

ВІДГУК ОФІЦІЙНОГО ОПОНЕНТА
на дисертацію Садогурської Соф'ї Сергіївни
**«Рід *Cystoseira* s.l. у Чорному морі та Левантійському басейні
Середземного моря»**
на здобуття наукового ступеня доктора філософії
за спеціальністю 091 «Біологія»

Актуальність теми дисертації. Розвиток молекулярно-філогенетичних методів щодо вивчення цистозір дозволило зробити значний крок у питаннях філогенії, таксономії та біогеографії цих водоростей. В той же час у цих дослідженнях є суттєві прогалини. Зокрема, північне узбережжя Африки, Левантійський басейн, а також Чорне та Азовське моря, для яких відсутні будь-які відомості щодо досліджень послідовностей ДНК. При цьому, як зазначає автор роботи, саме в східній частині басейну Середземного моря зустрічаються два ендемічні види роду *Cystoseira* s.l. (серед лише кількох відомих): *Cystoseira rayssiae* Ramon, з прибережних районів Ізраїлю (Ramon, 2000), та *Cystoseira bosporica* Sauvageau, з Чорного моря (Зинова, 1967; Berov et al., 2015). Відносна географічна ізоляція та унікальні кліматичні умови роблять ці райони ще цікавішими для вивчення процесів видоутворення та ендемізму у цистозір, що може суттєво доповнити загальну картину філогенії і сучасного розповсюдження представників роду *Cystoseira* s.l.. Крім того, ці відомості дозволять вдосконалити заходи щодо збереження та відновлення угруповань і оселищ, що утворюють цистозіри.

Наукова новизна отриманих результатів. Вперше виконано молекулярно-філогенетичні дослідження представників роду *Cystoseira* s.l. із Чорного моря, за результатами яких показана приналежність чорноморських таксонів до родів *Ericaria* і *Gongolaria* та запропоновані дві нові номенклатурні комбінації. Вперше проведено номенклатурно-таксономічну ревізію цистозір із Левантійського басейну Середземного моря, за результатами якої показано їхню приналежність до родів *Cystoseira* s.s., та



Gongolaria. Для Ізраїлю вказано три нових таксони (два види ймовірно зникли з акваторії Ізраїлю), для одного з трьох нових таксонів запропонована нова комбінація. Для ендемічного левантійського виду *Gongolaria rayssiae* вперше описано морфологічну мінливість та уточнено дані щодо екологічної приуроченості, що дозволило вдосконалити таксономічний діагноз. З урахуванням нових таксономічних перебудов та філогенетичних даних, переглянуті уявлення про біогеографію роду *Cystoseira* s.l. в Середземноморському басейні.

Отримані у ході дослідження результати доповнюють відомості щодо різноманіття та поширення таксонів роду *Cystoseira* s.l. у Чорному морі та Левантійському басейні Середземного моря і можуть бути використані при уточненні ключів для визначення таксонів роду *Cystoseira* s.l. у флорі України, Ізраїлю та інших країн і регіонів Середземноморського басейну. Отримані генетичні послідовності зразків макроводоростей депоновані у базі даних GenBank (MT978052–MT978063). Результати дослідження угруповань *Cystoseira* s.l. в Джарилгацькому НПП передані в наукову частину цієї установи для включення до «Літопису природи» і використані в клопотанні про необхідність розширення заповідної акваторії НПП.

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації, значимість для науки, перспективи їх використання.

Дисертаційна робота Садогурської С.С. має теоретичне і практичне значення, виконана на високому рівні, з використанням сучасних морфолого-анатомічних; молекулярно-філогенетичних (ПЛР, секвенування); біоінформатичних (аналіз послідовностей ДНК), а також загальноприйнятих гідроботанічних методів дослідження та підходів еколого-флористичного аналізу. Сформульовані висновки лаконічні та змістовні. Рекомендації автора знайшли своє відображення у пропозиціях щодо включення нових акваторій Чорного та Азовського морів до складу Смарагдової мережі, що має велике значення у природоохоронних та просвітницьких заходах.

Повнота викладу в опублікованих працях. Результати дисертаційного дослідження опубліковані у 20 наукових працях, серед яких 4 статті у наукових виданнях, що індексовані у наукометричних базах даних Web of Science та Scopus, 4 розділи у колективних монографіях, 12 матеріалів конференцій та наукових семінарів.

Оцінка змісту дисертації та її завершеності. Дисертаційна робота складається зі вступу, 9 розділів основної частини, висновків, списку використаних джерел та 6 додатків.

