

## РЕЦЕНЗІЯ

на дисертаційну роботу Леонтьєвої Тетяни Олександрівни на тему: «Адаптивний потенціал зелених мікроводоростей (Chlorophyta) при вирощуванні в штучних умовах», поданої на здобуття наукового ступеня доктора філософії зі спеціальності 091 Біологія, галузь знань 09 Біологія

**Актуальність дисертаційної роботи.** Дисертація Леонтьєвої Тетяни Олександрівни присвячена одній з актуальних проблем гідробіології – культивуванню промислово цінних штамів мікроводоростей. Дотепер культивування мікроводоростей в Україні ще не досягло необхідних промислових потужностей. Тому розробка та налагодження технологічної схеми культивування мікроводоростей у біореакторах відкритого типу (з використанням природного освітлення) та закритого типу (з використанням штучного освітлення) є актуальним завданням сьогодення. Важлива складова цього завдання – з'ясування механізмів адаптації мікроводоростей до абіотичних чинників при культивуванні в штучних умовах, а також визначення видів із найвищим адаптивним потенціалом з метою подальшого впровадження в масове культивування для одержання кормової сировини. Для розв'язання цих завдань автор використовує поняття «адаптивний потенціал» до дії певного чинника. Під цим поняттям він розуміє комплекс генетично та метаболічно обумовлених специфічних реакцій, спрямованих на підтримання життєздатності за дії провідних абіотичних чинників (температура, енергія ФАР та поживне середовище) на різних рівнях організації: популяційно-видовому та молекулярному. У дисертаційній роботі наведені деякі фізіолого-біохімічні характеристики мікроводоростей, які є об'єктами біотехнологічних досліджень, а також відомості про специфіку їх розвитку, умови і принципи їх культивування. Очевидною перевагою рецензованої роботи є дослідження реакцій-відповідей зелених мікроводоростей на морфологічному та фізіолого-біохімічному рівнях на дію константної і динамічної температури, щільності фотосинтетичного фотонного потоку, спектрального складу світла, довжини хвилі та концентрацій азоту і фосфору. Ці результати можуть бути використані при культивуванні

мікроводоростей в штучних умовах для одержання кормової сировини з оптимальним співвідношенням білків, вуглеводів та ліпідів.

**Зв'язок роботи з науковими програмними, планами, темами.**

Дисертаційна робота Леонтьєвої Т.О. «Адаптивний потенціал зелених мікроводоростей (Chlorophyta) при вирощуванні в штучних умовах» виконана в межах держбюджетних тем Інституту гідробіології НАН України: «Особливості фізіологічної адаптації та екологічний потенціал гідробіонтів різних трофічних рівнів при їх культивуванні в штучних умовах» (№ держреєстрації 0118U003541); «Використання штучних біоценозів із гідробіонтів різних трофічних рівнів для очищення та відновлення якості поверхневих і стічних вод» (№ держреєстрації 0120U103039).

**Метою роботи**, як зазначено автором, є встановити адаптивний потенціал зелених мікроводоростей за дії абіотичних чинників при періодичному культивуванні в штучних умовах.

**Наукова новизна і практична цінність роботи.** На підставі експериментальних досліджень отримані нові дані щодо життєстійкості зелених мікроводоростей з родин Scenedesmaceae, Selenastraceae та Chlorellaceae за впливу абіотичних чинників: температури, щільності фотосинтетичного фотонного потоку, довжини хвилі, співвідношення азоту та фосфору, при культивуванні в штучних умовах. На підставі цих даних встановлені та узагальнені показники росту та розмноження (питома швидкість росту, середньодобові коефіцієнти збільшення чисельності клітин, розміри та об'єм клітин, інтенсивність фотосинтезу та дихання, вміст білків, ліпідів і вуглеводів у клітинах) зелених мікроводоростей. Автором також з'ясовано особливості прояву комплексних реакцій у межах різного адаптивного потенціалу досліджуваних видів зелених мікроводоростей за дії провідних абіотичних чинників (температура, щільність фотосинтетичного фотонного потоку, довжина хвилі, співвідношення азоту та фосфору) при культивуванні в штучних умовах. Визначено види із найвищим адаптивним потенціалом.

