

ВІДГУК

офіційного опонента кандидата біологічних наук Адамчук-Чалої Надії Іванівни на дисертаційну роботу ВОДКИ Марини Валеріївни “Ультроструктура хлоропластів листків шпинату та гороху за різних рівнів зв’язаного бікарбонату”, представлену на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.11 – цитологія, клітинна біологія, гістологія.

В основу Міжнародної програми охорони природи, яка була розроблена в 1980 році трьома всесвітніми організаціями (UNEP, IUCN, WWF), покладено екологічний аналіз того, як керувати космічним кораблем – Землею. Наша планета оснащена усім необхідним для життєдіяльності людського організму, проте енергія для підтримання життя потрапляє на її поверхню як сонячне випромінювання, яке використовується зеленими рослинами для функціонування фотосинтетичного апарату. Від нього ця енергія потрапляє в харчові ланцюги, і відповідно, керує біогеохімічними циклами.

До минулого сторіччя живі системи планети розвивалися майже в повній гармонії із атмосферою, гідросферою і літосферою, не відчуваючи впливу антропогенного фактору. На сьогодні промислова і сільськогосподарська діяльність людини досягла потенційно небезпечних рівнів забруднення середовища. Зокрема, потрапляння в атмосферу надмірної кількості шкідливих газів призводить до виникнення «кислотних дощів», які, в свою чергу, викликають закислення ґрунтів, а також до глибоких змін біосистем.

При спаленні горючих корисних копалин виникає диоксид сульфуру, окис нітрогену, а за неповного спалення утворюються шкідливі вуглеводні. Усі ці речовини потрапляють до атмосфери у газоподібному стані, але іноді «вимиваються» з неї опадами. В промислових районах сходу США, Західної Європи, північно-східних районів Китаю і Японії іноді випадають дощі, рН яких значно нижче 4,0. За природної концентрації диоксиду карбону в атмосфері рН дощової води складає 5,6. В присутності окисів сульфуру, які потрапляють в атмосферу із океану та при виверженні вулканів, ця величина іноді понижується до 4,7. На сьогодні існують ефективні і доступні, проте дорогі технології десульфуризації, за використання яких диоксид сульфуру в атмосферу не викидаються. У тривалій перспективі, можливо, також важливо буде обмежити потрапляння в атмосферу шкідливих об’ємів вуглеводнів. Поки ж тривають дослідження наслідків впливу на рослини високих концентрацій атмосферного CO₂ на структурно-функціональну організацію фотомембран, і пошук шляхів збільшення ефективності засвоєння хлоропластами світлової енергії за несприятливих умов забруднення оточуючого середовища.

Тому актуальною є поставлена мета дисертаційної роботи Водки Марини Валеріївни, а саме, визначити перебудови внутрішньої мембранної

системи хлоропластів в залежності від концентрації бікарбонату та під впливом інгібіторів карбоангідразної активності: іонами цинку, міді, ацетазоламідю та етоксисизоламідю. Отримані результати розкривають структурну складову механізму дії цих чинників і можуть бути використані при розробці окремих питань стійкості рослин до впливу абіотичних факторів.

Дослідження такого напрямку викликають інтерес науковців як з теоретичної, так і практичної точки зору. Про це свідчить те, що дисертаційна робота виконувалася у рамках тематичних планів Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного Національної академії наук України за темами 2012-2016 рр.: «Особливості енергетичного обміну в рослинних клітинах за різних рівнів вуглецевого забезпечення» (№ держреєстрації III-22-7.406); «Клітинні та молекулярні механізми адаптації рослин до несприятливих змін екологічних чинників в природі та експерименті» (№ держреєстрації III-61-12.412). Автор дисертаційної роботи є одним із виконавців вищезгаданих досліджень.

Слід відмітити, що дисертація М.В. Водки є добре спланованою, її мета і задачі сформульовані автором логічно і послідовно. Робота побудована традиційно, викладена логічно і доступно, а також вдало проілюстрована наочними матеріалами, які містять 53 рисунка і 11 таблиць. Вона налічує 158 сторінок друкованого тексту і складається із вступу, огляду наукової літератури, матеріалів і методів дослідження, розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів, висновків та списку використаних джерел літератури, що містить 177 найменувань.

