

ВІДЗИВ

офіційного опонента на дисертаційну роботу Незбрицької Інни Миколаївни „Особливості функціонування представників Chlorophyta та Cyanoprokaryota за умов підвищення температури водного середовища”, подану до захисту на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.17 – гідробіологія.

Актуальність теми. Дисертація Незбрицької Інни Миколаївни „Особливості функціонування представників Chlorophyta та Cyanoprokaryota за умов підвищення температури водного середовища” присвячена дослідженню якісних і кількісних характеристик впливу температури на представників різних видів прісноводних водоростей у модельних умовах за коротко- та середньо- тривалого періоду їх культивування у поживному середовищі і розвитку водоростевих угруповань у природних умовах за високотемпературного градієнту. Вивчення системного відклику (відповідь, реакція) прісноводних водоростей на дію високих температур водного середовища є надзвичайно актуальним, оскільки в даний час достатньо відомі лише системні регуляції температурами метаболізму у наземних видів, що використовується в рослинництві. Разом з тим, саме розуміння механізмів температурного стресу на водорості в умовах глобальних змін клімату дало б можливість об'єктивніше встановити причини і напрямки розвитку окремих видів фітопланктону у природних умовах, і в перспективі створити функціональні моделі якісного і кількісного розвитку фітогідробіоти і способи його регуляції температурними засобами як з метою культивування популяцій біотехнологічно важливих водоростей, так і для покращення екологічного стану природних водойм та забезпечення у них якості води. Оскільки саме такою є методологія рецензованої роботи, то з цієї точки зору її можна вважати достатньо актуальною.

Використаною моделлю аналізу динаміки і функціональної активності (за фізіологічними і метаболічними показниками) мікроводоростей у зв'язку з зміною температури їх культивування як екологічного фактору робота вносить певний вклад у теорію і практику фізіології, біохімії та екології прісноводних водоростей і прогнозування можливого розвитку їх популяцій.

Новизна наукових положень і результатів, отриманих особисто здобувачем і поданих на захист. Метою роботи визначено дослідження фізіологічного і метаболічного відклику (відповідь, реакція) окремих видів водоростей на температурні зміни водного середовища. Треба зазначити, що проблемі термоекотологічної стійкості окремих видів водоростей увага приділяється давно, проте ці дослідження стосувалися переважно дії абіотичних факторів природного водного чи модельного середовища на динаміку водоростевих угруповань. Ця робота

розглядає дію виключно температурного фактору, оскільки гідрохімічні та культуральні умови вирощування водоростей стандартизовані. Крім того, результати роботи розглядаються як з точки зору гідробіологічних позицій, так і обговорюються в контексті біохімічних (метаболических) змін, що мало аналізувалися в сучасній популяційній та біопродукційній гідроекології раніше. Рецензована дисертація вигідно відрізняється тим, що ставить за мету комплексну оцінку розвитку водоростей з встановлення причинно-наслідкових зв'язків між регуляторним фактором (температура) і реакцією на її зміни представників синьо-зелених та зелених водоростей.

Зупиняючись на найважливіших отриманих результатах і положеннях, зауважимо, що вкрапель вперше виявлених еколого-фізіологічних ефектів для використаної моделі в роботі є достатньо багато.

На підставі експериментальних та натурних досліджень встановлено температурно-сприятливі умови для росту зелених мікроводоростей *Desmodesmus communis* та *Tetraedron caudatum* (20 °C) та ціанопрокаріоти *Aphanocapsa planctonica* (26 та 32 °C) і повне пригнічення росту як зелених мікроводоростей, так і ціанопрокаріот за температури 38 °C. Ця закономірність співвідноситься з вмістом хлорофілу *a* в модельних умовах, а в природних умовах між вмістом хлорофілу *a* у біомасі (Хл. *a*/Б) літнього фітопланктону мілководдя Канівського водосховища і температурою води встановлена обернена залежність.

