мікроводоростей, опонент вважає, що дисертант не використав всіх можливостей біоінформаційної обробки отриманих ним маркерних послідовностей.

Зауваження має наступну аргументацію. По-перше, дисертант не повністю відредагував послідовності. Так, АВ-25 був ідентифікований за діапазоном 16-528 н.о. хроматограми, тоді як якісний сегмент без шуму представлений діапазоном 149-519 н.о. хроматограми, не відредагував SNP в 299-му сайті, що підвищило розбіжність з найближчим сіквенсами (опонент отримав мах схожість 99.7% з MN746324 *Desmodesmus* sp. з солоних водойм В'єтнаму замість 99.28%, як це вийшло у дисертанта). Штам АВ-31, послідовність якого який без застосування редагувань та реципрокного BLAST демонструє лише віддалену схожість (до 76%) з *Micractinium*, *Parachlorella* та *Chlorella*, при використанні фільтрів, звуженні розміру запиту на основі реципрокного BLAST (діапазон 111-175 н.о. хроматограми) показує схожість 90.32% з неідентифікованим до виду *Micractinium* sp. MN636691. По-друге, дисертант, на жаль, не здійснив спроби визначення місця досліджених штамів в системі зелених водоростей і не спробував використати інструмент, передбачений саме для таких випадків – побудову молекулярно-філогенетичних дерев та їх аналіз. Тому твердження дисертанта, що штамів АВ-25 та АВ-31 можуть розглядатись як види, нові для науки, наразі слід вважати лише високо ймовірним припущенням, а отримані дисертантом результати – фактом, який, в першу чергу, підтверджує тезу про неповноту наших таксономічних знань про галофільну альгофлору.

5. Опис складу, поширення, макроскопічних характеристик різних альгогруп Приазовського НПП (їх на домінантній основі виділено 12) є ще одним елементом наукової новизни. В цій частині дисертаційна робота є продовженням та поглибленням напрямку, в якому працює науковий керівник дисертанта.

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків та рекомендацій, які наведені в дисертації, сумнівів не викликала, первинні дані наведені з достатньою повнотою. Аналітична обробка флористичних

даних та статистичні обробки виконані за усталеними у вітчизняній альгології схемами, і показують адекватність отриманих висновків.

Зауваження 5. Всі види, які є новими для території, слід було проілюструвати оригінальними мікрофотографіями та/або рисунками з демонстрацією тих суттєвих ознак, які підтверджують саме таку версію видової ідентифікації. В дисертації ця рекомендація виконана лише частково – у Додатку Е.

Повнота викладу матеріалів дисертації у друкованих працях достатня, рівень публікацій хороший – 5 статей у журналах, що індексовані в SCOPUS (Ukr.J.Ecol. - 2 статті, включно з попередньою назвою журналу), Int.J.on Algae (3 статті), а також матеріали 13-и конференцій.

Позитивні та негативні риси дисертації.

Як головну позитивну рису опонент відмічає досягнення фактичної мети роботи: сучасні альгологічні дані в поєднанні з ретроспективним аналізом вказують на стрімку (протягом чверті сторіччя) трансформацію екосистем Північного Приазов'я в бік аридизації з СУТТЕВОЮ супутньою втратою водоростевого різноманіття на видовому рівні, включаючи зникнення з території Приазовського НПП раритетних видів водоростей-макрофітів, включених до Червоної книги України (*Chara canescens*, *Ulva maeotica*, *Cladophora vadorum*), не помітити яких (у випадку їх наявності) дисертант просто не міг. Інші позитивні риси роботи в цілому відображені при розгляді наукової новизни.

Зауваження 6. Як негативну рису опонент відмічає технічний недолік у формулюванні мети («...визначити сучасний стан та основні тенденції гідроекологічних процесів...»), з якого слідує, що об'єктом дослідження були не водорості, а гідроекологічні процеси. Це не узгоджується з усім текстом дисертації, з якого однозначно слідує, що об'єктом дослідження все ж такі були саме водорості та їх угруповання, що відповідає паспорту спеціальності 03.00.05 – ботаніка, а не іншим спеціальностям (наприклад, 03.00.16 – екологія).

Зауваження 7. Іншим прикрим технічним недоліком роботи є низький рівень редакторської обробки тексту. Зокрема, наявні численні русизми, російськомовна та англомовна «кальки» у термінології, є недбало сформульовані речення, стилістичні помилки, розбіжності у нумерації літературних джерел в електронному та друкованому варіантах (зокрема, в друкованому варіанті через автозаміни нумерація «попливла», що вельми ускладнило аналіз роботи з твердою копією). Через недоопрацьованість структури заголовків та системи представлення матеріалу зовсім незадовільно сприймається таблиця Додатку Ж, яку у частині надвидових

таксонів можна зрозуміти лише за допомогою логічних припущень. Проте, все ж таки, фактичний позитив достовірності, новизни та значення голсвних результатів однозначно бере гору над технічними недоліками і однозначно обумовлює позитивний висновок щодо дисертації.

Висновок. Дисертаційна робота «Водорості солоних приморських водойм Приазовського національного природного парку» відповідає Порядку присудження наукових ступенів та присвоєння вчених звань від 24 липня 2013 р., а її автор – Брен Олександр Геннадійович – заслуговує на присудження вченого ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.05 – ботаніка.

Офіційний опонент
професор кафедри біології рослин
Київського національного університету
імені Тараса Шевченка,
доктор біологічних наук, професор



Igor КОСТИКОВ

Підпис професора Костікова засвідчую.
Заступник директора ННЦ «Інститут біології та медицини»
Київського національного університету імені Тараса Шевченка



Тетяна Мариченко