Детальне описання зміни морфологічних та фізіолого-біохімічних показників п'ятьох видів зелених водоростей (*Desmodesmus brasiliensis*, *Tetradesmus dimorphus*, *Scenedesmus ellipticus*, *Tetradesmus obliquus* та *Chlorella vulgaris*) від співвідношення в культуральному середовищі нітратного азоту та фосфору фосфатів. Крім того, показано, що культури *Desmodesmus brasiliensis* та *Tetradesmus dimorphus*, порівняно з іншими дослідженими видами, характеризуються найвищими адаптивними можливостями, що проявляються за дії різних абіотичних чинників (температура, щільність фотосинтетичного фотонного потоку, спектральний склад, поживні речовини) в певному діапазоні.

Автором розроблено практичні рекомендації та технологічну схему безперервно-циклічного культивування високопродуктивного виду *Desmodesmus brasiliensis* у штучних умовах з метою отримання сировини різноманітного призначення. Практичні результати дисертації можуть бути цінними для спеціалістів, які працюють в галузі екологічної фізіології і біохімії водоростей та їх культивування.

**Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій.** У дисертації ґрунтовно висвітлена література із досліджуваної тематики. Усі наукові положення, висновки і рекомендації, які сформульовані у дисертації, достатньою мірою підтверджуються великим обсягом експериментального матеріалу, його глибоким аналізом, застосуванням сучасних методів морфологічних, фізіолого-біохімічних та статистичних досліджень.

Дисертація Леонтьєвої Тетяни Олександрівни є самостійною, завершеною науковою працею, в якій вирішується актуальна конкретна проблема щодо вивчення культивування мікроводоростей з метою отримання сировини різноманітного призначення.

**Висвітлення результатів у наукових публікаціях.** За матеріалами дисертації опубліковано 6 статей, 4 з яких індексовані у наукометричній базі даних Scopus, а також 11 тез у матеріалах конференцій та семінарів.

## **Аналіз структури дисертації та результатів наукових досліджень.**

Дисертаційна робота Леонтьєвої Т.О. складається із анотації, вступу, огляду фахової літератури, матеріалів та методів досліджень, 4 розділів власних досліджень, висновків, списку використаних фахової літератури, якій налічує 288 посилань, з яких 218 – іншомовних та переліку умовних скорочень. Робота викладена на 163 сторінках друкованого тексту та ілюстрована 49 рисунками і 14 таблицями.

**В огляді наукової літератури** наведена загальна характеристика Chlorophyta та розкрито особливості впливу температурного режиму середовища, щільності фотосинтетичного фотонного потоку, спектрального складу, фотоперіоду та неорганічних сполук азоту і фосфору на життєдіяльність мікрводоростей. Розглянуто перспективи використання зелених мікрводоростей як харчової, кормової, технічної і фармакологічної сировини, а також для біологічної очистки природних і стічних вод. Літературний огляд достатньо інформативний і побудований таким чином, що з нього логічно витікають завдання досліджень.

**Розділ «Об'єкти, матеріали та методи досліджень»** є досить деталізованим і добре інтерпретує всі практичні процедури з постановки експериментів та лабораторного аналізу. Автором застосовані загальноприйняті методи морфологічного та фізіолого-біохімічного аналізу.

**Експериментальні результати у розділі 3,** стосуються дії константних та динамічних температур на структурно функціональні характеристики зелених мікрводоростей: ріст, інтенсивність фотосинтезу та дихання, а також вміст білків, ліпідів і вуглеводів.

Було встановлено, що умови динамічного підвищення температури середовища при культивуванні зелених мікрводоростей сприяли збільшенню показників питомої швидкості росту, фотосинтезу та дихання для *Scenedesmus obtusus*, *Tetradesmus obliquus* та *Messastrum gracile*. Статичне підвищення температури середовища виявилось більш сприятливим для видів *Desmodesmus brasiliensis*, *Desmodesmus communis*, *Tetradesmus dimorphus* та *Monoraphidium griffithii*.

Автором показано, що на експоненційній фазі росту досліджені культури зелених мікроводоростей мають різний адаптивний потенціал відповідно за дії константного (*Desmodesmus brasiliensis*, *Desmodesmus communis*, *Tetradesmus dimorphus*, *Monoraphidium griffithii*) та динамічного (*Scenedesmus obtusus*, *Tetradesmus obliquus*, *Messastrum gracile*) температурного режимів. Так, ріст мікроводоростей Chlorophyta залежить як від динамічного підвищення температури середовища, так і від фази росту культури. Температурний чинник суттєво змінює розміри клітин, інтенсивність та питому швидкість росту мікроводоростей. При динамічному підвищенні температури середовища відбувалось суттєве здрібнення клітин.

Автором проаналізовано зміну вмісту загальних білків, вуглеводів та ліпідів за різної тривалості вирощування низки зелених водоростей. Показано, що коливання кількості цих біохімічних компонентів пов'язані з віком культури та температурою. Так, максимальний вміст білків та вуглеводів відзначено при  $31 \pm 1$  °C, а ліпідів при  $28 \pm 1$ .

На основі отриманих результатів дисертант стверджуємо, що адаптивний потенціал зелених мікроводоростей за показниками інтенсивності фотосинтезу та дихання в умовах константного температурного режиму проявляється у культур *Tetradesmus obliquus*, *Monoraphidium griffithii*, а динамічного підвищення температури – у *Scenedesmus obtusus*, *Desmodesmus brasiliensis*.

**Розділ 4** присвячений вивченню впливу щільності фотосинтетичного фотонного потоку та спектрального складу на ріст і розмноження зелених мікроводоростей. Крім того, автором проаналізовано зміну вмісту загальних білків, вуглеводів та ліпідів за різної щільності фотосинтетичного фотонного потоку та спектрального складу з різною довжиною хвилі. Показано, що перераховані чинники суттєво впливає на коливання кількості цих біохімічних компонентів. Так, у клітинах культури *Desmodesmus brasiliensis* найвищий вміст білків зафіксовано при щільності фотосинтетичного фотонного потоку  $47,5$  мкмоль  $\text{м}^{-2}\text{с}^{-1}$  та синьому спектрі (400–480 нм), ліпідів при  $22,1$  мкмоль  $\text{м}^{-2}\text{с}^{-1}$  та синьому спектрі (400–480 нм), вуглеводів – при  $22,1$  мкмоль  $\text{м}^{-2}\text{с}^{-1}$  та червоному спектрі (600–700 нм). Водночас, у

культури *Monoraphidium griffithii* при синьому спектрі зафіксовано збільшення білків та вуглеводів, а при червоному – ліпідів.

Дисертант відмічає, що адаптація мікрободоростей до фотосинтетичного фотонного потоку та спектрального складу світла тісно пов'язана зі змінами протікання метаболічних процесів у його клітинах, що супроводжується активацією енергоємних процесів, на забезпечення яких використовується білок, вуглеводи та ліпіди. Таким чином, за рахунок регуляції рівня щільності фотосинтетичного фотонного потоку та спектрального складу з різною довжиною хвилі, можна суттєво підвищити показники росту та розмноження зелених мікрободоростей, що є проявом їх адаптивного потенціалу.

