ВІДЗИВ

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

Роботу присвячено дослідженню особливостей періодичного культивування ряду зелених мікроводоростей з родин Scenedesmaceae, Selenastraceae та Chlorellaceae та визначенню оптимальних значень провідних абіотичних чинників – температури, щільності фотосинтетичного фотонного потоку, спектрального складу світла та концентрації різних поживних речовин. Визначено види з найвищими ростовими характеристиками і розроблено схему неперервно-циклічного культивування *Desmodesmus brasiliensis* як найпродуктивнішого виду.

Актуальність теми. Зелені водорості є найчисленнішою та найбільш неоднорідною групою водоростей, відіграють важливу екологічну роль в природних умовах і мають велике біотехнологічне значення завдяки гнучному метаблізму, переважно гарним ростовим характеристикам, зручності масштабування їх культивування, а також відносній простоті дослідження і маніпулювання на генетичному рівні. Комплексні дослідження реакції культур водоростей на зміни ключових параметрів навколишнього середовища мають високу наукову цінність, оскільки допомагають не тільки знайти оптимальні комбінації параметрів, а й оцінити потенціал продукції різних цінних речовин і отримати результати, які дозволяють робити різні припущення щодо механізмів адаптації.

Наукова новизна і практична цінність роботи. В роботі вперше проведено детальні комплексні дослідження ряду характеристик культур зелених водоростей за різних значень температури, різних інтенсивності та спектрального складу освітлення і різного складу поживного середовища. Також

проведено порівняльне дослідження реакції на динамічну зміну температури. На основі детального і комплексного вивчення впливу різних факторів на різні характеристики культури, вперше розроблено практичні рекомендації та технологічну схему безперервно-циклічного культивування високопродуктивного виду *D. brasiliensis* у штучних умовах, що має важливе значення для біотехнологічного використання даного виду.

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій. В цілому роботу виконано на високому науковому рівні. Добре проведено аналіз літературних даних, коректно сплановано і проведено експерименти з врахуванням всіх методологічних особливостей таких експериментів.

Анотація є достатньо інформативною і повністю відповідає змісту роботи та сформульованим висновкам. Текст достатній за обсягом, змістом і добре проілюстрований.

Отримані дані не викликають сумнівів у їх достовірності і повністю опубліковані в 6 наукових статтях у фахових виданнях, з яких 4 статті – у закордонних виданнях, індексованих у базі даних Scopus. Також робота пройшла апробацію на 11 міжнародних та вітчизняних конференціях.

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 джерел, 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 мікроводоростей. Розглянуто перспективи використання зелених мікроводоростей 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» в цілому 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 мікроводоростей: ріст, інтенсивність фотосинтезу та дихання, а також вміст білків, ліпідів і вуглеводів.

Автором показано, що від температури культивування залежать розміри клітин, інтенсивність та питома швидкість росту мікроводоростей. При динамічному підвищенні температури відбувалось значне здрібнення клітин.

Максимальний вміст білків та вуглеводів відзначено при 31±1 °С, а ліпідів при 28±1.

Розділ 4 присвячений вивченню впливу щільності фотосинтетичного фотонного потоку та спектрального складу світла на ріст і розмноження зелених мікроводоростей, а також вміст білків, вуглеводів та ліпідів.

Розділ 5 присвячений аналізу змін вмісту неорганічних форм азоту та фосфору у процесі росту ряду зелених водоростей. 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 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, 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±1 °С; *Scenedesmus ellipticus, Desmodesmus brasiliensis, D. communis* – високим – 31–34±1 °С.

Висновки. Автор надає 11 висновків, в яких відображені основні положення, винесені на захист дисертації. Висновки повністю відовідають отриманим результатам.

Дискусійні положення та зауваження до дисертації. Текст дисертації викликає багато зауважень:

1. Часто зустрічаються некоректні або неоднозначні фрази: «різні прояви до дії», «зниження даних процесів», «Проведені … дослідження … характеризуються деякими особливостями», «Середовище з однаковим співвідношенням азоту та фосфору», «PPFD density», «щільністю PPFD», «phosphorus phosphates», «концентрація … знизилася до 99%».
2. Авторка констатує, що обрані значення інтенсивності світла, ймовірно, є замалими, і при її збільшенні, ймовірно, зросте швидкість росту водоростей, але, разом з тим, рекомендує інтенсивність 47,5 мкмоль квантів·$м^{-2}$·$с^{-1}$ як оптимальну для безперервно-циклічного культивування високопродуктивного виду *D. brasiliensis* у штучних умовах. Тут є суперечність, адже, справді, за вищих

значень інтенсивності освітлення варто очікувати більших значень швидкість росту.

3. В анотації на сторінці 5 міститься надто загальне і необгрунтоване припущення, що при адаптації білок виступає джерелом енергії.

4. Занадто вільне трактування і некоректне вживання поняття «адаптивний потенціал». Наприклад, у реченні на с. 5 : «Найвищий адаптивний потенціал за даних умов вирощування мав *D. brasiliensis*, що перевищував показники росту клітин порівняно з Болда та Тамія відповідно у 4,0 та 40,0 разів». Адаптивний потенціал не може перевищувати показники росту. Авторка у тексті часто плутає поняття «адаптивний потенціал» зі швидкістю росту або оптимальними умовами для росту, а це, по перше, різні поняття, і по друге, обидва не є адаптивним потенціалом. На с. 87 взагалі йдеться про адаптивний потенціал фотосинтетичного фотонного потоку – поняття, яке потребує додаткового визначення.