В огляді наукової літератури, який складається з п'яти підрозділів розділу 1, дисертантка дуже кваліфіковано представила основні досягнення щодо ролі карбоангідрази та бікарбонату у функціонуванні фотосинтезу. Огляд написано на високому професійному рівні з залученням сучасних посилань. Він свідчить про те, що пошукач прекрасно орієнтується у наукових проблемах впливу важких металів, кислотних дощів та високих концентрацій диоксиду карбону на ультраструктурну організацію фотосинтетичного апарату культурних рослин. Дисертантка продемонструвала здатність формулювати робочу гіпотезу своїх досліджень, науково обґрунтувати необхідність зосередитись на питаннях, які на сьогодні залишаються ще не вивченими. З'ясування деяких з них і було напрямком та основними завданнями дисертаційної роботи. Марина Валеріївна обґрунтувала вибір рослин гороху та шпинату цінними такими якостями цих культур, як швидкий ріст та невибагливість до умов освітлення та аерації. З метою визначення впливу різних рівнів бікарбонату на ультраструктуру фотосинтетичного апарату рослин, вона поєднала обробку інгібіторами карбоангідрази, із застосуванням сучасних модифікацій методу електронної мікроскопії. Наведений в розділі «Матеріали та методи» перелік методів яскраво свідчить про те, що М.В. Водка добре опанувала та вміло використовувала методи ультраструктурних досліджень, а також оволоділа методами комп'ютерної обробки та аналізу електроннограм. Використання

новітніх підходів та арсеналу відповідних методик і обумовило успішне виконання роботи та одержання цікавих наукових результатів.

Окрім опису матеріалів і методів експериментальна частина роботи містить п'ять розділів, присвячених вирішенню поставлених задач та обговоренню результатів проведеної роботи.

Слід відмітити, що робота виконана дисертанткою дуже логічно, послідовно. Її написання свідчить, що автор дуже професійно володіє всіма одержаними результатами. Наукову новизну та основні здобутки дисертації, які мають фундаментальне значення, можна сформулювати наступним чином.

Ультраструктурні перебудови системи фотомембран хлоропластів гороху та шпинату, викликані дією інгібіторів карбоангідрази, впливають на вміст бікарбонату в мембранах тилакоїдів, за дії підвищеної концентрації CO_2 в препаратах ізольованих хлоропластів відбувалося порушення чіткості гранальної структури і розширення інтратилакоїдного простору.

Марина Валеріївна вперше показала ефект збільшення товщини тилакоїдів гран та ширини їх люмінальних проміжків в темноті і посилення цих реакцій освітленням за спільної їх дії за умов зміни освітлення та інгібіторів карбоангідрази з різним ступенем впливу на структуру тилакоїдів (від іонів цинку, ацетазоламідю, етоксизоламідю до іонів міді), які знижували здатність хлоропластів утримувати бікарбонат у зв'язаному стані, що й викликало перебудови фотомембран. Це дозволило припустити, що надлишок CO_2 впливає на активність карбоангідрази та інгібує окремі ланки функціонування фотосинтетичного апарату через зниження карбоангідразної активності.

Застосування імітації ефекту «кислотних дощів» на структуру гранильної системи хлоропластів гороху і шпинату дозволило Марині Валеріївні вперше показати структуроутворююче значення карбоангідразозалежної рівноваги $\text{CO}_2/\text{HCO}_3^-$ в динамічних перебудовах фотомембран хлоропластів.

Результати аналізу електронограм, які наведені в дисертаційній роботі, свідчать про те, що викладені М.В. Водкою основні наукові положення та висновки базуються на використанні широкого спектру найбільш сучасних експериментальних методик проведення досліджень. Одержані результати статистично проаналізовані. Результати роботи викладені в достатній кількості (31) публікацій, серед яких 5 статей у спеціалізованих фахових наукових виданнях, затверджених МОН України, і 26 тез доповідей на наукових форумах. Викладене вище дозволяє оцінити основні наукові положення, одержані результати експериментальних досліджень та зроблені М.В. Водкою висновки як достовірні, оскільки вони ґрунтуються на ретельно виконаних експериментах, які доповнюють один одного, та на їх коректній інтерпретації.