У 5-му розділі автором проаналізовано зміни вмісту неорганічних форм азоту та фосфору у процесі росту низки зелених водоростей. Дисертантом були отримані дані щодо росту мікрободоростей за різного хімічного складу поживних середовищ, в залежності від температурних умов та щільності фотосинтетичного фотонного потоку. Показано, що представники родини Scenedesmaceae з різною інтенсивністю та швидкістю проходили фази росту залежно від вмісту і співвідношення азоту нітратів та фосфору фосфатів. В умовах періодичного культивування зелених мікрободоростей помірні концентрації азоту нітратів і незначні фосфору фосфатів у співвідношенні 11:1 (середовище Фітцджеральда) позитивно впливають на ріст всіх досліджених культур мікрободоростей, особливо *Scenedesmus ellipticus*, *Desmodesmus brasiliensis* та *Tetradesmus dimorphus*, в той час як співвідношення азоту нітратів і фосфору фосфатів 1:1 (середовище Болда) сприяє росту та розмноженню лише *Tetradesmus dimorphus* та *Chlorella vulgaris*. Високі концентрації азоту нітратів і фосфору фосфатів (середовище Тамія) негативно впливають на протікання метаболічних процесів всіх досліджених видів, що свідчить про нераціональність його використання при періодичному культивуванні мікрободоростей.

Зменшення азоту нітратів та фосфору фосфатів у середовищі при вирощуванні *Desmodesmus brasiliensis* ефективніше відбуваються в діапазоні температур 28–34±1 °C та щільності фотосинтетичного фотонного потоку 47,5 мкмоль м<sup>-2</sup>с<sup>-1</sup>, що свідчить про вищу інтенсивність метаболізму цього виду за даних умов. На думку

автора дана закономірність є необхідною складовою при вирощуванні мікроводоростей в штучних умовах.

Дисертантом проаналізовано зміну варіабельності морфометричних показників зелених мікроводоростей в залежності від вмісту неорганічного азоту та фосфору фосфатів. Показано, що склад поживного середовища суттєво впливає на розміри клітин мікроводоростей та співвідношення їх довжини і ширини. Різні види мікроводоростей демонструють видоспецифічні особливості формування морфометричних характеристик в залежності від співвідношення біогенних елементів у поживному середовищі. Автор відмічає, що встановлені закономірності необхідно враховувати при вирощуванні мікроводоростей, зокрема для отримання високої біомаси, що безпосередньо залежить від розмірів клітин.

У 6-му розділі дисертантом проаналізовано формування адаптивних реакцій низки зелених мікроводоростей за дії провідних абіотичних чинників (температура, щільність фотосинтетичного фотонного потоку, спектральний склад, поживні речовини) при культивуванні в штучних умовах. Автор відмічає, що адаптивний потенціал різних видів зелених мікроводоростей проявляється через високу питому швидкість росту, зміни інтенсивності фотосинтезу та дихання, здрібнення клітин, накопичення біологічно цінних сполук. Кожен із досліджуваних видів зелених мікроводоростей має свій набір оптимальних умов, де у повній мірі розкриває адаптивний потенціал, встановлення якого є вкрай необхідним при їх культивуванні в штучних умовах. Показано, що культури *Desmodesmus subspicatus*, *Messastrum gracile*, *Monoraphidium griffithii*, *Scenedesmus obtusus*, *Tetradesmus dimorphus* за даними температурного режиму та розрахунку показників питомої швидкості росту віддавали перевагу більш низьким температурам –  $22-25 \pm 1$  °C; *Scenedesmus ellipticus*, *Desmodesmus brasiliensis*, *D. communis* високим  $31-34 \pm 1$  °C, а за показниками питомої швидкості росту культури *Desmodesmus brasiliensis*, *Monoraphidium griffithii* та *Chlorella vulgaris* віддавали перевагу щільності фотосинтетичного фотонного потоку  $47,5$  мкмоль  $m^{-2}c^{-1}$ . Автор відмічає, що зелені мікроводорості краще ростуть на синьому та червоному спектрі. Встановлено, що культури *Desmodesmus brasiliensis* та *Tetradesmus dimorphus*, порівняно з іншими

дослідженими видами, характеризуються найвищими адаптивними можливостями, що проявляються за дії провідних абіотичних чинників (температура, щільність фотосинтетичного фотонного потоку, спектральний склад, поживні речовини) в певному діапазоні.

