

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации С.Н. Железновой «**ПРОДУКЦИОННЫЕ И БИОХИМИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ДИАТОМОВОЙ ВОДОРΟΣЛИ *CYLINDROTHECA CLOSTERIUM* (EHRENBERG) REIMANN ET J.C. LEWIN 1964**», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук

Диссертационная работа С.Н. Железновой посвящена исследованию продукционных характеристик и биохимического состава *C. closterium* в интенсивной накопительной и проточной культуре, а также определению оптимальных условий среды для роста микроводоросли и биосинтеза ценных веществ. Актуальность проведенного соискателем исследования не вызывает сомнения, поскольку ее цель - определение основных характеристик субстрата зависимого роста и биосинтеза ценных веществ, а также оптимизации условий культивирования для получения биомассы с высокой концентрацией Фк и ПНЖК. Автором показано, что в литературе недостаточно освещено двухступенчатое проточное культивирование *C. closterium* и отсутствуют данные по культивированию водоросли в проточной культуре. Нет полного понимания механизмов накопления ПНЖК и фукоксантина при изменении условий культивирования.

Цель и задачи работы четко сформулированы, отмечены ее научная новизна и практическая значимость. Основные положения диссертации доложены на ряде международных и отечественных конференций. Диссертация изложена на 212 страницах, состоит из введения, обзора литературы, 5 глав, заключения, выводов, списка литературы, включающего 291 источник, из них 232 иностранных. Работа содержит 19 таблиц и 64 рисунка. По материалам диссертации опубликовано 35 научных работ, из которых: 8 – в специализированных научных изданиях, рекомендованных ВАК РФ, в т. ч. 3 патента, 5 статей входят в базу SCOPUS, 19 работ – в сборниках материалов и тезисов международных конференций. В статьях, опубликованных в соавторстве, вклад соискателя состоит в выборе и разработке методов исследования, получении экспериментальных данных, обсуждении и написании текста статей и тезисов. Права соавторов публикаций не нарушены. Автор принимал непосредственное участие в постановке экспериментов по накопительному и проточному режимам культивирования *C. closterium*, в проведении биохимических анализов, самостоятельно интерпретировал и обобщал полученные данные.

В Литературном обзоре рассмотрен общий принцип биосинтеза фукоксантина и жирных кислот в диатомовых водорослях. Уделено внимание описанию внешних факторов, влияющих на содержание липидов, Фк и ПНЖК в клетках *C. closterium* при различных условиях культивирования.

В главе 2 «Материалы и методы исследований» описана лабораторная установка способа поддержания культуры *C. closterium* на люменостате в экстенсивном режиме, описаны методы определения плотности водоросли прямым взвешиванием биомассы и мокрым сжиганием. Массовую долю белка в биомассе водорослей определяли методом Лоури в модификации. Статистический анализ экспериментальных данных выполнен в программе SciLab. Все измерения проводили в двух биологических и четырех аналитических повторностях. Статистическая достоверность основных параметров культивирования, а также элементного состава оценивали при помощи стандартных *t*-критерия ($P = 0,95$). Для расчёта доверительных интервалов использовали *t*-критерий Стьюдента для 95 % вероятности.

В Главе 3 показаны продукционные характеристики диатомовой водоросли *Cylindrotheca closterium*. Разработана новая питательная среда RS для интенсивного культивирования *C. closterium* с оптимальными концентрациями всех биогенных элементов, на основе рассчитанных «истинных» потребностей в азоте, фосфоре и кремнии. Для выявления потребностей *C. closterium* в этих элементах при накопительном культивировании предварительно проведён химический анализ биомассы микроводоросли. Состав питательной среды RS приведён в расчёте на максимальную плотность 1 г сухой биомассы. Автором показана возможность поглощения *C. closterium* органических форм азота: мочевины, цистеина и аспарагин. Установлено, что вид растёт и вегетирует при высоких концентрациях нитрита в питательной среде (более $2 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$), а низкие концентрации азота в аммонийной форме ($30 \text{ мкг} \cdot \text{л}^{-1}$), добавленные в среду во время активного роста приводят к ингибированию всех процессов метаболизма и гибели культуры.

В Главе 4 описаны биохимический состав диатомовой водоросли *Cylindrotheca closterium* при разных режимах культивирования, а также накопительный режим культивирования. Биохимический состав *C. closterium* при накопительном режиме культивирования определяли на каждой фазе роста. В зависимости от фазы роста содержание суммарных белков изменяется от 33 до 40 %. В экспоненциальной фазе роста содержание белка составляет 38-40 %, при достижении стационарной фазы роста снижается до 35-33 % и остаётся постоянным на протяжении всей стационарной фазы. При накопительном культивировании установлено, что концентрация Фк в начале стационарной фазы сильно варьировала в зависимости от соотношения N : P в среде RS. Установлена линейная зависимость между концентрациями Фк в диапазоне от 0 до $10 \text{ мг} \cdot \text{г}^{-1}$ и общих липидов в биомассе *C. closterium*. Автором показано, что для непрерывного производства целевых веществ из культуры *C. closterium*, а также для управления их синтезом в самой биомассе, целесообразно использовать проточную культуру.

В Главе 5 приведена разработка технологий получения целевых продуктов из диатомовой водоросли *Cylindrotheca closterium*. Приведены технологические регламенты хранения микроводоросли, чтобы биомасса не потеряла полезные свойства БАВ. Установлено, что сырая биомасса при комнатной температуре на свету не подлежит хранению, т.к. в течение суток в ней происходят процессы разложения органических веществ. В результате использования новой питательной среды RS разработаны технологические условия выращивания *C. closterium* с высоким содержанием фукоксантина (до 19 мг на 1 г сухой массы).

В Заключение автором четко определены основные итоги проведенной работы и обобщены ее результаты. Завершают диссертацию 6 выводов, которые отличаются своей четкостью и краткостью.

Принципиальных замечаний по мере прочтения автореферата у меня не возникло. Есть несколько замечаний технического характера, не снижающих благоприятного впечатления о рецензируемой работе.

Обычно диссертация начинается с «Введения», в данном случае его заменяет «Общая характеристика работы». В рубрике «Актуальность исследования» приведены в основном характеристики морских диатомовых водорослей и объекта исследования, собственно актуальность появляется ближе к концу этой рубрики. В работе имеются досадные опечатки. Так, вместо «Глава 3» пишется «Главе 3», после номера глав не ставится точка и т.п. Число

Выводов должно соответствовать количеству поставленных задач и характеризовать степень их выполнения. В данной работе выводов 6 при 4-х поставленных задачах.

Таким образом, диссертация С.Н. Железновой «ПРОДУКЦИОННЫЕ И БИОХИМИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ДИАТОМОВОЙ ВОДОРΟΣЛИ *CYLINDROTHECA CLOSTERIUM* (EHRENBERG) REIMANN ET J.C. LEWIN 1964», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук, судя по автореферату, представляет собой законченное исследование и соответствует требованиям, предъявляемым к работам такого рода. На мой взгляд, это серьезная работа, основанная на фактическом материале и имеющая большое фундаментальное и практическое значение. Цель работы достигнута, основные задачи успешно выполнены. Сделанные автором выводы вполне обоснованы. Считаю, что соискатель вполне заслуживает искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.10 – гидробиология.

Звягинцев Александр Юрьевич,
доктор биологических наук, доцент,
ведущий научный сотрудник Лаборатории
динамики морских экосистем НИЦМБ ДВО РАН,
ул. Пальчевского, 17, г. Владивосток, 690041,
(423) 231 09 12 (раб.), ayzvyagin@gmail.com

19 марта 2021 г.

