

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. Мікроводорості відділу Chlorophyta – це важлива складова автотрофної ланки водних екосистем і перспективний об'єкт для культивування в штучних умовах. При цьому, для отримання високопродуктивної біологічної сировини різноманітного призначення (кормового, вироблення енергії, очищення стічних вод тощо) необхідно враховувати здатність водоростей рости і накопичувати біомасу за чітко визначених умов. Тому, актуальним напрямом при культивуванні мікроводоростей є вивчення їхнього адаптивного потенціалу. Проте до теперішнього часу адаптивний потенціал зелених мікроводоростей був практично не дослідженим. Окрім того, в гідробіологічній науковій літературі наразі відсутнє чітке визначення суті адаптивного потенціалу. З огляду на це, актуальність дисертаційної роботи Леонтьєвої Тетяни Олександрівни, присвячена вивченню адаптивного потенціалу зелених мікроводоростей при вирощуванні в штучних умовах, не викликає сумніву.

Зв'язок роботи з науковими програмними, планами, темами. Роботу Т.О. Леонтьєвої було виконано в рамках низки планових тем Інституту гідробіології НАН України «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).

Мета дисертаційної роботи Леонтьєвої Т.О. – встановити адаптивний потенціал зелених мікроводоростей за дії абіотичних чинників при періодичному культивуванні в штучних умовах.

Наукова новизна і практична цінність роботи. Наукова новизна роботи полягає в тому, що авторкою вперше з'ясовано особливості прояву комплексних реакцій у межах різного адаптивного потенціалу зелених мікроводоростей за дії провідних абіотичних чинників, що визначають їхній ріст і розвиток (температура, щільність фотосинтетичного потоку, довжина світових хвиль, співвідношення азоту і фосфору), а також вперше визначено види, які характеризуються найвищим адаптивним потенціалом.

Робота має практичну цінність, адже на основі отриманих експериментальних даних авторкою вперше розроблено практичні рекомендації та технологічну схему безперервно-циклічного культивування *Desmodesmus brasiliensis* (Bohlin) E.Hegew для отримання біосировини різноманітного призначення.

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій. Дисертаційна робота Тетяни Олександровни Леонтьєвої є завершеною самостійною науковою працею, у якій з'ясовуються закономірності змін метаболічних показників (концентрації білків, ліпідів, вуглеводів) зелених мікроводоростей залежно від дії константної та динамічної температури, щільності фотосинтетичного потоку, довжини хвилі та вмісту біогенних елементів у поживному середовищі при періодичному культивуванні.

Дисеранткою проведено вичерпний і детальний ретроспективний огляд зарубіжної і вітчизняної наукової літератури, присвяченій досліджуваній проблемі. Наукові положення, висновки і практичні рекомендації, викладені в роботі, ґрунтуються на значному масиві експериментальних даних, які статистично опрацьовані, детально проаналізовані та узагальнені.

Висвітлення результатів у наукових публікаціях. Основні положення дисертаційної роботи відображені в 17 наукових публікаціях, із них 6 – у фахових виданнях (у тому числі 4 статті – у міжнародних виданнях, індексованих у базі даних Scopus, з яких 1 статтю опубліковано в журналах 4-го квартилю, 2 статті 3-го квартилю та 1 – 1-го квартилю), 11 – у матеріалах і тезах міжнародних та вітчизняних конференцій.

Аналіз структури дисертації та результатів наукових досліджень.

Дисертаційна робота складається з анотації, переліку умовних скорочень, вступу, огляду фахової літератури, матеріалів та методів дослідження, чотирьох розділів власних досліджень, висновків та списку використаних літературних джерел (288 найменувань, з яких 218 – іншомовні, що становить 76% від загальної кількості літературних джерел). Загальний обсяг дисертації становить 163 сторінки. Текст ілюстровано 49 рисунками та 14 таблицями.

Вступ (5 с.). У Вступі обґрунтовано актуальність, наукову новизну досліджуваної теми, сформульовано мету і завдання дослідження, розкрито практичне значення отриманих результатів, наведено дані щодо зв'язку роботи з науково-дослідними темами Інституту гідробіології НАН України, публікацій, апробації роботи та особистого внеску здобувачки. Вступ повністю відповідає вимогам «Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії» (постанова Кабінету Міністрів України № 44 від 12.01.2022 р.) та сучасним вимогам до оформлення дисертацій (наказ Міністерства освіти і науки України від 12.01.2017 р. № 40).

