

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 24.1.016.01
(Д 006.027.01), СОЗДАННОГО НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО
ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО НАУЧНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ
«ВСЕРОССИЙСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОЙ БИОТЕХНОЛОГИИ» (МИНИСТЕРСТВО
НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ)
ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА
НАУК

Аттестационное дело № _____

Решение диссертационного совета от 23.01.2025 г. протокол № 2
О присуждении Сорокину Борису Андреевичу, гражданину Российской
Федерации, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Биотехнологическое исследование новых штаммов
микроводорослей-продуцентов каротиноидов и полиненасыщенных жирных
кислот» по специальности 1.5.6 – Биотехнология принята к защите
22.11.2024 г., протокол № 9, диссертационным советом 24.1.016.01
(Д 006.027.01) на базе Федерального государственного бюджетного научного
учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт
сельскохозяйственной биотехнологии», Министерство науки и высшего
образования Российской Федерации, 127550, г. Москва, ул. Тимирязевская,
д. 42, приказ Минобрнауки Российской Федерации № 714/нк от 02.11.2012.

Соискатель Сорокин Борис Андреевич, гражданин Российской
Федерации, 28.07.1993 года рождения, в 2015 соискатель окончил
магистратуру Федерального государственного бюджетного образовательного
учреждения высшего образования «Российский государственный университет
нефти и газа (национальный исследовательский университет) имени
И.М. Губкина по направлению подготовки 18.04.01 Химическая технология.
С 2022 г. проходит обучение в аспирантуре Федерального государственного
автономного образовательного учреждения высшего образования
«Московский физико-технический институт (национальный

исследовательский университет)». Экзамены по всем предметам обучения в аспирантуре сданы (в деле имеется справка).

С 2020 г. по настоящее время работает инженером в Федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Московский физико-технический Институт (национальный исследовательский университет)».

Диссертация выполнена в лаборатории трансляционной геномной биоинформатики Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет)».

Научный руководитель – кандидат биологических наук Кузьмин Денис Владимирович, Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет)», Физтех-школа биологической и медицинской физики, лаборатория трансляционной геномной биоинформатики, директор, старший научный сотрудник.

Официальные оппоненты:

1. Яненко Александр Степанович, доктор биологических наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», заместитель руководителя Курчатовского комплекса НБИКС-ПТ по научной работе.

2. Белых Ольга Ивановна, кандидат биологических наук, доцент, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Лимнологический институт сибирского отделения Российской академии наук, лаборатория водной микробиологии, исполняющая обязанности заведующего лабораторией, ведущий научный сотрудник.

Выбор официальных оппонентов определялся их большим опытом в области разработки биотехнологий на основе ферментации возобновляемого

сырья и биокатализа, новых биокаталитических систем микроорганизмов, для использования в технологиях защиты окружающей среды, исследования генетического разнообразия и экологии микроводорослей, цианобактерий, бактерий водных экосистем, а также наличием публикаций в ведущих рецензируемых изданиях по тематике работы. Официальные оппоненты дали положительные отзывы на диссертацию. Высказаны замечания и комментарии. Замечания носят рекомендательный характер, не снижают значения представленных в диссертации результатов. Ответы на все замечания представлены в стенограмме заседания.

Ведущая организация Карадагская научная станция им. Т.И. Вяземского – природный заповедник РАН – филиал Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра «Институт биологии южных морей имени А.О. Ковалевского РАН», Республика Крым, г. Феодосия, в своем положительном отзыве, утвержденном директором Литвином Вячеславом Александровичем и составленном кандидатом биологических наук Подунай Юлией Александровной, старшим научным сотрудником лаборатории водорослей и микробиоты, указала, что диссертационная работа Сорокина Бориса Андреевича выполнена на высоком научном и профессиональном уровне и является значимой для биотехнологии микроводорослей. Работа по актуальности, содержанию, новизне практической и теоретической значимости полученных результатов соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук согласно пп. 9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842, а ее автор, Сорокин Борис Андреевич, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.6. – Биотехнология. Отзыв содержит замечания дискуссионного характера. Ответ на отзыв присутствует в стенограмме заседания. Выбор ведущей организации обоснован высоким уровнем

проводимых в ней исследований в области биоразнообразия, жизненных циклов, биологии воспроизведения, биохимического состава микроводорослей, а также высоким профессиональным уровнем сотрудников.

