

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу

Михайлюк Тетяни Іванівни

«Водорості та ціанобактерії біологічних ґрунтових кірочок: різноманіття, філогенія, таксономія, екологія, поширення»,
представлену на здобуття наукового ступеня доктора наук

Дисертаційна робота Т.І. Михайлюк присвячена всебічному дослідженню надзвичайно цікавого природного комплексу – ґрунтових водоростевих кірочок, поширеність, різноманіття та значення яких досі недооцінюється. Провівши комплексний флористико-систематичний, еколого-географічний та молекулярно-філогенетичний аналіз колосального за обсягом матеріалу, дослідниці вдалося значно розширити уявлення про різноманіття водоростей і ціанобактерій в цілому, а також склад та структуру ґрунтових кірочок вологих, аридних та гіпергалінних екосистем полярних, помірних і тропічних регіонів.

Актуальність роботи не викликає сумнівів, адже дослідженість видового складу ґрунтових біокірочок досі залишається дуже низькою. Вражаючим прикладом є виявлений дисертанткою факт, що точне визначення до рівня виду було можливе лише для 37.7% виявлених нею штамів з островів Балтійського моря, а для 11.3% штамів проблематичною була навіть ідентифікація до рівня роду.

Загальна структура роботи відображає її спрямування на розкриття тріади головних характеристик водоростевих біокірочок: еколого-географічних, молекулярно-філогенетичних та морфолого-таксономічних ознак досліджуваного комплексу. Екологічний та географічні аспекти розкриті переважно у першому розділі роботи, «Різноманіття, філогенія, екологія та поширення водоростей і ціанобактерій у ґрунтових біокірочках окремих наземних екосистем та регіонів». Другий розділ,

«Klebsormidiophyceae (Streptophyta) як домінуюча група у біокірочках помірної зони» присвячений deep-філогенії класу Klebsormidiophyceae та відділу Streptophyta в цілому. Нарешті, третій розділ роботи, «Водорості і ціанобактерії біологічних ґрунтових кірочок, цікаві з флористико-таксономічної точки зору», присвячений видовому різноманіттю зелених і жовтозелених водоростей, а також ціанобактерій різноманітних екосистем та опису нових таксонів у складі цих груп.

До найважливіших результатів, що відповідають світовому рівню альгологічних досліджень, можна віднести опис 2 родів, 18 видів і 2 різновидів водоростей і ціанобактерій, об'ємну працю з емендації та епітипіфікації таксонів, створення нових номенклатурних комбінацій; глибокі дослідження філогенії Streptophyta, окремих груп ціанобактерій, жовтозелених та зелених водоростей. Тетяні Іванівні вдалося виявити у межах Streptophyta численні філогенетичні лінії, одна з яких імовірно заслуговує статусу класу, і ще декілька – статусу окремих родів.

Молекулярно-філогенетичні, ультраструктурні та екологічні дослідження, виконані Т.І. Михайлюк на найвищому науково-методичному рівні. Побудова філогенетичних дерев здійснена за сучасними алгоритмами і з використанням актуального програмного забезпечення, а одержані топології відрізняються високим рівнем статистичної підтримки вузлів. Ультрамікроскопічні дослідження показали наявність цікавих і своєрідних структур у складі клітин ціанобактерій та водоростей, зокрема і нового типу клітинного покриття.

Т.І. Михайлюк також зробила серйозний внесок у розуміння біогеографії ґрунтових біокірочок, довівши своєрідність їхнього видового складу і навіть таксономічної структури у різних екосистемах та регіонах по усьому світу. Не зважаючи на очікувано високий рівень космополітизму, окремі водорості біокірочок продемонстрували наявність відносно вузьких ареалів, імовірно зумовлених специфічними вимогами

до навколишнього середовища. Цікавим є також матеріал щодо впливу на видовий склад біокірочок фізико-хімічних властивостей субстратів.

Під час ознайомлення з авторефератом та публікаціями, що складають текст роботи, виникли такі **запитання** та **зауваження**.

1. Опис нових таксонів за використанням молекулярних даних вимагає надійного розмежування внутрішньовидової та міжвидової мінливості. Оскільки міжвидові генетичні дистанції принципово залежать від таксономічної групи та обраного молекулярного маркера, самі великі дистанції між порівнюваними видами, як такі, не можуть вважатися достатнім аргументом для відокремлення таксонів. Морфологічні відмінності також не мають тут вирішального значення, адже внутрішньовидові угруповання (раси, підвиди, різновиди) можуть відрізнятися за морфологією так само, як і види. Зважаючи на те, що більшість нових для науки видів, описаних дисертанткою, були відмежовані на підставі єдиного генетичного маркера, не завжди зрозуміло, яка аргументація використовувалася для доведення саме видового статусу описуваних таксонів. Зокрема, цікавить, чи не використовувалися авторкою кількісні процедури делімітації таксонів, що ґрунтуються на визначенні розподілу генетичних дистанцій (Automatic Barcode Gap Discovery) або довжин гілок.