Розглядаючи в цілому розділи власних досліджень М.В. Водки, можна стверджувати, що одержані нею результати мають як наукову, так і практичну цінність. Результати власних досліджень представлено автором

послідовно, з використанням загальноприйнятого для подібної роботи стилю. Аналіз отриманих експериментальних даних та їх узагальнення засвідчують здатність Марини Валеріївни дуже професійно інтерпретувати одержані результати. Висновки повністю відповідають представленим в роботі результатам досліджень. Дисертаційна робота М.В. Водки повністю відповідає спеціальності 03.00.11 - цитологія, клітинна біологія, гістологія. Вона показала, що використані нею методи є прийнятними для застосування у вивченні клітинних механізмів стійкості рослин до дії абіотичних факторів.

Високо оцінюючи експериментальний рівень дисертаційної роботи, є необхідність задати дисертанту декілька зауважень та запитань стосовно інтерпретації одержаних даних:

1. Так, у викладеному матеріалі щодо методів відсутні показники об'ємів реакційної суміші, оскільки цей показник є необхідним для визначення ферментативних активностей.
2. На сторінці 72 при аналізі електронограм вказується ефект збільшення щільності строми хлоропластів. Необхідне уточнення щодо електронної щільності строми, щільності рибосом в стромі хлоропластів або проявлення місць локалізації хлоропластної ДНК.
3. На електронограмах фрагментів хлоропластів за обробки рослин Zn^{2+} показано дестекінг тилакоїдів гран. Чи висуває дисертантка припущення щодо механізмів такої перебудови?
4. Які чинники використовують за кордоном для імітації дії «кислотних дощів» на листки рослин?
5. Хотілося би, щоб у майбутньому дисертантка дослідила, чи може незначна за масштабом компенсація процесів збільшення вмісту у повітрі CO_2 бути досягнута за рахунок збільшення інтенсивності фотосинтезу в наземних екосистемах, оскільки, зазвичай, діоксид карбону є фактором, що лімітує фотосинтез.
6. Узагальнення результатів дисертаційної роботи Марини Валеріївни бажано було б провести з аналізом відомих із літератури даних, коли концентрація кожного окремого забруднювача нешкідлива, а суміш таких речовин, як озон, діоксид сульфуру, оксид нітрогену, інші фотооксиданти і важкі метали, можуть призвести до сильного пригнічення розвитку фотосинтетичного апарату рослин.

Наведені зауваження не мають кваліфікаційного характеру і не стосуються суті роботи, отже не впливають на високу позитивну оцінку виконаної роботи. Її сучасний рівень, однозначність отриманих результатів і використання коректних методів статистичного аналізу, надійна апробація дисертації на вітчизняних та міжнародних наукових форумах, а також сторінках 31-ї наукової публікації свідчать, що ступінь обґрунтування наукових положень, висновків та рекомендацій, наведених в дисертаційній роботі М.В. Водки, є достатньо оригінальним та надійним.

Текст дисертаційної роботи викладено державною мовою з використанням сучасної фахової наукової термінології. Представлення матеріалів досліджень, наукових положень, висновків забезпечує їх легке сприйняття. Зміст дисертації та структура автореферату тотожні. Рукопис


Марини Валеріївни містить дані власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідні джерела.

ВИСНОВОК

Все вищезазначене вказує на те, що дисертаційна робота М.В. Водки на тему “Ультраструктура хлоропластів листків шпинату та гороху за різних рівнів зв’язаного бікарбонату”, яка представлена на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук, повністю відповідає спеціальності 03.00.11 – цитологія, клітинна біологія, гістологія, є завершеною працею, в якій отримані нові науково-обґрунтовані результати, що у сукупності вирішують одну з конкретних наукових проблем, а саме залежності структурно-функціональної організації мембран хлоропластів від рівня бікарбонату.

Зазначене вище дозволяє стверджувати, що дисертаційна робота Марини Валеріївни Водки за змістом, обсягом, новизною, практичним значенням одержаних результатів, актуальністю та оформленням повністю відповідає вимогам «Порядку присудження наукових ступенів», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 24.07.2013 року № 567 на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.11 – цитологія, клітинна біологія та гістологія, а сама здобувач заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата біологічних наук.

Науковий співробітник відділу
загальної та ґрунтової мікробіології
Інституту мікробіології і вірусології ім.
Д.К. Заболотного НАН України, к.б.н.

 Н.І. Адамчук-Чала