Енергетичний обмін характеризується у зелених водоростей терморезистентністю, а у ціанопрокаріот за температури 32 °C із виходом культур на стаціонарну фазу росту відбувається повне інгібування циклу Кребса. При цьому має місце роз'єднання окиснення і фосфорилування та порушення функціонування дихального ланцюга. Показано, що за температури 26 °C порівняно з 20 °C у представників Chlorophyta та Cyanoprokaryota відбувається активування глутаматдегідрогеназного шляху енергозабезпечення. Натомість за температури 32 °C як анаболічна, так і катаболічна глутаматдегідрогеназа пригнічується, тобто спостерігалось порушення глутаматдегідрогеназної гілки метаболізму азоту.

Встановлено, що у *Phormidium autumnale* f. *uncinata* за екстремально високих температур зміни фізіолого-біохімічних показників виявилися найменшими порівняно з *Aphanocapsa planctonica* та зеленими мікроводоростями, що свідчить про більшу стійкість до високої температури представника нитчастих перифітонних ціанопрокаріот *Ph. autumnale* f. *uncinata*.

Оксидативний статус водоростей за зростання температури забезпечується переважно супероксиддисмутазою, глутатіонпероксидазою та каталазою, а за температури 32 °C у старіших культур - за рахунок збільшення вмісту каротиноїдів і фікобіліпротеїнів.

Виходячи з зазначеного авторкою роботи, досягнуто поставлених теоретичних та практичних завдань, зміст досліджень розкриває розглядувану проблему, глибина досліджень достатня для обґрунтування гіпотези та формулювання зроблених висновків.

Дисертаційна робота виконана в контексті програм досліджень Інституту гідробіології НАН України, що мають відповідну державну реєстрацію.

Дисертаційна робота Незбрицької І.М. побудована за традиційною схемою та містить: вступ, огляд літератури, відомості про використані матеріали та методи, чотири експериментальних розділи, узагальнення, висновки та список використаної літератури.

У вступній частині роботи викладено загальні принципи сучасного тлумачення проблеми, абсолютно справедливо зазначено слабку дослідженість і актуальність розуміння механізмів температурної регуляції життєдіяльності мікрowodоростей.

У літературному огляді, аналізуючи, насамперед, дані з екології водоростей, авторка дисертації відзначає досягнення і недоліки ряду робіт з факторіального впливу на їх життєдіяльність. Варто відзначити виокремлений аналіз питань про метаболічні основи протейнової реакції у водоростей на зміни температури, що може бути одним з визначальних чинників функціонування альгопопуляцій.

Розділ 2 «Об'єкти та методи досліджень» містить відомості про досліджені види, умови їх культивування, методику постановки експериментів за вирощування представників зелених та синьозелених водоростей. Логіка вибору кожного окремого виду загалом зрозуміла, хоча окремо наукова аргументація цього не зазначається.

Оцінку росту і розвитку культур встановлювали за статистичними показниками популяційної динаміки (с. 59), проте, при цьому, дискусійним залишається питання щодо відповідності культур критеріям популяцій.

Фізіолого-біохімічні дослідження здійснено згідно широко використовуваних у вітчизняній науці методів лабораторного аналізу вмісту метаболітів та активності ензимів.

Розділ 3. «Вплив різної температури на інтенсивність росту та вміст фотосинтетичних пігментів у представників Chlorophyta та Cyanoprokaryota» присвячений дослідженню біомаси водоростей *Desmodesmus communis* за температур 20, 26 та 32 °C. *Aph. planctonica* порівняно з *D. communis* та *T. caudatum* пристосована до існування за вищих температур водного середовища, проте, за екстремально високої температури у *Aph. planctonica*, як і у зелених водоростей, спостерігалось повне пригнічення росту.

