

ОТЗЫВ

официального оппонента о диссертационной работе
Железновой Светланы Николаевны «ПРОДУКЦИОННЫЕ И БИОХИМИЧЕСКИЕ
ХАРАКТЕРИСТИКИ *CYLINDROTHECA CLOSTERIUM* (EHRENBERG) REIMANN
ET J.C. LEWIN 1964», предоставленной на соискание учёной степени кандидата
биологических наук по специальности 03.02.10-гидробиология.

Актуальность диссертационной работы. Диатомовая водоросль *Cylindrotheca closterium* может быть ценным источником получения биологически активных веществ. Водоросль богата полиненасыщенными жирными кислотами, среди которых преобладают эйкозапентаеновая и арахидоновая кислоты, содержит фукоксантин, незаменимые аминокислоты, микро- и макроэлементы. Таким образом, актуальность исследования определяется необходимостью изучения продукционных и биохимических характеристик *C. closterium* в накопительном и проточном режимах культивирования с целью для получения биомассы с высокой концентрацией фукоксантина и полиненасыщенных жирных кислот.

В настоящее время опубликованы данные по накопительному режиму культивирования *C. closterium* на обеднённых питательных средах F/2 и F. Эти среды не позволяют получить плотную культуру и не дают возможности понять физиологические механизмы биосинтеза ПНЖК и фукоксантина. Двухступенчатое проточное культивирование *C. closterium* освещено недостаточно и отсутствуют данные по культивированию водоросли в проточной культуре. Сведения о механизмах накопления ПНЖК и фукоксантина при изменении условий культивирования (температуры, облученности, спектрального состава света) недостаточны.

В связи с этим, автором поставлена **цель работы** - изучить продукционные и биохимические характеристики интенсивной культуры диатомовой водоросли *C. closterium* в накопительном и проточном режимах культивирования для получения максимальной биомассы с высоким содержанием фукоксантина и ПНЖК. Для её решения были грамотно сформулированы и разрешены 4 задачи, а вынесенные на защиту 3 положения убедительно демонстрируют важность проведенных исследований и их итогов.

Новизна научных и практических результатов. Разработана новая питательная среда для получения плотной культуры диатомовой водоросли *C. closterium* и определены оптимальные параметры технологии её выращивания. Выявлен оптимальный диапазон температуры и поверхностной облучённости, pH для роста *C. closterium* и биосинтеза фукоксантина и ПНЖК. Впервые получены данные по продукционным и биохимическим характеристикам микроводоросли в режиме двухступенчатого хемостата. Впервые установлена линейная связь массовой доли фукоксантина и общих липидов в биомассе *C. closterium* для различных условий культивирования. Проведённые исследования ростовых и биохимических характеристик *C. closterium* в проточном режиме культивирования дают возможность разработать новые технологии получения целевых продуктов лечебно-профилактического назначения. В ходе работы были разработаны новые

технологии, защищённые патентами РФ, получения целевых продуктов лечебно-профилактического назначения из биомассы и БАВ *C. closterium*.

В обзоре литературы (глава 1) автором проведён детальный анализ отечественных и зарубежных источников, посвящённых продукционным и биохимическим характеристикам диатомовых водорослей. 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. Знакомство с данным разделом показывает, что диссертант отлично владеет современной литературой по исследуемой проблематике.

В Главе 2 автором дано полное описание лабораторной установки, при помощи которой проводились все лабораторные эксперименты, а также кратко охарактеризован способ поддержания культуры *C. closterium* на люменостате в экстенсивном режиме. Описаны косвенные и прямые методы определения плотности культуры *C. closterium*, методы количественного определения содержания белка, липидов, углеводов и золы в биомассе *C. closterium*. Применён новый метод оценки плотности культуры йодатной окисляемостью. Метилловые эфиры жирных кислот определяли на газохроматографическом комплексе «Кристалл 5000.2» с пламенно-ионизационным детектором. Описан метод определения фукоксантина с помощью тонкослойной хроматографии в собственной модификации. Приведены сведения о методах статистической обработки экспериментальных данных.

В Главе 3 описана 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. Показана возможность поглощения различных органических источников азота: мочевины, цистеина и аспарагин. Установлено, что *C. closterium* 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, добавленные в питательную среду во время активного роста, приводят к ингибированию всех процессов метаболизма и к гибели культуры. Рассчитана эффективность фиксации углерода культуры во время максимальной продуктивности. Показана способность *C. closterium* усваивать бикарбонаты, за счет чего наблюдается ее активный рост без дополнительной подачи CO_2 . Определены оптимальные значения температуры и pH среды для роста и развития *C. closterium*. Рассчитаны основные параметры роста в накопительной и в проточной культуре. Показано, что *C. closterium* характеризуется достаточно высокими показателями продуктивности как в накопительной, так и в проточной культуре. Для условий эксперимента в одно- и двухступенчатом хемостате определена максимальная продуктивность. Показано, что в проточной культуре продуктивность *C. closterium* выше в 2,2 раза по сравнению с периодической.

