

ОТЗЫВ официального оппонента  
на диссертацию на соискание ученой степени  
доктора биологических наук Лелекова Александра Сергеевича на тему:  
«Количественные закономерности роста микроводорослей в культуре и  
параметры управления процессом фотобиосинтеза»  
по специальности 1.5.2 – «Биофизика»

Диссертационная работа А.С. Лелекова, представленная на соискание ученой степени доктора биологических наук, посвящена изучению закономерностей роста фототрофных микроорганизмов и поиску новых подходов к анализу и управлению процессом фотобиосинтеза, который включает в себя синтез всех компонентов водорослевой клетки с использованием, главным образом, энергии, запасенной в первичных реакциях фотосинтеза. В настоящее время механизмы фотобиосинтеза являются предметом пристального внимания со стороны научного сообщества, знание которых позволяет повышать эффективность использования культур микроводорослей и цианобактерий в биотехнологических целях. На сегодняшний день эти микроорганизмы уже активно используются, в том числе в промышленных масштабах, для производства обогащенной белками, витаминами и микроэлементами биомассы, каротиноидов, биотоплива, полиненасыщенных жирных кислот, молекулярного водорода.

В течение последних десятилетий появилось большое количество опубликованных качественных экспериментальных данных и обзорных статей, свидетельствующих о поступательном прогрессе в исследовании важных аспектов биотехнологического использования микроводорослей и цианобактерий. В частности, изучается влияние на рост и продуктивность культур таких важных факторов как конструкция фотобиореактора, тип культивирования, аэрация, влияние рН среды, световые и температурные условия, др., которые подбираются, в основном, эмпирически для каждого объекта исследований. Важно отметить, что продукция таких полезных веществ как полиненасыщенные жирные кислоты,

каротиноиды и молекулярный водород стимулируется путем применения стрессовых воздействий, в первую очередь, высокой (фотоингибирующей) интенсивности света и/или дефицита основных биогенных элементов: азота, фосфора, серы. Стрессовые условия индуцируют комплексные метаболические перестройки в клетках фотосинтезирующих микроорганизмов, следствием которых является, с одной стороны, снижение способности делиться, а с другой – накопление запасов органического вещества и повышение резистентности клеток к неблагоприятным воздействиям.

Несмотря на достигнутый прогресс в отдельных направлениях биотехнологии, до сих пор ощущается недостаток в понимании всеобщих основ регуляции фотосинтеза и фотобиосинтеза в условиях фотобиореактора, что делает затруднительным прогнозирование и управление ростом и продуктивностью культур в конкретных экспериментальных условиях. На сегодняшний день существуют разные подходы к моделированию фотосинтеза и фотобиосинтеза в культурах фототрофов. Некоторые модели являются избыточно детализированными и содержат большое количество неизвестных параметров, которые практически невозможно определить путем фитирования кривых роста культуры. Часть моделей представлена в теоретических работах без тщательного сопоставления с экспериментальными данными, полученными на разных культурах и в разных условиях. Таким образом, на сегодняшний день ощущается потребность в разработке новых подходов для управления процессом фотобиосинтеза на основании универсальной верифицируемой модели, вариации которой в зависимости от условий культивирования могут быть использованы для анализа ростовых и продукционных характеристик культур.

В силу вышесказанного, тема работы А.С. Лелекова является своевременной, а само исследование и его результаты – актуальными и востребованными как фундаментальной, так и прикладной наукой. Актуальность работы определяется наличием запроса на разработку новых подходов к моделированию фотобиосинтеза, а научная значимость и прикладной аспект

диссертации обусловлены возможностью получения прогностических моделей поведения культур фототрофных микроорганизмов в фотобиореакторе.

Поставленная в работе научная цель и задачи характеризуются новизной, а научные положения, выносимые на защиту, являются обоснованными.

Литературный обзор имеет логически выверенную структуру и отражает информацию обо всех необходимых для понимания результатов диссертационной работы направлениях исследований на сегодняшний день. Заслуженное внимание уделено различным условиям культивирования микроводорослей и цианобактерий и обзору моделей роста культур в открытых и закрытых системах в зависимости от освещенности, температуры и содержания основных биогенных элементов в среде.

Выполненное исследование отличается, с одной стороны, наличием теоретической основы в виде разработанных моделей роста и энергообмена микроводорослей в различных экспериментальных условиях, актуальных для биотехнологического применения, так и значительным экспериментальным материалом, который используется при верификации разработанных моделей. Фактически для каждого варианта модели, предложенного для выбранных условий, приведены результаты ее сопоставления с экспериментальными данными. Необходимо отметить, что значительная часть экспериментальных данных была получена непосредственно при участии соискателя, но также были использованы данные из литературных источников. Для получения собственных экспериментальных данных была использована оригинальная унифицированная установка для изучения роста микроводорослей, снабженная регулируемым искусственным освещением, газообеспечением и термостабилизацией. Кроме того, экспериментальная работа проводилась в альгобиотехнологическом модуле, позволяющем культивировать микроводоросли высокой плотности в условиях естественного освещения. Для контроля роста культур проводили измерения ряда параметров в динамике: температуру, освещенность, рН, оптическую плотность, хлорофилл *a*, фикоэритрин, общий белок, сырой и сухой вес. Основными

объектами экспериментальной работы являлись распространенные в биотехнологии и хорошо изученные модельные культуры зеленых, диатомовых, красных микроводорослей и цианобактерий: *Phaeodactylum tricornerum*, *Porphyridium purpureum*, *Spirulina platensis*, *Dunaliella salina*.