За підвищених значень температури культивування (26 та 32 °C порівняно з 20 °C) у обох представників Chlorophyta та Cyanoprokaryota простежувалось зростання вмісту каротиноїдів, що пояснюється їх захисною функцією. За температури 38 °C в усіх досліджуваних видів спостерігалось зниження вмісту каротиноїдів. Слід

відмітити, що інгібуючий вплив вказаної температури на біосинтез каротиноїдів був менш вираженим, ніж на біосинтез хлорофілу *a*. Для Канівського водосховища у літній сезон у фітопланктоні за екстремально високих температур зменшувався не лише вміст хлорофілу *a*, але і сумарний вміст каротиноїдів. Зниження в природних умовах спостерігалось за нижчих температур, ніж в культурах ціанопрокаріот.

Експериментальні результати, подані в розділі 4 «Зміни активності ферментів дихального метаболізму у представників Chlorophyta та Cyanoprokaryota за різних температур», стосуються комплексу фізіологічних показників життєдіяльності водоростей за їх культивування у визначених параметрах експериментальних моделей. Авторкою роботи показано, що енергетичний обмін характеризується у зелених водоростей терморезистентністю, а у ціанопрокаріот за температури 32 °C із виходом культур на стаціонарну фазу росту відбувається повне інгібування циклу Кребса. При цьому має місце роз'єднання окиснення і фосфорилування та порушення функціонування дихального ланцюга.

В розділі 5 Показано, що за температури 26 °C порівняно з 20 °C у представників Chlorophyta та Cyanoprokaryota відбувається активування глутаматдегідрогеназного шляху енергозабезпечення. Натомість за температури 32°C як анаболічна, так і катаболічна глутаматдегідрогеназа пригнічується, тобто спостерігалось порушення глутаматдегідрогеназної гілки метаболізму азоту.

В розділі 6 «Стан прооксидантної та антиоксидантної систем представників Chlorophyta та Cyanoprokaryota за дії підвищених температур» подано експериментальні дані про оксидативний статус водоростей за зростання температури і встановлено, що він забезпечується переважно супероксиддисмутазою, глутатіонпероксидазою та каталазою, а за температури 32 °C у старіших культур за рахунок каротиноїдів і фікобіліпротеїнів.

Обґрунтованість і достовірність наукових положень і висновків, які захищаються. Обґрунтованість і достовірність наукових положень і висновків, які захищаються, сумнівів не викликають: фактичний матеріал викликаний детально, методики є обґрунтованими. Робота в межах поставлених задач виконана на належному рівні. Матеріали дисертації викладені аргументовано, на великому фактичному матеріалі. Авторка є виконавицею на всіх етапах дослідження.

Висновки роботи витікають із її результатів і загалом є достатньо аргументованими, проте надмірно подрібненими і можуть бути об'єднані за принципом характеристики окремих метаболічних процесів водоростей за підвищених температур.

До роботи можна висловити окремі загальні зауваження і побажання:

1. У літогляді при описанні БТШ і ензимів антиоксидантного захисту наведено загальнотеоретичну інформацію. Достатньо було обмежитися посиланнями щодо їх змін у водоростей за різних температур.

2. У натурних дослідженнях проаналізовано можливість впливу на водорості поряд з температурними змінами вмісту сполук фосфору та нітрогену. Чи не впливали інші чинники: вміст кисню, рН, забруднення важкими металами, ПАР, нафтопродуктами тощо? Якщо ці показники не досліджувалися, то варто було б дати посилання на авторитетні дослідження з гідрохімічного стану водойми, з якої аналізували водорості.

3. Варто було б прорахувати коефіцієнти кореляції змін метаболічно взаємопов'язаних (спряжених) ензимів сукцинатдегідрогенази та цитохромоксидази (с. 88), що дало б можливість чітко встановити або зниження оксидативного шляху енергезабезпечення за зміни температур, або настання стану роз'єднання окиснення та фосфорилування чи опосередковано підтвердило альтернативного шляху окиснення енергетичних субстратів.

4. Пояснення функціонального значення каталази завужене, адже її функція у рослин значно ширша, наприклад як джерела кисню чи захисна. Чи є ці функції каталази у досліджених водоростей? Каталаза не є специфічним ферментом антиоксидантного захисту. Наочнішою є активність супероксиддисмутаз.