Соискателем опубликовано 5 научных публикаций по теме диссертации в журналах индексируемых в международных базах данных и рекомендованных ВАК РФ, 2 публикации в сборниках конференций, 2 патента. Наиболее значительными являются следующие публикации:

1. Sorokin, B., Gusev, E., Namsaraev, Z., Emelianova, A., Patova, E., Novakovskaya, I., Vinokurov, V. and Kuzmin, D. Effect of microalgae feed supplementation on growth performance and feeding efficiency of tilapia fry // Journal of Applied Phycology. – 2024. – P. 1–14.

2. Rozenberg, J. M., Sorokin, B. A., Mukhambetova, A. N., Emelianova, A. A., Kuzmin, V. V., Belogurova-Ovchinnikova, O. Y., Kuzmin, D. V. Recent advances and fundamentals of microalgae cultivation technology // Biotechnology Journal. – 2024. – Vol. 19(3). – P. 2300725.

3. Mamaeva, A., Namsaraev, Z., Maltsev, Y., Gusev, E., Kulikovskiy, M., Petrushkina, M., Filimonova, A., Sorokin, B., Zotko, N., Vinokurov, V., Kopitsyn, D., Petrova D., Novikov A., Kuzmin D. Simultaneous increase in cellular content and volumetric concentration of lipids in *Bracteacoccus bullatus* cultivated at reduced nitrogen and phosphorus concentrations // Journal of Applied Phycology. – 2018. – Vol. 30. – P. 2237–2246.

4. Maltsev, Y., Gusev, E., Maltseva, I., Kulikovskiy, M., Namsaraev, Z., Petrushkina, M., Filimonova, A., Sorokin, B., Golubeva, A., Butaeva, G., Khrushchev, A., Zotko, N., Kuzmin, D. Description of a new species of soil algae, *Parietochloris grandis* sp. nov., and study of its fatty acid profiles under different culturing conditions // Algal research. – 2018. – Vol. 33. – P. 358–368.

5. Petrushkina, M., Gusev, E., Sorokin, B., Zotko, N., Mamaeva, A., Filimonova, A., Kulikovskiy, M., Maltsev, Y., Yampolsky, I., Guglya, E., Vinokurov, V., Namsaraev, Z., Kuzmin, D. Fucoxanthin production by heterokont microalgae // Algal Research. – 2017. – Vol. 24. – P. 387–393.

Недостовверных сведений об опубликованных соискателем ученой степени в работах, в которых изложены основные научные результаты диссертации, и заимствованных материалов или отдельных результатов без указания источника установлено не было.

На автореферат диссертации поступило 5 отзывов. Все отзывы положительные: Отзывы прислали:

1) Ахметшина Марина Ринатовна, к.б.н., доцент кафедры физиологии и патологии, Факультет фундаментальной медицины МНОИ МГУ имени М.В. Ломоносова. Отзыв положительный, замечания отсутствуют.

2) Кулизин П.В., к.б.н., доцент кафедры ботаники и зоологии, ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского». Отзыв положительный. В отзыве имеются уточнения и замечание: 1) В качестве уточнения хотелось бы попросить автора привести сведения об эколого-географической характеристике использованных штаммов и насколько широко они распространены в природе. 2) В качестве замечания хочется отметить отсутствие в тексте автореферата расшифровок аббревиатур параметров AGR, SGR (таблица 10, страница 18), FCR и PER (таблица 11, страница 19) и методик их расчета.

3) Патова Елена Николаевна, к.б.н., ведущий научный сотрудник, доцент, руководитель группы и Новаковская Ирина Владимировна, к.б.н., научный сотрудник группы геоботаники и сравнительной флористики отдела флоры и растительности Севера с научным гербарием Института биологии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН. Отзыв положительный. В отзыве есть замечания: «... хотели бы отметить: в автореферате отсутствует информация о влиянии условий культивирования на содержание фукоксантина и омега-3 эйкозапентаеновой кислоты в клетках исследованных водорослей. Не указано, как проводился учет прироста биомассы мальков рыб? При оценке жизнеспособности лиофилизата *V. magna* (на основе использования метода цитофлуориметрического анализа) продемонстрирована высокая

выживаемость клеток, следовало бы провести дополнительные исследования с применением питательных сред, для оценки жизнеспособности данного штамма».

4) Сафронова Татьяна Владимировна, к.б.н., научный сотрудник Лаборатории альгология ФГБУН Ботанического института им. В.Л. Комарова РАН. Отзыв положительный. В отзыве есть комментарии и вопросы: «На стр. 4 указано, что большинство исследований исторически сфокусировано на морских штаммах, но при этом при сравнении содержания эйкозапентаеновой кислоты (ЭПК) в биомассе микроводорослей в разделе «результаты» на стр. 11-12 приводятся морские и пресноводные штаммы. По моему мнению вопрос плохо освещен в тексте и остается непонятным, исследовались ли до настоящей работы пресноводные штаммы на предмет содержания эйкозапентаеновой кислоты (ЭПК) в их биомассе, где и когда проводились эти исследования?».