Полученные в рамках диссертационной работы результаты являются достоверными и отражают самостоятельные исследования соискателя, характеризуются четкостью и лаконичностью изложения. В ходе исследований предложено несколько вариантов модели роста культуры и фотобиосинтеза для определенных условий культивирования, но ключевым итогом работы в целом является формулирование общей схемы фотобиосинтеза и разработка на ее основе универсальной двухкомпонентной модели фотоавтотрофного роста. Двухкомпонентная модель базируется на допущении того, что рост фотоавтотрофного микроорганизма протекает в две последовательные стадии: 1) фотосинтетического создания резервной биомассы, 2) формирования структурных компонентов клетки (конверсия резервной биомассы в структурную). Новизной предложенной двухкомпонентной модели является то, что скорости образования резервной и структурной биомассы заданы линейными сплайнами, что позволяет четко дифференцировать различные стадии роста культуры, когда происходит либо смена стадии нелимитированного роста на лимитированный рост, либо смена одного лимитирующего фактора на другой. Еще одной особенностью модели является то, что в ней скорость образования биомассы выражена через приведенные потоки субстрата на ключевой мультиферментный комплекс, лимитирующий процесс. В предложенном подходе заложены объективные универсальные принципы моделирования роста культур. Модель отличается небольшим числом неизвестных параметров за счет обоснованной редукции уравнений и может применяться для изучения действия дефицита биогенных веществ на рост культуры, влияния освещенности на содержание пигментов, т.д.

Полученные результаты отражены в серии публикаций в международных журналах, являющихся классическими для специалистов в области



моделирования роста культур и биотехнологических процессов. Результаты работы также получили положительную оценку коллег на всероссийских и международных конференциях высокого уровня и научных семинарах. В диссертационной работе проинтегрирован и обработан большой массив экспериментальных результатов, полученных автором и независимыми исследовательскими группами за многие годы работы. Работа написана, в целом, хорошим литературным языком, текст иллюстрирован достаточным числом графиков и диаграмм, продуманно скомпонованных и качественно выполненных. Выводы диссертации обоснованы полученными автором результатами, их достоверный характер не вызывает сомнений.

У оппонента отсутствуют замечания к базовым составляющим диссертационной работы, таким как тема исследования, новизна, значимость, цели и выводы. В этой части работа является тщательно продуманной и выверенной. Тем не менее, при прочтении отдельных разделов диссертационной работы возникли следующие вопросы, которые требуют комментариев со стороны соискателя:

1. Выводы обоснованы, однако форма их представления не совсем корректна. Так, вывод диссертации на соискание степени доктора **БИОЛОГИЧЕСКИХ** наук не должен начинаться с того, что 'разработана модель роста культуры', а должен фокусироваться на следствиях использования модели. Например, 'с помощью разработанной модели выявлены механизмы адаптации биохимического состава клеток и т.д.'
2. Общее замечание к представленным на рисунках экспериментальным данным: на некоторых графиках отсутствует информация о стандартных ошибках/отклонениях, представлено минимальное количество экспериментальных точек, например, всего 4, что затруднительно фитировать. Отсутствует информация о способах фитирования экспериментальных данных.

3. Рис. 2.1. В дополнение к фотографиям оригинального фотобиореактора не хватает общей схемы устройства с модулями регулировки условий инкубации культуры.
4. Рис. 4.1. На рисунке приведена принципиально важная схема фотобиосинтеза, которая лежит в основе предлагаемой соискателем модели. Однако эта схема слишком упрощена - в ней не отражены принципиально важные элементы: резервная и структурная биомасса, предполагаемые ключевые мультиферментные комплексы и ферредоксин в качестве важного восстановителя в клетке.
5. Используются зачастую устаревшие или редко употребляемые термины и обозначения: цианобактерии как часть микроводорослей, люксы и ватты в качестве меры интенсивности света/освещенности вместо релевантной для фотосинтеза плотности потока фотонов ( $\text{мкмоль фотонов м}^{-2} \text{ с}^{-1}$ ), флюоресценция вместо флуоресценция, РБФК вместо Рубиско, др.
6. В результатах не всегда понятно, где автор при выводе уравнений переходит от известных формул к собственным оригинальным формулам.
7. Перечень условных обозначений включает не все сокращения, используемые в тексте. СВ – это сырой или сухой вес?

Вместе с тем, указанные замечания не умаляют значимости диссертационного исследования. Диссертационная работа А. С. Лелекова соответствует всем критериям пунктов 9-11,13,14 «Положения о присуждении ученых степеней», утверждённого постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842 (ред. от 18.03.2023), предъявляемым к диссертациям на соискание учёной степени доктора наук, а её автор Лелеков Александр Сергеевич заслуживает присуждения ему учёной степени доктора биологических наук по специальности 1.5.2. Биофизика.

Официальный оппонент:

доктор биологических наук, главный научный сотрудник лаборатории комплексных экологических исследований, проректор по научной работе ФГБОУ ВО «Псковский государственный университет»

АНТАЛ Тарас Корнелиевич



*[Handwritten signature]*

25.09.2023

Контактные данные:

тел.: 7(9 [redacted]-60, e-mail: t [redacted]@mail.ru

Специальность, по которой официальным оппонентом защищена диссертация:  
03.01.02 – «Биофизика» (2018 г.)

Адрес места работы:

180000, г. Псков, пл. Ленина, д. 2, каб. 121

Тел. : +7(8112) 201-699 (доб. 206); e-mail: antal@pskgu. ru

Подпись сотрудника Псковского государственного университета

Т.К. Антала удостоверяю:

