

## ВІДЗИВ

на дисертаційну роботу Леонтєвої Тетяни Олександрівни на тему:  
«Адаптивний потенціал зелених мікроводоростей (*Chlorophyta*) при  
вирощуванні в штучних умовах»,  
представлену на здобуття наукового ступеня доктора філософії в галузі знань  
09-«Біологія» за спеціальністю 091-«Біологія»

У процесі онтогенетичного та філогенетичного розвитку гідробіонтів різних трофічних рівнів та екологічних груп в природних умовах сформувався екологічний потенціал, завдяки якому забезпечується їхня життєдіяльність за дії низки різноманітних абіотичних, біотичних та антропогенних чинників. Разом з тим, при культивуванні в модельних умовах, використовують поняття «Адаптивний потенціал» до дії певного чинника (-ів). Адаптивний потенціал представників *Chlorophyta* – це комплекс генетично та метаболічно обумовлених специфічних реакцій, спрямованих на підтримання структурно-функціональної ідентичності та життєздатності за дії провідних абіотичних чинників (температура, енергія ФАР та поживне середовище) на різних рівнях організації: популяційно-видовому та молекулярному. Саме цим питанням присвячена дисертаційна робота Леонтєвої Т.О., в якій авторка досліджує адаптивний потенціал зелених мікроводоростей за дії абіотичних чинників при періодичному культивуванні в модельних умовах. За структурно-функціональними характеристиками представників зелених мікроводоростей родин *Scenedesmaceae*, *Selenastraceae* і *Chlorrellaceae* оцінено адаптивний потенціал при дії температури у статичному та динамічному режимах: показники росту і розмноження залежно від щільності фотосинтетичного фотонного потоку та спектрального складу світла; концентрації та співвідношення нітратного азоту та фосфору фосфатів залежно від концентрації та співвідношення нітратного азоту та фосфатів; вміст біогенних елементів у середовищі на різних фазах росту при вирощуванні зелених мікроводоростей за дії різного рівня температури та щільності фотосинтетичного фотонного потоку; вміст біогенних елементів у середовищі на різних фазах росту при вирощуванні зелених мікроводоростей за дії різного рівня температури та щільності фотосинтетичного фотонного потоку.

Зважаючи на зазначене, актуальність дисертації полягає у врахуванні здатності водоростей рости і створювати біомасу у чітко визначених умовах (за певної температури, світла, складу поживного середовища тощо), а також їхні метаболічні особливості. Актуальним питанням при культивуванні мікроводоростей в модельних умовах є вивчення їх адаптивного потенціалу та метаболізму за участю білків, жирів і вуглеводів.

Дисертаційна робота виконана відповідно до наукових досліджень, що здійснювалися в Інституті гідробіології НАН України в межах держбюджетних тем: «Особливості фізіологічної адаптації та екологічний потенціал гідробіонтів різних трофічних рівнів при їх культивуванні в штучних умовах» (№ держреєстрації 0118U003541) і «Використання штучних біоценозів із гідробіонтів різних трофічних рівнів для очищення та відновлення якості поверхневих і стічних вод» (№ держреєстрації 0120U103039).

Наукова новизна дослідження. На основі встановлених та узагальнених показників росту та розмноження (питома швидкість росту, середньодобові коефіцієнти збільшення чисельності клітин, розміри та об'єм клітин, інтенсивність фотосинтезу та дихання, вміст білків жирів і вуглеводів у клітинах) зелених мікроводоростей з родин Scenedesmaceae, Selenastraceae та Chlorellaceae, з'ясовано особливості прояву комплексних реакцій у межах різного адаптивного потенціалу зелених мікроводоростей за дії провідних абіотичних чинників (температура, довжина хвилі, співвідношення азоту та фосфору) при культивуванні в штучних умовах. Визначено види з найвищим адаптивним потенціалом. На основі встановлених та узагальнених показників росту та розмноження (питома швидкість росту, середньодобові коефіцієнти збільшення чисельності клітин, розміри та об'єм клітин, інтенсивність фотосинтезу та дихання, вміст білків жирів і вуглеводів у клітинах) зелених мікроводоростей з родин Scenedesmaceae, Selenastraceae та Chlorellaceae, з'ясовано особливості прояву комплексних реакцій у межах різного адаптивного потенціалу зелених мікроводоростей за дії провідних абіотичних чинників (температура, довжина хвилі, співвідношення азоту та фосфору) при

культивуванні в модельних умовах. Визначено види із найвищим адаптивним потенціалом.