У вступі автор дисертації акцентує увагу на актуальності теми дослідження. В першому розділі наведено дані щодо положення роду *Cystoseira* s.l. у філогенетичних системах бурих водоростей, наводиться історія досліджень роду в Середземноморському басейні, Чорному морі, Левантійському басейні.

Розділ II присвячений фізико-географічній характеристиці району досліджень, де охарактеризовано особливості Середземноморського басейну. В третьому розділі наведено матеріали та методи досліджень. Зокрема досліджувався ступінь варіювання морфологічних ознак вегетативних та генеративних органів водоростей. Крім того, заміряли висоту талому, діаметр стовбурів та розміри рецептакулів. В цьому ж розділі детально прописана методика статистичної обробки отриманих молекулярно-генетичних даних.

Четвертий розділ присвячений порівняльно-морфологічному аналізу таксонів роду *Cystoseira* s.l. Традиційно використовували різні макроморфологічні характеристики, зокрема: загальну будову талома (наявність одного або декількох основних стовбурів), форму подошви, будову апексу, гілочок першого порядку, кінцевих гілочок, наявності/відсутності придатків (листо- або шиповидних) та повітряних пухирів, форму тофулів (за наявності). Одними з найважливіших ознак була будова генеративних органів: форма та розмір рецептакулів, наявність стерильних придатків (мукрону, бокових шипиків тощо), будова і кількість концептакулів і т.і.

Загалом, був проведений порівняльно-морфологічний аналіз 194 екз. цистозір. Для Чорного моря досліджено 122 екз. з 17 пунктів: *Cystoseira bosporica* – 54, *Cystoseira barbata* f. *barbata* – 63 та *Cystoseira barbata* f. *repens* – 5. З Левантійського басейну опрацьовано 72 зразки, що були відібрані у 9 пунктах: *Cystoseira rayssiae* (31 екз.), *Cystoseira compressa* (15), *Cystoseira compressa* subsp. *pustulata* (2), *Cystoseira foeniculacea* (2) та *Cystoseira* sp. (22)

Розділ 5 присвячений молекулярно-філогенетичному аналізу таксонів роду *Cystoseira* s.l. в Чорному морі та Левантійському басейні. Автором вдосконалено методику виділення ДНК з представників *Cystoseira* s.l. Використання рецептакулів та верхніх гілочок для виділення ДНК з цистозір виявилось більш адекватним підходом. Встановлено, що СТАВ-протокол, який повсякденно використовується для виділення ДНК у багатьох лабораторіях, виявився не дуже вдалим варіантом для бурих водоростей, адже СТАВ може утворювати комплекси не тільки з ДНК, але і з полісахаридами. Найбільш вдалим було застосування для цього фенол-хлороформного методу. Також автором встановлено, що за наявних умов, краще використовувати свіжий або заморожений матеріал. В той же час консервування фрагментів водоростей у силікагелі виявилось найбільш практичним методом «консервування» матеріалу у невеликих кількостях у польових умовах, під час транспортування, пересиланні та для зберігання матеріалу протягом тривалого часу. Також автором встановлено, як концентрація тотальної ДНК у зразку може впливати на якість ампліфікації. Найкращі результати було отримано за умов розведення ДНК 1:100.

В цілому результати молекулярно-філогенетичного аналізу на основі отриманих послідовностей трьох мітохондріальних генів підтвердили поліфілетичність атлантично-середземноморського роду *Cystoseira* s.l. і його розділення на три монофілетичні роди – *Ericaria*, *Gongolaria* та *Cystoseira* s.s.

Під час критико-таксономічного аналізу роду *Cystoseira* s.l. в Чорному морі та Левантійському басейні були переглянуті уявлення про біогеографію рода в Середземноморському басейні (розділи 6 та 7). Показано, що розділення на окремі роди, ймовірно, відбулося ще в Атлантиці до Мессінської кризи солоності, а заселення Середземного моря представниками *Ericaria*, *Gongolaria* та *Cystoseira* s.s. відбувалося незалежно один від одного. Заселення цистозір у Чорне море могло відбуватися декілька разів відповідно до чергування його трансгресивних і регресивних фаз. Відповідно до даних стратиграфії, останнє проникнення у Чорне море, ймовірно, відбулося близько 7,5 тис. р.т, а в Азовське – приблизно 3-4 тис. р.т. Внаслідок медитеранізації Чорного моря можна очікувати подальше просування інших середземноморських таксонів. Серед двох досліджених ендемічних «цистозір» лише для *Gongolaria rayssiae* підтверджений видовий статус. Враховуючи, що цей вид є достатньо древнім і чітко відокремленим від інших таксонів, його ендемізм, ймовірно, пов'язаний із скороченням ареалу, а не з виникненням у Левантійському басейні. У випадку із ендемічною формою *Ericaria crinita* f. *bosphorica*, навпаки – маємо справу із таксоном, що за дослідженими мітохондріальними маркерами є конспецифічним із Середземноморськими таксонами. Це підтверджує, що таксон сформувався відносно нещодавно і відокремився внаслідок ефекту «пляшкового горла» після формування сучасного басейну Чорного моря приблизно 6-8 тис. р.т. Цього часу недостатньо для формування виду, але виникнення форми робить цей таксон цікавим для вивчення видоутворення у цистозір.

У восьмому розділі охарактеризовано угруповання *Cystoseira* s.l. в акваторії Джарилгацького Національного природного парку. В результаті гідроботанічного дослідження, проведеного в морській акваторії Джарилгацького НПП, встановлено, що макроскопічний рослинний покрив представлений полідомінантним угрупованням *Gongolaria barbata* – *Codium vermilara* + *Laurencia coronopus* з і монодомінантним угрупованням *Codium*

vermilara. Це перша знахідка угруповань цистозіри і кодіума в субліторалі морської акваторії, що безпосередньо примикає до центральної частини о. Джарилгач. Показано, що вони розвиваються в інтервалі глибин 0,5-2,5 м на твердих субстратах антропогенного походження загальною площею близько 100 м². В них виявлено 30 видів макроводоростей: Rhodophyta – 16 видів (53%), Chlorophyta – 8 (27%), Ochrophyta (Phaeophyceae)– 6 (20%). Це становить майже третину видів, зазначених на даний момент для Джарилгацької затоки. В цілому, альгофлора обстеженого району має виражений олігосапробний характер; за галобністю домінують морські види; до категорії рідкісних відноситься близько половини ідентифікованих видів.

В 9 розділі розглянуто методологічні засади охорони таксонів роду *Cystoseira* s.l. та питання їх збереження у північній частині Чорного моря, описано підходи до охорони угруповань *Cystoseira* s.l. в Чорному та Середземному морях, охарактеризовано Смарагдову мережу в Україні як інструмент охорони угруповань *Cystoseira* s.l. та інших морських оселищ та дано пропозиції включення до складу Смарагдової мережі нових акваторій Чорного та Азовського морів.

За результатами комплексного дослідження роду *Cystoseira* s.l. у Чорному морі та Левантійському басейні Середземного моря автором зроблені висновки, які є логічними та змістовними.

Недоліки дисертації щодо змісту та оформлення.

В цілому дисертація написана гарною науковою мовою, просліджується чіткість та логіка викладення матеріалу. В той же час до роботи є певні питання та зауваження:

1. На стор.22 двічі повторюється словосполучення «молекулярно-філогенетичний аналіз».
2. На С.26 в назві роду *Cystoseira* s.l. пропущено літеру **t** (**1.1 Сучасні погляди на положення роду *Cysoseira* s.l. у філогенетичних системах бурих водоростей**).

3. С.68.Критеріями для визначення якості отриманих нуклеотидних послідовностей були високий відсоток відповідності між прямою та зворотною послідовностями та хороша якість хроматограм. Що малося на увазі? Може, електрофореграм?

4. С.68. Як обиралися еволюційні моделі, використані для кожного окремого набору даних, вказані в табл. 3.2?

5. С.247. Нумерація публікацій авторки. Чому 21, 22,....

6. Оогонії замість огонії на С.80

7. С.251 Варто, мабуть, писати пробірки Еппендорф, а не пробірки **Еппендорфа**; не 100% етанолового спирту, а етилового спирту.

Порушення академічної доброчесності. На думку опонента автором дисертації не було допущено порушень академічної доброчесності. Дисертація містить оригінальні результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело.

Висновок про відповідність дисертації встановленим вимогам, які пред'являються до наукового ступеня доктора філософії. Дисертаційна робота Садогурської Соф'ї Сергіївни «Рід *Cystoseira* s.l. у Чорному морі та Левантійському басейні Середземного моря» є повноцінним завершеним науковим дослідженням, проведеним на високому рівні із застосуванням сучасних морфолого-анатомічних, молекулярно-генетичних, статистичних методів аналізу. Робота цілком відповідає вимогам 10, 11 «Порядку проведення експерименту з присудження ступеня доктора філософії», затверджені постановою Кабінету Міністрів України від 6 березня 2019 р. № 167, а її авторка, Садогурська Соф'я Сергіївна, заслуговує присудження наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 «Біологія».

Офіційний опонент,

учений секретар ДУ «Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України»,

кандидат біологічних наук,

старший науковий співробітник



Я.В. Пірко