

Отзыв официального оппонента
на диссертацию Железновой Светланы Николаевны
на тему «Продукционные и биохимические характеристики диатомовой
водоросли *Cylindrotheca closterium* (Ehrenberg) Reimann et J.C. Lewin 1964»,
представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук
по специальности «03.02.10 – гидробиология».

Актуальность исследования. В настоящее время цивилизация сталкивается с серьёзными глобальными вызовами — необходимостью обеспечения населения пищей, энергией, а также сохранения качества среды обитания для будущих поколений. Именно биотехнология микроводорослей воплощает подходы, наиболее перспективные для поиска ответов на эти вызовы. Для разработки эффективных биотехнологических решений необходимы подробно охарактеризованные штаммы микроводорослей, отличающиеся высокой скоростью накопления биомассы, обогащённой целевыми продуктами. Также необходимы полные сведения об условиях культивирования и их влиянии на кинетические и физиолого-биохимические параметры культуры.

Следует отметить, что вышеупомянутые сведения должны быть получены для условий, соответствующих условиям в промышленных культивационных системах (интенсивное культивирование, проточные фотобиореакторы) либо близких к ним. Только комплексное решение этой

задачи превращает новые изоляты и штаммы микроводорослей в объекты биотехнологии. Диссертационное исследование С.Н. Железновой решает именно такую задачу для перспективного, как показано автором исследования, объекта — диатомовой водоросли *Cylindrotheca closterium*. В этой связи следует признать тему диссертации весьма актуальной.

Научная новизна исследования. Автором разработан научно обоснованный состав новой питательной среды для интенсивного культивирования диатомовой водоросли *C. closterium*. Показана возможность использования нитрита как источника азота для данного вида и невозможность использования аммонийного азота в этом качестве. Найдены оптимальные параметры для интенсивного промышленного культивирования *C. closterium*, включая оптимальные диапазоны температуры, интенсивности света и pH для накопления биомассы *C. closterium* и её обогащения фукоксантином и полиненасыщенными жирными кислотами. Выявлена линейная связь массовой доли фукоксантина и суммы липидов в клетках *C. closterium*. Впервые проведены исследования проточной культуры *C. closterium* в двухступенчатом хемостате. Разработаны новые технологии получения целевых продуктов из биомассы *C. closterium*, получены охранные документы.

Общая оценка работы. Диссертация С.Н. Железновой изложена на 212 страницах машинописного текста и построена по традиционному плану: введения, обзора литературы, 5 глав, заключения, выводов, списка литературы, включающего 291 источник, из них 232 иностранных. Работа содержит 19 таблиц и 64 рисунка.

В главе 1 приводится обзор литературы по теме диссертационного исследования. Приводятся накопленные к настоящему времени сведения о влиянии условий культивирования на содержание липидов, фукоксантина и полиненасыщенных жирных кислот в клетках *C. closterium*. Показано несоответствие обеднённых питательных среда биотехнологическим задачам.

На основании анализа литературных сведений обоснован выбора направления исследований и способы решения поставленных в его рамках задач.

Глава 2 содержит исключительное детальное описание постановки и реализации культивационных экспериментов, а также аналитических методов. Даны методические подробности мониторинга роста культур, имеющие решающее значение для успешного исследования диатомовых микроводорослей.

В главе 3 приводятся результаты исследования продукционных характеристик диатомовой водоросли *C. closterium* с обоснованием состава оригинальной среды для интенсивного культивирования этого фототрофного микроорганизма. Особое внимание уделено подбору источников азота, в т.ч. органических. Установлено, что использование мочевины в качестве дополнительного источника азота позволяет получить максимальный выход биомассы *C. closterium*. Получена оценка потребностей в углеродном питании, а также оптимумов pH, поверхностной облучённости фотосинтетически активной радиацией (ФАР) и температуры. Вышеперечисленные задачи решались как для накопительной (периодической), так и для квазинепрерывной культуры (в двухступенчатом хемостате), служившей аппроксимацией к промышленным режимам культивирования. Одной из сильных сторон исследования является подробный расчёт параметров режима проточного культивирования, включая скорость разбавления (протока) для достижения максимального урожая биомассы *C. closterium*. Разработанная математическая модель даёт расчётные значения плотности культуры, хорошо совпадающие с результатами экспериментальных измерений, она может быть рекомендована для анализа и моделирования параметров культивирования и других микроводорослей, перспективных с точки зрения биотехнологии.