Із досліджених 10 видів водоростей, найвищий адаптивний потенціал за комплексної дії абіотичних чинників при періодичному вирощуванні в штучних умовах має *Desmodesmus brasiliensis*, що робить його перспективним об'єктом. Тому дисертантом була розроблена технологічна схема його культивування в штучних умовах при безперервно-циклічному вирощуванні. Дисертантом показано, що технологічна схема культивування складається з отримання інокуляту, безперервно-циклічного нарощування біомаси, отримання суспензії мікрководоростей, коригування та внесення наступної порції поживного середовища та переробки суспензії мікрководоростей з метою отримання пасти або сухої речовини.

Автором проаналізовано зміну вмісту загальних білків, вуглеводів та ліпідів за різної температури, щільності фотосинтетичного фотонного потоку та спектрального складу з різною довжиною хвилі у клітинах *Desmodesmus brasiliensis*. Показано, що ці чинники суттєво впливає на коливання кількості цих біохімічних компонентів. Зокрема, максимальний вміст білків (47 %), ліпідів (18 %) та вуглеводів (14 %) у клітинах *Desmodesmus brasiliensis* відзначали в інтервалі температур 31–34 °С, що підтверджується найвищими показниками питомої швидкості росту і може свідчити про оптимальні умови культивування. Підвищення вмісту білків на 30 %, та ліпідів на 18 %, спостерігалось при щільності фотосинтетичного фотонного потоку 47,5 мкмоль м<sup>-2</sup>с<sup>-1</sup> і спектральному складі з довжиною хвилі 400–480 нм, а вуглеводів (16 %) при 600–700 нм.

Показано, що при вирощуванні *Desmodesmus brasiliensis* упродовж 21 доби при температурах 31-34±1 °С та щільності фотосинтетичного фотонного потоку 47,5 мкмоль м<sup>-2</sup>с<sup>-1</sup> на середовищі зі співвідношенням азоту нітратів та фосфору фосфатів 11:1 відбулося зменшення кількості цих біогенних речовин на 88 % (p=0,01) та 99 % (p=0,01) відповідно. Автор відмічає, що це свідчить про можливість використання даного виду для очистки стічних вод.



Дисертантом також були отримані дані щодо профілю жирних кислот клітин *Monoraphidium griffithii*. Показано, що їх основу формують олеїнова, пальмітинова та лінолева кислоти, що свідчить про можливість використання даного виду в якості продуцента органічних сполук для виробництва біодизелю.

**Висновки.** Автор надає 11 висновків. В них відображені основні положення, які винесені на захист дисертації. Висновки дисертаційної роботи повністю відображають зміст отриманих експериментальних даних. Заслуговує на увагу опрацювання значної кількості літератури, яка безпосередньо стосується досліджуваної теми. Це свідчить про високу обізнаність та наукову відповідальність автора.

**Відсутність (наявність) порушення академічної доброчесності.** Аналіз тексту дисертації свідчить про відсутність порушення автором вимог академічної доброчесності. Використані ідеї і результати інших авторів мають посилання на відповідне джерело.

Анотація відображає основний зміст дисертаційної роботи. Вона не містить положень чи ідей, що не наведені в основному тексті.

**Разом з тим до роботи можна висловити окремі зауваження та запитання:**

1. На с. 4–5 сказано «... максимальний вміст білків відзначали в інтервалі температур 28–31°C у період пізньої фази експоненційного росту, при цьому з переходом на стаціонарну фазу відбувається достовірне зменшення їх кількості у 1,7 разів ( $p \leq 0,05$ ), що підтверджує загальну закономірність їх накопичення. В той же час, найвищий вміст вуглеводів у клітинах зафіксовано при  $31 \pm 1^\circ\text{C}$  на експоненційній фазі росту з подальшим незначним зниженням на стаціонарній...» Доцільно було б вказати на яку добу це спостерігалось.

2. На с. 89 зазначається « ... рівень PPFD не впливав на швидкість проходження лаг-фази, проте *D. brasiliensis* та *C. vulgaris* пройшли її у 3,5 рази швидше, ніж *M. griffithii* (2, 2 та 7 діб відповідно) ... ». Не зовсім зрозуміло що ви мали на увазі. На наш погляд необхідно відмітити для яких видів водоростей рівень PPFD не впливав на швидкість проходження лаг-фази.