5) Финкина Екатерина Ивановна, к.хим.н., старший научный сотрудник ГНЦ ИБХ РАН. Отзыв положительный, замечания отсутствуют.

В ходе защиты соискатель дала развернутые ответы на поставленные вопросы.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований разработана технология полупромышленного производства биомассы оригинальных штаммов микроводорослей *Mallomonas furcata* SBV-13 и *Vischeria magna* SBV-108, накапливающих значительные количества фукоксантина и эйкозапентаеновой кислоты, а также применения биомассы данных штаммов для создания кормовых добавок для аквакультуры, позволяющих существенно улучшить эффективность кормления и ростовые характеристики мальков. Предложено и доказано суждение, что пресноводные штаммы микроводорослей не уступают морским в способности накапливать значительные количества каротиноидов и полиненасыщенных жирных кислот при культивировании в объеме более 100 л., в связи с чем необходимо активно задействовать их биоразнообразие для

нужд биотехнологии.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что впервые проведено биотехнологическое исследование оригинальных штаммов микроводорослей *Mallomonas furtiva* SBV-13 и *Vischeria magna* SBV-108, и показана их способность накапливать значительные количества фукоксантина и эйкозапентаеновой кислоты, соответственно, в условиях как лабораторного, так и полупромышленного культивирования в инновационном панельном фотобиореакторе в объеме 120 л. Измерена продуктивность данных штаммов по целевым метаболитам, которая оказалась одной из самых высоких среди описанных в литературе микроводорослей. Установлено, что введение биомассы штамма *Vischeria magna* SBV-108 в стартовый корм красной тилапии приводит к значимому повышению скорости роста мальков и увеличению параметров эффективности кормления более чем на 20%

Применительно к проблематике диссертации результативно использованы методы: культуры клеток на жидких питательных средах с применением лабораторных шейкеров-инкубаторов и полупромышленного панельного фотобиореактора; молекулярной идентификации штаммов на основе секвенирования фрагментов рДНК малой субъединицы (SSU rDNA), фрагментов ITS1-5.8S-ITS2 рДНК, а также маркера *rbcL* хлоропластной ДНК; анализа химического состава биомассы с помощью ВЭЖХ-МС а также ряда химических методов; выращивания мальков красной тилапии *Oreochromis mossambicus* × *Oreochromis niloticus* в аквариумах. **Изложена** технология культивирования исследуемых штаммов в лабораторном и полупромышленном масштабе, методы биохимического анализа биомассы, способ введения биомассы в аквакультурный корм. **Раскрыты** данные продуктивности исследуемых штаммов, показано превосходство по сравнению с представленными в литературе штаммами при сходных условиях культивирования. **Изучено** влияние введения биомассы исследованных штаммов в стартовый корм на эффективность кормления и ростовые характеристики мальков красной тилапии. **Проведена модернизация**

существующих методик филогенетического анализа синуровых микроводорослей, определения содержания фукоксантина в биомассе, полупромышленного фотоавтотрофного культивирования микроводорослей.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что разработана технология полупромышленного культивирования оригинальных штаммов микроводорослей *Mallomonas furtiva* SBV-13 и *Vischeria magna* SBV-108, которые могут быть использованы для биотехнологического производства ценных метаболитов – фукоксантина и эйкозапентаеновой кислоты, а также производства стартовых кормов для аквакультуры. Представлены методики культивирования, сбора, хранения и химического анализа биомассы, а также ее включения в аквакультурный корм и оценки его эффективности. Создан прототип кормовой добавки, позволяющей увеличить большинство значимых показателей эффективности корма более чем на 20%.