Розділ 1. Зелені міководорости (*Chlorophyta*) як об'єкт вирощування в штучних умовах (29 с.). Розділ являє собою огляд наукової літератури по досліджуваній проблемі. На основі детального аналізу міжнародних і вітчизняних літературних джерел Тетяна Олексandrівна описує морфологічні, фізіологічні та екологічні особливості зелених міководоростей. Цікавими є наведені дані щодо поширення зелених водоростей в дуже малих екосистемах, а також симбіозу водоростей з іншими організмами.

Показано, що культивування монокультур зелених міководоростей залежить від абіотичних чинників, провідними з яких є температурний режим, енергія світла та вміст поживних речовин у середовищі, та детально охарактеризовано дію кожного з цих чинників на ростові і біосинтетичні процеси водоростей.

Крім того, проаналізовано використання зелених мікроводоростей у якості харчової, кормової, технічної і фармакологічної сировини та біологічного відновлення якості природних і стічних вод.

Підсумовуючи огляд літератури, авторка підкреслює, що наразі в Україні значно скоротились обсяги культивування зелених водоростей, тому існує нагальна необхідність у проведенні досліджень, спрямованих на вдосконалення методів їхнього вирощування та підвищення продуктивності, що і зумовлює актуальність рецензованої роботи.

Розділ 2. Матеріали і методи досліджень (9 с.). У даному розділі детально описано методи експериментальних досліджень, проведених Т.О. Леонтьєвою на базі біотехнологічного комплексу Інституту гідробіології НАН України. Обґрунтовано, чим зумовлено вибір для досліджень тих чи інших видів водоростей та умов їхнього вирощування.

Вважаю, що застосовані методи повною мірою відповідають меті і завданням дослідження і оцінюю цей розділ позитивно, проте зауважу:

1. На с. 54 зазначено, що більшість зелених водоростей є мезофілами, тобто активно розвиваються в діапазоні температур 20–35°C. Бажано навести посилання на літературне джерело.
2. Слід детальніше описати конструкцію аквакамер для дослідження впливу абіотичних чинників на водорості. Тим більше, що авторка входить до складу колективу розробників цих аквакамер. Крім того, про участь у розробці аквакамер варто було зазначити в підрозділі «Практичне значення одержаних результатів».

Розділ 3. Особливості структурно-функціональних характеристик Chlorophyta залежно від температурних умов (24 с.). Представлені в даному розділі результати досліджень є надзвичайно важливими як з точки зору вдосконалення методів культивування водоростей, так і з точки зору збереження біорізноманіття різnotипних водойм і водотоків та прогнозування біопродуктивності водних екосистем в умовах глобальних кліматичних змін сьогодення.

На основі великого масиву експериментальних даних, які статистично опрацьовані, встановлено, що на експоненційній фазі росту культури зелених мікроводоростей мають різний адаптивний потенціал за дії константного та динамічного температурного режимів.

Значний інтерес представляє висновок про те, що максимальні показники приросту чисельності для *Scenedesmus ellipticus* Corda, *Desmodesmus brasiliensis* (Bohlin) E.Hegew та *Chlorella vulgaris* Bejerinck спостерігаються при температурі 34°C, що свідчить про здатність даних видів підвищувати продуктивність у діапазоні високих температур. У той же час види *Desmodesmus subspicatus* (Chodat) E. Hegew. et A. Schmidt, *Selenastrum gracile* Reinsch, *Monoraphidium griffithii* (Berkeley) Komark.-Legn. віддають перевагу нижчій температурі (22°C), а підвищення температури до 34°C викликає різке зменшення приросту або навіть загибель клітин.

На особливу увагу заслуговують отримані Т.О. Леонтьєвою дані щодо здрібнення водоростевих клітин при підвищенні температури води, що є проявом адаптивних реакцій. Важливим є те, що аналогічне явище зареєстроване й іншими дослідниками для природних водних екосистем, зокрема каскаду Дніпровських водосховищ. Отже, отримані результати є значним внеском у гідробіологічну науку.

У цілому, наведені в розділі матеріали мають велике теоретичне і практичне значення. Даний розділ без сумніву заслуговує на позитивну оцінку, проте є декілька запитань і побажань:

1. Чим можна пояснити, що при вирощуванні *Desmodesmus subspicatus* (Chodat) E. Hegew. et A. Schmidt за температури 22°C після 30 доби його чисельність починає знижуватись. І таке само зниження чисельності відмічається для *Desmodesmus brasiliensis* (Bohlin) E.Hegew після 25 доби при вирощуванні за температурі 34°C?
2. Чому при вирощуванні *Desmodesmus communis* E.Hegew за температури 22°C приблизно до 20 доби чисельність водоростей швидко наростає, а після цього залишається майже на постійному рівні?