На основі адаптаційного потенціалу зелених мікроводоростей, вперше розроблено практичні рекомендації та технологічну схему безперервно-циклічного культивування високопродуктивного виду *D. brasiliensis* у модельних умовах з метою отримання сировини різноманітного призначення, що становить практичне значення роботи.

Дисертаційна робота побудована за традиційною схемою. Містить анотацію, вступ, огляд фахової літератури, матеріали та методи дослідження, чотири розділи власних досліджень, висновки та список використаних літературних джерел (288 найменувань, з яких 218 – іншомовних). Загальний обсяг дисертації становить 163 сторінки. Текст ілюстровано 49 рисунками та 14 таблицями.

Розділ I. Зелені мікроводорості (Chlorophyta) як об'єкт вирощування в штучних умовах (с. 25 – 56, що становить 17,7 % роботи). Дано характеристику вирощування, екологічного та біотехнологічного значення зелених мікроводоростей, оцінено значення температурного режиму середовища як провідного чинника в життєдіяльності водоростей: вплив температури на біосинтетичні процеси у водоростей. Зазначено недостатність глибоких досліджень щодо з'ясування адаптивного потенціалу зелених мікроводоростей за дії динамічного температурного режиму при періодичному культивуванні в штучних умовах. Оцінено роль щільності фотосинтетичного фотонного потоку, спектрального складу та фотоперіоду для відтворення зелених мікроводоростей. За аналізом літературних даних щодо впливу синього та червоного спектрів на структурно-функціональні особливості росту зелених мікроводоростей показана їх видоспецифічність. Наголошено, що інтенсивність освітлення, також, визначає спрямованість біосинтетичних процесів зелених мікроводоростей, які характеризуються видоспецифічними особливостями накопичення білків, ліпідів та вуглеводів. Щільність фотосинтетичного фотонного потоку, спектральний склад та фотоперіод

суттєво впливають на ріст зелених мікроводоростей як на популяційно-видовому та молекулярному рівнях організації.

Визначено склад поживного середовища, в якому має бути весь комплекс необхідних для мікроводоростей сполук хімічних елементів, що має важливе значення для інтенсивного вирощування мікроводоростей в модельних умовах. Зазначається, що співвідношення та концентрація біогенних елементів в модельних умовах, за яких мікроводорості проявляють адаптивний потенціал, може суттєво відрізнитися від натурних, тому дослідження цієї закономірності є актуальними.

Отже, ріст та розмноження культур зелених мікроводоростей залежать насамперед від складу поживного середовища, зокрема концентрацій та співвідношення азоту і фосфору фосфатів, наявності мікроелементів, необхідних для нормального (стандартного) метаболізму. Недостатня кількість одного із цих елементів у середовищі знижує швидкість поділу клітин, біосинтетичні процеси та порушує внутрішні структури клітин.

Літературний огляд достатньо інформативний і побудований таким чином, що з нього логічно витікають завдання дослідження. Здійснений літературний огляд свідчить про багатогранність використання різних видів Chlorophyta.

Розділ 2. Матеріали і методи досліджень. ( с. 57-66, 6,28 % обсягу роботи). Містить інформацію про об'єкти досліджень, якими слугували альгологічно чисті культури зелених мікроводоростей (Chlorophyta), що зберігаються в Колекції культур Інституту гідробіології НАН України. Описано перелік середовищ культивування, процедури та умови вирощування мікроводоростей, схематичне описання методів і процедур оцінки продуктивності культур. Разом з тим конкретніше варто було б навести процедури визначення вмісту білків, ліпідів та вуглеводів (%).