2. Деякі таксони були відмежовані Т.І. Михайлюк з використанням двох генетичних маркерів (*Streptofilum capillatum*, *Klebsormidium* spp.). Але, наскільки мені вдалося зрозуміти, у дослідженні не було спроб тестування наявності репродуктивної ізоляції між досліджуваними видами шляхом співставлення розподілу алельних варіантів двох маркерних генів між індивідами. Таким чином, можна припустити, що, наприклад, певний алельний варіант *rbcL* трапляється у декількох різних видів, описаних за структурою гена SSU рРНК, а отже між цими видами може і не бути репродуктивної ізоляції.

3. Опис нових таксонів, здійснений Т.І. Михайлюк, ґрунтується на поєднанні морфологічних, ультраструктурних та молекулярно-генетичних даних (це поєднання у дисертації іменується «інтегративним підходом»). Очевидно, що довгий період ізоляції філогенетичних ліній призводить до спонтанного накопичення морфологічних відмінностей між ними. Але деталі будови, що використовуються для ідентифікації видів, детермінуються не тими генами, які використовуються як філогенетичні маркери. Отже є підстави очікувати, що значна частина біологічних видів, впевнено розмежованих за молекулярними методами, взагалі не будуть мати морфологічних відмінностей один від одного. Судячи з результатів роботи, в таких випадках дисертантка утримується від опису нових таксонів, залишаючи за відкритими сукупностями статус філогенетичних ліній. Але якою має бути загальна відповідь? Чи варто описувати нові таксони, для яких наразі невідомі відмінні морфологічні (або ширше, фенотипічні) ознаки?

4. Філогенетичні дані, представлені Т.І. Михайлюк, ґрунтуються на використанні різних маркерних ділянок геному, зокрема для зелених і стрептофітових водоростей у різних публікаціях використовувалися ITS-1, ITS-2, *rbcL* та *SSU*. Вибір маркерної ділянки для кожного конкретного аналізу не завжди зрозумілий і потребує окремого пояснення.

5. Окрім видів і родів, авторкою також описано і два різновиди (*K. delicatum* var. *deserticum*, var. *americanum*). Різновиди є спадком типологічної таксономії і не мають, наскільки мені відомо, чіткого статусу у молекулярній філогенетиці. У відповідній статті відмічено, що різновиди мають різну товщину ниточок та дещо різну екологію. Зрозуміло, ще ці відмінності виглядають несуттєвими, але, як відмічено вище, вони цілком можуть відповідати репродуктивно ізольованим комплексам популяцій. Відповідно, var. *deserticum* та var. *americanum* можуть претендувати на видовий статус. З іншого боку, навіть якщо йдеться про представників

одного виду, внутрішньовидові сукупності можуть бути описані як підвиди, форми, раси. Тож якими є причини вважати ці таксони саме різновидами?

6. Близьке питання – щодо підрахунку філогенетичних ліній. У авторефераті роботи стверджується, що авторкою в цілому описано 18 нових філогенетичних ліній. Але що є кордоном між лініями? Кожна філогенетична лінія у свою чергу також складається з ліній. Які критерії використовувалися для інтерпретації монофілетичної групи генотипів саме як окремої філогенетичної лінії?

7. Яка концепція виду, на думку авторки дослідження, адекватна для безстатевих форм, зокрема ціанобактерій?

8. У роботі показане космополітне поширення деяких видів водоростей (*Watanabea borystenica*, *Interfilum massjukiae*, *Elliptochloris perforata*, *Bracteacoccus bullatus*, *Edaphochlorella mirabilis* тощо). Такі види стикаються з проблемою аутбридінгової депресії: постійний дрейф генів ззовні не дозволяє окремим популяціям накопичувати пристосування до локальних умов. Це є причиною поділу нібито космополітних морфовидів на локальні криптичні біовиди у багатьох протистів, зокрема Amoebozoa, для яких гіпотеза «everything is everywhere» виявилася неадекватною, а космополітизм, зрештою, в багатьох випадках був спростований. Тож чи можна очікувати, що космополітизм дійсно властивий значній кількості кірочкових водоростей? В яких випадках ця стратегія є виграшною?

9. У екологічній частині роботи неодноразово стверджується, що електропровідність субстрату значно впливає на видовий склад кірочкових водоростей. Очевидно, що цей чинник не може впливати на водорості напряду; на мою думку доцільно було чітко оговорити, з якими важливими для водоростей особливостями середовища він корелює.

10. З одержаних даних зрозуміло, що рід *Klebsormidium* є парафілетичним відносно встановленого авторкою роду *Interfilum*. З цього

впливає необхідність розділення роду *Klebsormidium* на п'ять родів (мінімум – три: В/С, D–Е, F–G). Допоки цього не зроблено, рід *Interfilum* «повисає у повітрі», виглядаючи однією з гілок *Klebsormidium*. Тож незрозуміло, чому дослідницею прийняте таке «половинчасте» рішення: виділити у окремий рід лише одну з декількох гілок *Klebsormidium*-комплексу.