3. На рис. 3.14 (с. 76) не позначено, який ряд даних відповідає розмірним характеристикам, і який ряд даних – швидкості росту культури.
4. Як побажання для майбутніх досліджень авторки: бажано проаналізувати причини відмінностей в оптимальних температурах вирощування різних видів водоростей. Чи можуть вони бути пов’язані з їхніми біохімічними особливостями чи географічним поширенням?

Розділ 4. Вплив щільності фотосинтетичного фотонного потоку та спектрального складу на ріст та розмноження зелених мікроводоростей (14 с.).

На основі експериментальних даних авторкою встановлено, що інтенсивність та спектральний склад світла є найважливішими чинниками, від яких залежить перебіг фотосинтетичних процесів водоростей. При цьому, ріст досліджуваних культур лінійно залежить від щільності фотосинтетичного фотонного потоку та відрізняється інтенсивністю і тривалістю фаз росту залежно від виду. У той же час, доведено, що найвищі показники у всіх досліджених культури мікроводоростей спостерігали при щільності PPFD 47,5 мкмоль $m^{-2} s^{-1}$.

Цінним як з теоретичної, так і практичної точки зору є встановлення впливу спектрального складу світла з різною довжиною хвилі на ріст водоростей та вміст у них біологічно цінних сполук. Зокрема, у клітинах культури *D. brasiliensis* найвищий вміст білків зафіксовано при PPFD 47,5 мкмоль $m^{-2} s^{-1}$ та синьому спектрі (400–480 нм), ліпідів при 22,1 мкмоль $m^{-2} s^{-1}$ та синьому спектрі (400–480 нм), вуглеводів – при 22,1 мкмоль $m^{-2} s^{-1}$ та червоному спектрі (600–700 нм). На основі отриманих результатів дисертація робить цілком вірний висновок про те, 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 білок, вуглеводи та ліпіди.

Одержані експериментальні дані мають перспективне значення і можуть бути використані для збільшення питомої швидкості росту та продуктивності водоростей

і підвищення вмісту в них білків, ліпідів та вуглеводів шляхом зміни спектрального складу світла.

У цілому, даний розділ заслуговує на високу позитивну оцінку.

У якості запитання, зазначу:

1. Авторкою встановлено, що більш сприятливий для росту *Desmodesmus brasiliensis* (Bohlin) E.Hegew рівень PPFD (47,5 мкмоль $m^{-2} s^{-1}$) сприяє зменшенню розмірних характеристик їхніх клітин. Чим це можна пояснити?

Розділ 5. Оцінка дії неорганічних форм азоту та фосфору фосфатів на ростові показники *Chlorophyta* за умов періодичного культивування (18 с.). Безперечним здобутком роботи є оцінка впливу біогенних речовин та їхнього співвідношення на ростові показники зелених водоростей. Варто підкреслити, що такі дослідження є цінними не тільки з точки зору культивування водоростей, а й з точки зору збереження біорізноманіття водних екосистем України в умовах сучасного підвищеного вмісту фосфатів.

Для з'ясування впливу біогенних елементів та їхнього співвідношення на ріст та розмноження культур зелених водоростей авторкою було обрано три середовища з різним співвідношенням азоту та фосфору: Фітцджеральда (11:1), Тамія (2:1), Болда (1:1).

У результаті досліджень встановлено, що для умов періодичного культивування зелених мікроводоростей помірні концентрації азоту нітратів і незначні фосфору фосфатів у співвідношенні 11:1 (середовище Фітцджеральда) позитивно впливають на ріст всіх досліджених культур мікроводоростей. Однакове співвідношення азоту нітратів та фосфору фосфатів з помірними концентраціями (середовище Болда) сприяє росту та розмноженню лише *Tetraedesmus dimorphus* (Turpin) M.J.Wynne та *Chlorella vulgaris* Bejerinck. Високі концентрації азоту нітратів і фосфору фосфатів (середовище Тамія) негативно впливають на протікання фотобіосинтезу всіх досліджених видів, що свідчить про нераціональність його використання при періодичному культивуванні мікроводоростей.

Встановлені дисертанткою закономірності щодо впливу складу поживного середовища на розміри водоростевих клітин мають важливе практичне значення і повинні бути враховані для отримання високої біомаси, яка прямо залежить від об'ємів клітин.