Розділ «матеріали та методи» є досить деталізований і добре інтерпретує всі практичні процедури з постановки експериментів та лабораторного аналізу. Авторкою застосовані перевірені класичні методи біохімічного, альгологічного,

фізико-хімічного та математичного аналізу.

Розділ 3. Особливості структурно-функціональних характеристик chlorophyta залежно від температурних умов. (с. 66-91, що становить 14,5% обсягу роботи).

Показано, що ріст мікроводоростей Chlorophyta залежить як від динамічного підвищення температури середовища, так і від фази росту культури. За динамічного підвищення температури середовища, найвищу інтенсивність росту мають культури *M. griffithii* та *T. obliquus* відповідно на початку фази експоненційного росту та її середині. Можна припустити, що пов'язано з тим, що на даному етапі росту мікроводоростей, поживне середовище містить у своєму складі більшу концентрацію сполук азоту та фосфору фосфатів, ніж наступні, а також, за рахунок меншої чисельності клітин, відбувається менше затінення. Встановлено, що при динамічному підвищенні температури середовища відбувалось суттєве здрібнення клітин.

Розділ 4. Вплив щільності фотосинтетичного фотонного потоку та спектрального складу на структурно-функціональні характеристики зелених мікроводоростей (с. 91-106, що становить 8,6 % обсягу роботи).

Встановлено, що адаптація мікроводоростей 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 білки, вуглеводи та ліпіди. За рахунок регуляції рівня PPFD та спектрального складу світла з різною довжиною хвилі, можна суттєво підвищити показники росту та розмноження зелених мікроводоростей, що є проявом їх адаптивного потенціалу.

Розділ 5. Оцінка впливу поживних речовин на ростові показники Chlorophyta за умов періодичного культивування. (С. 106-125, що складає 10,8 % обсягу роботи).

Встановлено, що в умовах періодичного культивування, найбільш сприятливим для росту Chlorophyta є середовище Фітцджеральда, що має

співвідношення азоту і фосфору фосфатів 11:1, в той час як Болда - (1:1) сприяє росту та розмноженню лише *T. dimorphus* та *C. vulgaris*. Зменшення азоту нітратів та фосфору фосфатів у середовищі при вирощуванні *D. brasiliensis* ефективніше відбуваються в діапазоні температур 28–34±1 °С та щільності PPFD 47,5 мкмоль м<sup>-2</sup>с<sup>-1</sup>, що свідчить про вищу інтенсивність метаболізму цього виду за цих умов. Ця закономірність є необхідною складовою при вирощуванні мікрводоростей в модельних умовах.

Розділ 6. Адаптивний потенціал зелених мікрводоростей за дії абіотичних чинників при культивуванні в штучних умовах. (с. 125-141, що становить 9,1 % обсягу роботи).

Встановлено оптимальні значення провідних абіотичних чинників, які формують адаптивний потенціал *D. brasiliensis* на популяційно-видовому та молекулярному рівнях, що є теоретичними засадами для його практичного впровадження в безперервно-циклічному культивуванні, що дозволить отримати високу біомасу.

Загалом, вплив спектрального складу світла на ріст зелених мікрводоростей, показав, що для *T. dimorphus*, *M. gracile* та *M. griffithii* ці показники дещо збільшувалися при синьому спектрі з довжиною хвилі 400–480 нм, *D. communis* при червоному спектрі (580–700 нм), а *D. brasiliensis* як при червоному (580–700 нм), так і білому (400–700 нм). Можна припустити, що адаптація *D. brasiliensis* до дії провідних абіотичних чинників: температури, фотосинтетичного фотонного потоку та спектрального складу світла тісно пов'язана зі змінами протікання метаболічних процесів у клітинах мікрводоростей, які супроводжується активацією енергоємних процесів, на забезпечення яких використовуються білки, вуглеводи та ліпіди.