Оценка достоверности результатов исследования выявила: для экспериментальных работ результаты имеют высокую воспроизводимость, получены на сертифицированном оборудовании с применением общепринятых современных методик, выполнен анализ большого экспериментального материала и статистическая обработка результатов; теория была построена, основываясь на опубликованных экспериментальных данных о способности различных классов микроводорослей накапливать каротиноиды и полиненасыщенные жирные кислоты, и влиянию данных соединений на рост, развитие и питание гидробионтов; **идея базируется** на задействовании биоразнообразия пресноводных микроводорослей для производства промышленно-значимых продуктов; **использовано** сравнение данных автора, с данными, полученными ранее в работах других авторов, занимающихся полупромышленным культивированием микроводорослей. В обзоре литературы подробно описывается состояние проблемы соответствующей теме диссертации и рассмотрены вопросы, связанные с поиском альтернативных ингредиентов аквакультурных кормов, применением

микроводорослей для биотехнологического производства промышленно-значимых продуктов и технологиями масштабного культивирования и переработки биомассы микроводорослей; **использованы** современные методики получения и обработки данных результатов; **установлено**, что полученные результаты свидетельствуют о высоком потенциале биотехнологического применения пресноводных микроводорослей, в частности исследуемых штаммов *Mallomonas furtiva* SBV-13 и *Vischeria magna* SBV-108 с рекордными показателями продуктивности по целевым метаболитам при фотоавтотрофном выращивании.

Личный вклад соискателя состоит в непосредственном участии на всех этапах работы, включая применение методов и протоколов способствующих получению представленных данных, в апробации результатов исследования. Автор самостоятельно анализировал полученные результаты, делал выводы и обобщения, подготавливал публикации по теме исследований.

Научная значимость работы заключается в том, что обнаружены и исследованы оригинальные пресноводные штаммы микроводорослей *Mallomonas furtiva* SBV-13 и *Vischeria magna* SBV-108, обладающие более высокой продуктивностью по сравнению с большинством представленных в литературе морских штаммов, что свидетельствует о высоком биотехнологическом потенциале пресноводных микроводорослей и необходимости исследования их биоразнообразия, чему в настоящее время уделяется недостаточно внимания. Показано, что богатая эйкозапентаеновой кислотой биомасса *Vischeria magna* SBV-108 оказывает благоприятное влияние на рост мальков красной тилапии, что свидетельствует о перспективности разработки кормовых добавок для аквакультуры на основе микроводорослей.

Впервые: проведено биотехнологическое исследование двух оригинальных штаммов микроводорослей *Mallomonas furtiva* SBV-13 и *Vischeria magna* SBV-108; проведена молекулярная идентификация и

морфологическое описание штамма *Mallomonas furtiva* SBV-13; разработан технологический регламент и осуществлено культивирование исследованных штаммов в полупромышленном масштабе в объеме более 100 л.; измерена производительность исследованных штаммов по фукоксантину и эйкозапентаеновой кислоте в условиях лабораторного и полупромышленного культивирования и показано, что продуктивность данных штаммов превосходит большинство известных в литературе; исследовано влияние добавления биомассы исследованных штаммов в стартовый корм для мальков красной тиляпии и показано, что добавление в корм 10% масс. биомассы *Vischeria magna* SBV-108 приводит к увеличению параметров эффективности корма более чем на 20%.

Результаты работы могут быть использованы для биотехнологического получения фукоксантина и эйкозапентаеновой кислоты с применением штаммов *Mallomonas furtiva* SBV-13 и *Vischeria magna* SBV-108, оптимизации производительности данных штаммов различными методами, создания кормовых добавок для аквакультуры на основе биомассы *Vischeria magna* SBV-108, изучения родственных видов для раскрытия биотехнологического потенциала пресноводных микроводорослей.

Диссертация представляет собой законченную научно-квалификационную работу, в которой изложены результаты биотехнологического исследования оригинальных штаммов микроводорослей *Mallomonas furtiva* SBV-13 и *Vischeria magna* SBV-108 и потенциала их применения в промышленной микробиологии и аквакультуре.

Соискатель Сорокин Б.А. ответил на заданные ему в ходе заседания вопросы и привел аргументированные ответы.

Диссертационный совет пришел к выводу о том, что в диссертации:

- соблюдены критерии, установленные Положением о присуждении ученых степеней, утвержденном постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842, которым должна отвечать диссертация на соискание ученой степени;

- отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных соискателем ученой степени работах, в которых изложены основные научные результаты диссертации;

- соискатель ссылается на авторов и источники заимствования материалов.

На заседании 23 января 2025 г. диссертационный совет принял решение присудить Сорокину Борису Андреевичу ученую степень кандидата биологических наук по специальности 1.5.6 - Биотехнология.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 9 человек, из них 8 докторов наук по специальности 1.5.6 – Биотехнология, участвовавших в заседании, из 9 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за – 7, против – 1, недействительных бюллетеней – 1.

Председатель

диссертационного совета

24.1.016.01 (Д 006.027.01)

Ученый секретарь

диссертационного совета

24.1.016.01 (Д 006.027.01)



П.Н. Харченко

Д.В. Романов

23.01.2025 года