11. У багатьох публікаціях, що складають дисертаційну роботу, ретельно досліджується вторинна структура спейсера ITS2 у різних видів стрептофітів. З наведених результатів складається враження, що варіабельні ділянки розташовані на молекулі транскрибованого ITS2 доволі хаотично, принаймні зміни охоплюють важливі для конформації молекули дволанцюгові ділянки геліксів, імовірно порушуючи парування нуклеотидів у них. Складається враження, що зміни у вторинній структурі ITS2 мало впливають на функціонування цієї молекули (яке, імовірно, полягає лише у приєднанні ферментів, що вирізають її з первинного транскрипту). Тож чи доцільно ретельно анотувати видоспецифічні особливості локалізації замін та інделів саме на вторинній структурі ITS2? Чи з цього все ж таки можна одержати біологічно значущу інформацію?

12. У дисертації (стаття «New taxa of Streptophyte algae...») наведені серйозні аргументи на користь відокремлення *Streptofilum capillatum* у самостійний монотипний клас. Що змусило наразі утриматись від цього рішення?

13. Викликає подив інтерпретація покривних волосків *Streptofilum capillatum* як лусочок. Волосоподібні покривні структури відомі в гетеротрофних протистів (глікостилі у Vannelida, соматонеми у *Proteromonas*) і не інтерпретуються там як лусочки; мінералізовані спікули синурових і центрогелід також лусочками не вважають. Це питання, суто термінологічне, здається мені важливим, адже стосується функціонального призначення клітинних покривів. Лусочкові покриви

орієнтовані на захист клітинної поверхні від прямих механічних пошкоджень. Тому вони характеризуються впорядкованістю розташування елементів (навіть у амеб!), а окремі лусочки мають сплюснену, куполоподібну або (деякі гаптофіти) складну осьово-симетричну форму. Усього цього ми не бачимо у *Streptofilum*.

14. Завдання 4 та 7 дуже близькі: «Вивчити молекулярно-філогенетичні особливості окремих штамів водоростей та ціанобактерій», «Дослідити морфологічні, філогенетичні та ультратонкі особливості штамів (...) водоростей і ціанобактерій». За наявних формулювань незрозуміло, у чому відмінність між цими завданнями.

15. Деякі формулювання у авторефераті роботи здаються мені невдалими:

- «бактерії, ціанобактерії» – протиставлення ціанобактерій решті бактерій таксономічно некоректне;
- «молекулярно-філогенетичні особливості окремих штамів» – не впевнений, що характер спорідненості (родинні зв'язки) одного штаму з іншими варто називати молекулярно-філогенетичними особливостями;
- «явище ґрунтових біокірочок» – як правило, явищами називають не об'єкти, а процеси; скажімо дощ – це явище, а калюжа – ні;
- «унікальних представників роду», «унікальні водорості» тощо – кожен таксон по-своєму унікальний, але водночас має багато спільного зі спорідненими таксонами. Тож епітет «унікальний» виглядає занадто сильним, коли йдеться про організми;
- «текстура піску (за гранулометричним аналізом)» – текстура є характеристикою поверхні, а гранулометричний склад – характеристикою внутрішнього вмісту складного тіла. До речі цікаво, чи існують можливості дослідження саме текстури поверхні

грунтових біокірочок та її зв'язку з видовим складом водоростевого угруповання?

Вказані зауваження і запитання здебільшого мають дискусійний характер і жодним чином не знижують цілком позитивного враження від дисертаційної роботи Т.І.Михайлюк.

Обговорювана дисертація є завершеною науковою працею, її матеріали належним чином апробовані та опубліковані у топових наукових журналах. Публікації, що складають роботу, відрізняються досконалим оформленням, високою якістю ілюстративного матеріалу, ретельним описом методології, коректністю аргументації та висновків.

Зважаючи на все викладене, вважаю, що дисертаційна робота Михайлюк Тетяни Іванівни «Водорості та ціанобактерії біологічних ґрунтових кірочок: різноманіття, філогенія, таксономія, екологія, поширення», за актуальністю теми, науковою новизною, обсягом виконаної роботи, практичним значенням одержаних результатів повністю відповідає вимогам п.п. 9, 10 «Порядку присудження наукових ступенів», що висуваються до дисертаційних робіт, затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 24.07.2013. №567, а здобувач заслуговує на присудження наукового ступеня доктора біологічних наук за спеціальністю 03.00.05 – «ботаніка».

Доктор біол. наук, професор,
завідувач кафедри ботаніки
Харківського національного
педагогічного університету
ім. Г.С. Сковороди
15 квітня 2021 р.

Д.В. Леонтєв