В Главе 4 приведены биохимические характеристики диатомовой водоросли в накопительном и проточном режимах культивирования. Соискателем убедительно доказано, что при двухступенчатом хемостате показатели максимальной продуктивности липидов, фукоксантина и ПНЖК в единицу времени превышают в 2,4 раза аналогичные показатели при накопительном культивировании. Приведена линейная зависимость между концентрациями фукоксантина и общих липидов в

биомассе диатомовой водоросли. Отмечено преобладание $\omega 3$ полиненасыщенных жирных кислот в биомассе *C. closterium* при различных режимах культивирования. Соотношение $\omega-6 / \omega-3$ варьирует от 0,57 до 0,89.

В Главе 5 приведены новые технологии, защищенные 3 патентами РФ, получения целевых продуктов лечебно-профилактического назначения из биомассы *C. closterium* – это: биомасса диатомовой водоросли с высоким содержанием фукоксантина; спиртовой экстракт из биомассы микроводоросли; оливковое масло, обогащённое фукоксантином; кристаллический фукоксантин, как биологически ценный продукт.

В Заключение соискателем обобщены полученные результаты, а также показано, что *C. closterium* является перспективной микроводорослью для биотехнологии и удобным объектом для дальнейшего исследования продукционных характеристик диатомовых в проточном режиме культивирования. Данный раздел диссертации представляет собой в сжатом виде выводы, уже сделанные в каждой из глав.

Замечания:

1. В разделе «Положения выносимы на защиту» пункт 1 представляется тривиальным.
2. В диссертации в разных разделах используются различные единицы интенсивности света: клк и мкм фотон $\text{м}^2 \text{сек}^{-1}$, что затрудняет сравнение. В биотехнологических исследованиях желательнее не использовать клк.
3. Есть неудачное исполнение рисунков, например 3.7 и 3.8.
4. В подписи к Рис 4.2. применили выражение «глубокий стационар». Это жаргонизм.
5. В разделе «Выводы» пункт 1 отражает то, что сделано, а не научный результат.

Однако, эти замечания не носят принципиального характера и не изменяют содержательную часть работы.

Выводы:

Диссертантом сформулировано шесть выводов, полностью соответствующих поставленной цели и задачам исследования, корректно раскрывающих основные результаты диссертационной работы. По теме диссертации автором опубликовано 35 научных работ, из них 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 целом, хотелось бы отметить хороший стиль изложения материала, умение автора корректно использовать литературные источники. Небольшое количество опечаток и замечаний не снижает общее благоприятное впечатление от работы.

Оценивая оппонируемую работу Железновой Светланы Николаевны, можно прийти к следующему заключению: диссертация является самостоятельным завершённым научным исследованием, в котором детально изучены продукционные и биохимические характеристики плотной культуры диатомовой водоросли *C. closterium* в различных режимах культивирования. Особо следует отметить, что автор на основе фундаментальных исследований, опубликованных в журналах, входящих в международные базы данных, разработал ряд биотехнологий

получения целевых продуктов и защитил их патентами. В настоящее время такой комплексный подход при выполнении диссертаций встречается крайне редко.

Таким образом, по актуальности темы, научной новизне, теоретической и практической значимости, уровню проведения исследований, новизне полученных результатов и обоснованности выводов, работа отвечает требованиям пп. 9-11, 13, 14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением правительства РФ от 24.09.2013 г. No 842, предъявляемым к диссертациям на соискание степени кандидата биологических наук, а её автор, Железнова Светлана Николаевна, заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.10 - гидробиология.

Главный научный сотрудник, доктор биологических наук,
старший научный сотрудник,
руководитель Лаборатории экологии
Южного отделения Института океанологии
им. П.П. Ширшова РАН
353470, Россия, Краснодарский край,
г. Геленджик, ул. Просторная, 1Г
тел.: 8-86141-28069
e-mail: vsilkin@mail.ru

Силкин Владимир Арсентьевич

« 5 сентября » 2021 г.



Подпись Силкина В.А заверяю
Директор ЮО ИО РАН

Куклев С.Б.