Показано особливості росту та розмноження культур зелених мікрводоростей за дії поживних середовищ з різною концентрацією та співвідношенням нітратного азоту та фосфору фосфатів : Фітцджеральда – 11:1, Болда – 1:1, Тамія – 2:1. Аналіз середньодобових коефіцієнтів збільшення чисельності клітин зелених мікрводоростей показав, що помірні

концентрації азоту та фосфору у співвідношенні 11:1 позитивно впливають на ріст всіх досліджених культур. Найвищий адаптивний потенціал за даних умов вирощування мав *D. brasiliensis*, що перевищував показники росту клітин порівняно з середовищами Болда та Тамія, відповідно, у 4,0 та 40,0 разів. Середовище з однаковим співвідношенням азоту та фосфору сприяло росту лише культур *T. dimorphus* та *C. vulgaris*. При цьому, *T. dimorphus* відзначився значнішими середньодобовими коефіцієнтами збільшення чисельності клітин у порівнянні з середовищем Фітцджеральда та Тамія. Водночас, високі концентрації біогенних елементів негативно впливають на протікання фотобіосинтезу у всіх досліджених видів, що свідчить про нераціональність використання при періодичному культивуванні мікродоростей.

Детально розглянуто вміст неорганічних форм азоту (амонійний, нітритний, нітратний) та фосфору фосфатів у середовищі Фітцджеральда при культивуванні *D. brasiliensis*. Можна припустити, що зменшення концентрації нітратного азоту в середовищі відбувалося за рахунок його асиміляції в клітинах мікродоростей – відновлення за участю ферментів нітрат- та нітритредуктази до амонію, глутамату та білків. Разом з тим, упродовж проходження культурою лаг-фази та експоненційної, спостерігалось поступове збільшення у культуральному середовищі іонів амонію і нітритів. Вміст амонійного азоту у середовищі був максимальним на початку фази експоненційного росту (7 доба). При цьому, в умовах високих температур ( $31 \pm 1$  °C), він був у 1,3 рази меншим ( $p \leq 0,05$ ), ніж за низьких ( $22 \pm 1$  °C), а при PPFD  $47,5 \text{ мкмоль м}^{-2}\text{с}^{-1}$  його рівень знижувався у 15,8 рази ( $p \leq 0,001$ ), порівняно із  $22,1 \text{ мкмоль м}^{-2}\text{с}^{-1}$ . Вміст нітритів у середовищі за щільності PPFD  $47,5$  поступово збільшувався до кінця фази експоненційного росту (21 доба), з подальшим зменшенням у 1,4 рази при виході на стаціонарну ( $p \leq 0,05$ ). Найвищі значення вмісту нітритів у поживному середовищі у цей період (21 доба) зафіксовано при температурному режимі  $31 \pm 1$  °C та PPFD  $47,5 \text{ мкмоль м}^{-2}\text{с}^{-1}$ . При цьому, концентрація фосфору фосфатів у культуральному

середовищі з початкового рівня (7,1 мг/дм<sup>3</sup>), наприкінці експоненційної фази знизилася до 99 % ( $p \leq 0,01$ ).

На основі середньодобових коефіцієнтів збільшення чисельності клітин, встановлено, що культури *D. brasiliensis* та *T. dimorphus* порівняно з іншими дослідженими видами, характеризуються найвищими адаптивними можливостями, що проявляються за дії провідних абіотичних чинників (температура, PPFD, спектральний склад, поживні речовини) в певному діапазоні.

З урахуванням фізіологічних особливостей *D. brasiliensis* та абіотичних чинників, що підвищують його продуктивність, розроблено рекомендації та технологічна схема його культивування, що складається з наступних етапів: отримання інокуляту; безперервно-циклічне нарощування біомаси; отримання суспензії мікроводоростей; внесення наступної порції коригованого поживного середовища.

Враховуючи залишки неорганічних форм азоту та фосфору фосфатів у фотобіореакторі після кожного циклу вирощування, створено схему корегування поживного середовища за вмістом біогенних елементів. Таким чином, після кожного його внесення до фотобіореактора, вміст нітратного азоту та фосфору фосфатів буде оптимальним для інтенсивного росту *D. brasiliensis*.