3. На наш погляд, у пункті 5.3 доцільно було б спочатку розглядати зміни вмісту нітратного азоту у культуральному середовищі, а потім амонійного та нітритного, які з'являються лише у процесі росту водоростей.

4. Зважаючи на те, що у культуральному середовищі азот знаходиться у формі нітратів, а інші форми азоту (амонійний, нітритний) спостерігаються у процесі росту водоростей в результаті дії ферментів азотного обміну, більш доцільно було б замінити на с. 104 у реченні «З метою з'ясування впливу поживних елементів, зокрема азоту та фосфору фосфатів, на процеси росту» на «З метою з'ясування впливу поживних елементів, зокрема азоту нітратів та фосфору фосфатів, на процеси росту». Невдалими є також вирази «співвідношення азоту і фосфору фосфатів» (на с. 105, 114, 115, 116, 123) та «концентрації біогенних елементів азоту та фосфору фосфатів у співвідношенні 11:1 (0,080 : 0,007 г/дм<sup>3</sup>)» (на с.128).

5. На наш погляд на с. 104 у заголовку табл. 5.1. невдалим є вираз «Кількість N/P». N/P – так позначається співвідношення азоту до фосфору, а не їх кількість у середовищі. Тому, більш доцільно замінити «Кількість N / P» на «Кількість N-NO<sub>3</sub> та P-PO<sub>4</sub>».

6. На с. 129 (рис. 6.2) доцільно було б «Поживне середовище: Фітцджеральда (N:P = 0,081:0,007 = 11:1)» замінити на «Поживне середовище: Фітцджеральда N:P = 0,081:0,007 г/дм<sup>3</sup> (11:1)».

7. На с. 125. – вказано «азоту нітратів (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>)», мабуть автор у дужках мав на увазі тільки NO<sub>3</sub><sup>-</sup>.

8. Слід привести до належного універсального вигляду одиниці виміру вмісту азоту та фосфору в середовищі: на с. 125, 128 вони наведені в г/дм<sup>3</sup>, а на с.135, 134 – в мг/см<sup>3</sup>.

9. Слід привести до належного універсального вигляду список використаних джерел. В окремих випадках відсутні сторінки, наприклад, для № 15, 20, 81, 110, 114, 128 і т. д.

10. В роботі зустрічаються деякі помилки технічного характеру: на с. 123 – повторюється вираз (перший абзац); кількість знаків має бути однаковою хоча б у межах одного розділу; у багатьох випадках замість довгого тире дисертант

застосовує коротке і т.п. Проте, наведені зауваження і побажання не зменшують цінність дисертаційної роботи.

Отже, дисертаційна робота Леонтьєвої Тетяни Олександрівни є самостійним, завершеним науковим дослідженням. Актуальність обраної теми дослідження, достовірність та наукова новизна одержаних результатів, обґрунтованість наукових положень та висновків, їх вірогідність та повнота викладу в опублікованих працях свідчать про глибоку наукову самостійність автора, сучасний рівень проведеного дослідження.

На основі всього вище переліченого вважаю, що дисертаційна робота Леонтьєвої Тетяни Олександрівни на тему «Адаптивний потенціал зелених мікроводоростей (Chlorophyta) при вирощуванні в штучних умовах», яка подана на здобуття наукового ступеня доктора філософії, за своїм науковим рівнем та практичною цінністю, змістом та оформленням відповідає вимогам «Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України № 44 від 12 січня 2022 року та сучасним вимогам до оформлення дисертацій, затвердженим наказом Міністерства освіти і науки України від 12 січня 2017 р. № 40, а її автор заслуговує на присудження наукового ступеня доктора філософії в галузі знань 09 «Біологія» за спеціальністю 091 «Біологія».

Рецензент,  
науковий співробітник відділу  
екології водних рослин та токсикології  
Інституту гідробіології НАН України,  
кандидат біологічних наук,  
старший науковий співробітник



Вікторія МЕДВЕДЬ  
 Іс засвідчує  
 Секретар  
 06 » грудня 20 22