Безперечно, позитивно оцінюю даний розділ, але висловлю наступне:

1. На основі експериментальних даних авторкою встановлено, що вид *Tetradesmus dimorphus* (Turpin) M.J.Wynne був єдиним видом, який віддав перевагу середовищу Болда з підвищеною концентрацією фосфору фосфатів (співвідношення азоту і фосфору 1:1) та мав найвищий середньодобовий коефіцієнт збільшення чисельності клітин. Чи можна з цього зробити висновок, що *T. dimorphus* може бути використаний як індикатор підвищеного вмісту фосфатів у природних водних екосистемах? Чи є в літературі якісь дані з цього питання? Якщо такі дані відсутні, то це може бути предметом майбутніх досліджень авторки.

Розділ 6. Адаптивний потенціал зелених мікроводоростей за дії абіотичних чинників при культивуванні в штучних умовах (15 с.). У даному розділі представлено детальний аналіз та узагальнення усіх матеріалів дисертаційної роботи.

Опрацювання усього великого масиву експериментальних даних дозволило авторці зробити висновок, що з усіх досліджених 10 видів найвищий адаптивний потенціал за комплексної дії абіотичних чинників при періодичному вирощуванні в штучних умовах має *Desmodesmus brasiliensis* (Bohlin) E.Hegew, що робить його досить перспективним об'єктом аквакультури. З огляду на це, Тетяною Олександровною було розроблено технологічну схему його безперервно-циклічного культивування, що безперечно є внеском у розвиток сучасної аквакультури.

Важливо, що в ході виконання роботи Леонтьєвою Т.О. було вперше встановлено оптимальні значення провідних абіотичних чинників, які формують адаптивний потенціал *Desmodesmus brasiliensis* (Bohlin) E.Hegew на популяційно-видовому та молекулярному рівнях, що дозволить отримати високу біомасу цього виду.

Високу прикладну цінність мають результати, які показують, що при вирощуванні *Desmodesmus brasiliensis* (Bohlin) E.Hegew за оптимальних умов, упродовж експозиції відбувається зменшення вмісту нітратів на 88%, а фосфатів на 99%, що робить культуру даного виду перспективною для очищення стічних вод.

Висновки (2 с.). Представлені 11 висновків чітко сформульовані, обґрунтовані, логічно випливають з отриманих результатів та відображають основні положення рецензованої дисертаційної роботи.

Список використаних джерел (29 с.). Список використаних джерел містить 288 найменувань, більшість із яких (218) є іншомовними, і оформлені відповідно до встановлених вимог.

У цілому, по тексту дисертації є декілька технічних помилок, зокрема:

- с. 18 – m^3 /год – *метр квадратний за годину* (замість *метр кубічний за годину*);
- с. 21 – зайва літера: *Chlorrellaceae* (замість *Chlorellaceae*);
- с. 25 – зайві літери: *грибамии* (замість *грибами*), *акктинії* (замість *актинії*);
- с. 38 – пропущений апостроф: *зясування* (замість *з'ясування*);
- с. 63 – переплутані літери: *мікородоростей* (замість *мікроводоростей*);
- с. 76 – переплутані літери: *фааз* замість *фаза*;

проте вони (і наведені вище зауваження) жодним чином не знижують наукової цінності дисертаційної роботи і не впливають на її загальну високу оцінку.

Відсутність (наявність) порушення академічної добросесності. Аналіз тексту дисертації свідчить про відсутність порушення автором вимог академічної добросесності. Використані ідеї і результати інших авторів мають посилання на відповідне джерело. Права співавторів публікацій при написанні дисертації не порушені.

Таким чином, вважаю, що дисертаційна робота Леонтьєвої Тетяни Олександровни на тему «Адаптивний потенціал зелених мікроводоростей (*Chlorophyta*) при вирощуванні в штучних умовах», яка подана на здобуття наукового ступеня доктора філософії, за своєю актуальністю, науковою новизною, теоретичним і практичним значенням, науковим рівнем, змістом та оформленням повною мірою 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, і є цінним внеском у розвиток сучасної гідробіологічної науки, а її авторка, Леонтьєва Тетяна Олександровна, заслуговує на присудження наукового ступеня доктора філософії в галузі знань 09 «Біологія» за спеціальністю 091 «Біологія».

Рецензент,

доктор біологічних наук,

старший дослідник,

старший науковий співробітник відділу

санітарної гідробіології та гідропаразитології

Інституту гідробіології НАН України

Наталія СЕМЕНЮК