Вперше розроблено практичні рекомендації та технологічну схему масового культивування культури *D. brasiliensis* в модельних умовах при безперервно-циклічному вирощуванні.

Виходячи із зазначеного дисертанткою досягнуто поставлених теоретичних і практичних завдань, зміст досліджень розкриває проблему, що розглядається, глибина досліджень достатня для обґрунтування гіпотези та формулювання зроблених висновків.

Одержані дисертанткою дані ґрунтовно проаналізовані, обговорені, пов'язані з літературними повідомленнями. Висновки дисертації повністю витікають з експериментальних даних. Заслуговує на увагу опрацювання



значної кількості наукової літератури, яка безпосередньо стосується досліджуваної теми. Це свідчить про високу обізнаність, скрупульозність та наукову відповідальність авторки.

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

1. Чи доцільно використовувати вираз «штучні умови вирощування» якщо мова йде про вирощування водоростей в модельних умовах – моделювання культурального середовища для водоростей? Чи не варто зазначити ці умови як «модельні»?
2. Що авторка вкладає у поняття «адаптивний потенціал»? Чим, крім популяційно-видової (генетичної) індивідуальності водоростей, він визначається?
3. Визначення концентрації досліджуваних речовин (бідків, ліпідів та вуглеводів) проводили в біомасі і виражали в %. Наскільки ця розмірність (%) адекватно відображає біологічну активність і значення цих речовин, якщо мова йде про їх валовий вміст, а роль у формуванні адаптаційного потенціалу є індивідуальною?
4. Як впливають на адаптивність водоростей розмірні показники клітин та щільність їх зростання?
5. Активність яких метаболічних процесів у водоростей суттєво визначає їхню адаптивну здатність?
6. Чи впливає температура культивування на адаптивну здатність водоростей шляхом формування білків теплового шоку (БТШ)?
7. На нашу думку необхідно уніфікувати одиниці вимірювання для однакових показників у різних дослідних серіях?
8. В роботі присутні деякі лексичні, орфографічні та стилістичні помилки.

Проте, зауваження і побажання не зменшують цінність дисертаційної роботи, а лише дають змогу провести цікаву наукову дискусію із зазначеного напрямку дослідження.

Апробація роботи. За матеріалами дисертації опубліковано 17 праць, включно 4 статті, що входять до наукометричної бази даних Scopus та 2 статті у наукових фахових виданнях України, а також 11 матеріалів та тез доповідей на

з'їздах, конференціях та конгресах.

Анотація повною мірою відображає зміст роботи. Вона не містить тверджень чи ідей, які не наведені в основному тексті дисертації.

Рукопис написаний змістовно, літературною мовою, стиль викладення матеріалу науковий, думки висловлені логічно та послідовно.

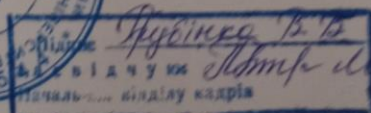
На основі всього вище переліченого вважаю, що дисертаційна робота Леонтьєвої Тетяни Олександрівни на тему «Адаптивний потенціал зелених мікроводоростей (Chlorophyta) при вирощуванні в штучних умовах», яка захищається на здобуття ступеня доктора філософії, за своїм науковим рівнем та практичною цінністю, змістом та оформленням відповідає вимогам пп. 9, 10, 11 «Порядку проведення експерименту з присудження ступеня доктора філософії», затвердженому постановою Кабінету Міністрів України від 6 березня 2019 р. № 167 та сучасним вимогам до оформлення дисертацій, затвердженим наказом Міністерства освіти і науки України від 12 січня 2017 р. № 40, а її авторка заслуговує на присудження наукового ступеня доктора філософії в галузі знань 09 «Біологія» за спеціальністю 091 «Біологія».

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



*[Handwritten signature]*

Грубінко В.В.



28.11.22 р.