5. Пояснення ролі вільнорадикальних процесів тільки як патологічного процесу вимагає глибшої аргументації, бо вони є і в нормі як сигнальні і регуляторні процеси і змінюються в рази в одній і тій самій клітині залежно від рівня фізіологічної активності клітин (організму) та впродовж доби.

6. В «Узагальненні» варто було б спрогнозувати та виокремити метаболічні і екологічні механізми температурного впливу на досліджені водорості. Крім того, авторка роботи могла б диференціювати поняття «термочутливість» та «терморегуляція життєдіяльності» водоростей, та, опираючись на літературні відомості, намагатися встановити, чим є виявлені зміни: адаптивною відповіддю в межах норми реакції, чи, зважаючи на «еволюційний вік» досліджених видів, генетично детермінованими властивостями.

Проте зазначені дискусійні питання не знижують цінності очевидних надбань дисертаційного дослідження.

Список використаних в дисертації джерел містить 305 назв, що свідчить про досить широке залучення фахової літератури з проблеми дисертації. Проте є сумнів щодо доцільності цитування малоактуальних на сьогодні джерел: №№ 2, 6, 53, 66, 93, 187 (1964 р.), 279 тощо.

Робота викладена науковою мовою. До граматичних конструкцій зауважень майже немає. Однак слід звернути увагу на наявності в тексті роботи окремі недоречні вислови: „... значення показника стрімко падає ... ” (с. 45); „...гасники синглетного кисню ... ” (с. 50); „...дихання виступає... ” (с. 83) тощо.

Не зважаючи на низку недоречностей та неточностей, виявлених в роботі, проведене дослідження, без сумніву, є цілісним, доводить специфіку формування

комплексної фізіолого-метаболическої відповіді клітин водоростей на зростання температури води, що позначається на функціональній здатності водоростей загалом.

Результати роботи, згідно вимог до кандидатських дисертацій, достатньо повно опубліковані у виданнях необхідного наукового рівня і апробувалися на наукових зібраннях достатнього рівня. Встановленим вимогам відповідає структура роботи, вона добре ілюстрована.

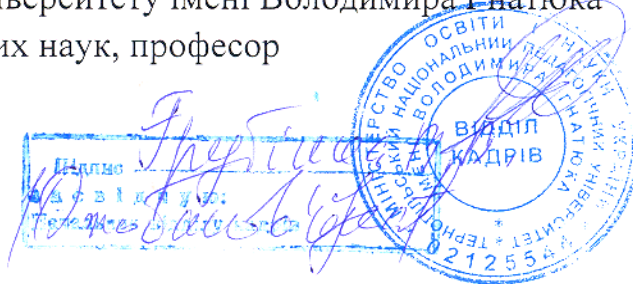
Автореферат дисертації відповідає змісту рукопису роботи, однак до нього перенесено ті ж помилки, що зазначені вище щодо роботи в цілому.

Загалом, дисертаційна робота Незбрицької І.М. «Особливості функціонування представників Chlorophyta та Cyanoprokaryota за умов підвищення температури водного середовища» є завершеним дослідженням, що спрямоване на вирішення чітко визначеної науково-теоретичної і практичної задач про те, що фізіологічний стан водоростей, їх ріст і розвиток в культурі і фітопланктоні суттєво модифікується підвищенням температури шляхом функціонування певних механізмів молекулярної регуляції метаболізму клітин, відповідає вимогам «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 24 липня 2013 року №567 (із змінами, внесеними згідно з постановами КМ № 656 від 19.08.2015 та № 1159 від 30.12. 2015 р), що висуваються до кандидатських дисертацій, а її авторка Незбрицька Інна Миколаївна заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.17 – гідробіологія.

Завідувач кафедри загальної біології
та методики навчання природничих дисциплін
Тернопільського національного
педагогічного університету імені Володимира Гнатюка
доктор біологічних наук, професор

В.В. Грубінко

09.03.2017 року



16.03.2017 р.