5. Перелік умовних скорочень містить загальноприйняті скорочення, одиниці вимірювання, математичні величини та хімічні формули, одним словом все крім умовних скорочень. Єдиним доречним скороченнм там є PPFD.

6. Не можна погодитися зі сформульованим авторкою визначенням поняття «адаптивний потенціал». На думку авторки адаптивний потенціал – це комплекс реакцій. Таке визначення більше підходить для адаптації, а не для потенціалу.

7. В розділі «Матеріали і методи» недостатню увагу приділено опису спектральному складу світла. Судячи з тексту, використовували 3 режими: білий (400–700 нм), червоний (580–700 нм) і синій (400-480 нм). При цьому не зрозуміло, який спектр був у «білого» режиму, і яким чином забезпечувалося червоне і синє світло. Як вимірювали PPFD? Авторка стверджує, що використовували лампи «з щільністю PPFD 47,5 мкмоль $м^{-2}с^{-1}$» Судячи з рис. 2.3., можна припустити, що різний спектр отримували додаванням світлофільтрів. Якщо це так, тоді такі світлофільтри знижували PPFD і навряд чи повністю блокували світло поза визначеними діапазонами (580-700 нм і 400-480 нм). Швидше за все, мали справу не з синім і червоним світлом, а з білим світлом збагаченим у «синій» або «червоній» ділянках спектру.

8. Що означає речення «Суха біомаса становила 20% від отриманого значення.» на с. 60. у розділі «Матеріали і методи»? Суху біомасу не визначали, а просто розраховували як 20% від сирої, яка у свою чергу, теж розрахована?

9. У формулах для розрахунку валової первинної продукції, дихання і чистої продукції допущено грубу помилку: різницю концентрацій авторка множить на час, а потрібно ділити. При цьому враховується лише зміна концентрацій, а не питома інтенсивність процесів, що теж викликає питання. Далі в результатах приводяться значення саме питомої інтенсивності, щоправда, з дивними одиницями вимірювання. Наприклад, рис. 3.15, підпис осі ординат: «Питомий фотосинтез, $x10^{-6}$ мг O_2*$дм^{-1}$*$кл^{-1}$». Як вийшло $дм^{-1}$? Чому не враховано одиниці часу?

10. На багатьох діаграмах змін щільності культур в часі наведено величину R^2, і в підписах стверджується, що це «достовірність експоненційної апроксимації середнього арифметичного». При цьому як самі значення, так і лінії тренду далекі від експоненційних, а значення R^2 як правило не нижче 0,98. Наведені на графіках апроксимації за формою точно не є ні експоненційним ростом, ні експоненційним спаданням (затуханням), а є значно складнішими, швидше за все поліноміальними. Потрібно було детальніше описати в методах процедуру апроксимації і обгрунтувати потребу в її проведенні. На мою думку, вона в даній роботі зайва.

11. Речення на с. 118: «Отже, зелені мікроводорості краще ростуть на синьому та червоному спектрі, оскільки містять хлорофіл a і b – основні пігменти, чутливі до цієї довжини хвиль». Це речення потребує серйозного редагування, вкрай некоректно вживаються наукові терміни. Є слово «краще», але відсутнє порівняння, відносно чого краще.

12. У висновку 3 стверджується, що показано продуктивність культури *D. brasiliensis*, що формально не відповідає дійсності, тому що власне продуктивність не досліджували, а лише спекулювали щодо неї.

13. У висновку 7 стверджується, що максимальний вміст білків, ліпідів і вуглеводів відзначали в інтервалі температур 31–34 °C, проте судячи з даних у

тексті, при 34 °С не спостерігається значень, які можна було б назвати максимальними або одними з найвищих.

Таким чином, зауваження стосуються в основному недостатньої уваги до коректного вживання наукових термінів і формулювання логічних зв'язків. При цьому, окремі частини тексту приємно дивуть коректністю і гарною виваженістю, а за цим в цілому неідеальним текстом добре простежується високий методологічний і науковий рівень. Крім того, варто відзначити надзвичайно великий обсяг проведених досліджень, який більш ніж відповідає рівню дисертації на здобуття ступеня доктора філософії. Робота є цілісною, всі проведені дослідження сприяють розкриттю теми, а огляд літератури має належний рівень і повністю відповідає темі. Таким чином, зауваження до тексту, окремі з яких формально є досить суттєвими, жодною мірою не ставлять під сумнів коректність проведених досліджень і зроблених висновків, а також не зменшують цінність роботи.

Враховуючи все вище викладене, вважаю, що дисертаційна робота Леонтьєвої Тетяни Олександрівни на тему «Адаптивний потенціал зелених мікроводоростей (Chlorophyta) при вирощуванні в штучних умовах», представлена на здобуття наукового ступеня доктора філософії, за науковим рівнем, 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».

Кандидат біологічних наук,
старший науковий співробітник
відділу мембранології і фітохімії
Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України О.В. Поліщук

Національна академія наук України
Інститут ботаніки ім. М.Г. Холодного
Ідентифікаційний код 05417199

Підпис Поліщука О.В.
засвідчую
Відділ кадрів