Глава 4 посвящена исследованию биохимического состава клеток диатомовой водоросли *C. closterium*. Получены данные о содержании белков, углеводов и липидов, а также зольного остатка для биомассы, выращенной в

накопительном и проточном режимах. Охарактеризован жирнокислотный состав и динамика накопления фукоксантина. Выявлены закономерности, связывающие динамику содержания липидов и накопления фукоксантина. Показано, что для непрерывного производства целевых веществ из культуры *C. closterium*, а также для управления их синтезом в самой биомассе, целесообразно использовать проточную культуру.

Глава 5 содержит описание разработки биопродуктов из биомассы *C. closterium*. Описаны сложности решения этой задачи (нестабильность биологически активных веществ в биомассе) и пути их преодоления (подбор методов экстракции и хранения). На разработанные технологии и биопродукты получены охранные документы (патенты) РФ.

При ознакомлении с диссертацией также возник ряд вопросов и рекомендаций:

- при описании объекта исследования в литобзоре было бы целесообразно использовать собственные микрофотографии;
- на рис. 1.6 и других иллюстрациях к литобзору приводятся англоязычные аннотации без перевода, что не является препятствием к пониманию смысла иллюстрации, но нарушает общий стиль оформления;
- вместо устаревших единиц освещённости рекомендуется использовать современные единицы плотности потока квантов ФАР из системы СИ;
- нужны пояснения к методу идентификации фукоксантина при разделении пигментов методом тонкослойной хроматографии;
- в описании методики анализа жирных кислот отсутствует пояснение метода расчёта количества этих соединений, в частности не упоминается о внутреннем стандарте;
- также хотелось бы услышать комментарии автора о причинах снижения плотности культуры на 5 сутки эксперимента (рис. 3.6);

- не вполне ясно, как полиненасыщенные жирные кислоты могут выполнять антиоксидантные функции в клетках (с. 132).

- текст работы содержит опечатки и неудачные термины. Так, неясно, что автор подразумевает под «световым обеспечением» (культур) и «готовыми углеродными скелетами».

В целом же диссертация написана хорошим литературным языком, облегчающим восприятие результатов. Этому также способствует обилие графических иллюстраций. Однако вышеуказанные недостатки не снижают теоретической ценности исследования и его практической значимости. Личный вклад диссертанта не вызывает сомнений. Содержание диссертации отражено в автореферате, а основные результаты исследований — в научных публикациях диссертанта. Выводы по результатам работы обоснованы, результаты выполненных экспериментов поддерживают их.

Необходимо отметить, что в диссертации С.Н. Железновой представлены результаты комплексного исследования продукционных характеристик *C. closterium*. Они представляют собой научно-техническое обоснование полного набора стадий биотехнологического производства натуральных биологически активных веществ—от масштабирования процесса культивирования до получения биопродуктов, пригодных для употребления. Это придаёт особую ценность и повышает практическую значимость диссертационного исследования.

Ознакомившись с диссертацией и авторефератом диссертации, считаем, что работа Светланы Николаевны Железновой соответствует требованиям к кандидатским диссертациям, изложенным в пп. 9-14 Положения о порядке присуждения ученых степеней, утвержденном постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842 (с изменениями на 2 августа 2016 г.), а автор диссертационного исследования заслуживает

присуждения учёной степени кандидата биологических наук по специальности «03.02.10 – гидробиология».

Официальный оппонент:

Доктор биологических наук,
профессор кафедры биоинженерии
Биологического факультета
Федерального государственного
бюджетного учреждения высшего
образования «Московский
государственный университет
имени М.В. Ломоносова»



Соловченко Алексей Евгеньевич

23 марта 2020 г.

Контактные данные официального оппонента

Почтовый адрес: 119234, Российская Федерация, Москва, Ленинские горы, д. 1, с. 12. Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова», биологический факультет.

Телефон/факс: +7(495) 939-25-87; +7(495) 939-43-09

Адрес электронной почты: solovchenko@mail.bio.msu.ru

Подпись д.б.н., проф. кафедры биоинженерии
биологического факультета МГУ

Соловченко А.Е. заверяю

Декан биологического
факультета МГУ, академик РАН
Кирпичников Михаил Петрович

