

ОТЗЫВ официального оппонента
**на диссертацию Зайцева Петра Андреевича на тему: «Функционально-
метагеномный анализ влияния стрессоров на природные и
искусственные альго-бактериальные сообщества», представленную к
защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по
специальности 1.2.6. Биотехнология**

Диссертационная работа П.А. Зайцева посвящена метагеномному анализу таксономической структуры альго-бактериальных сообществ и влиянию на нее стрессовых воздействий.

Актуальность темы исследования. Внедрение метагеномного анализа ознаменовало новую революцию в микробиологии, одну из нескольких молекулярно-биологических революций, которые эта наука претерпела с конца XX века и продолжает претерпевать в настоящее время. При изучении микробных сообществ метагеномный анализ обладает большими преимуществами, позволяя максимально полно выявить биоразнообразие сообществ и его изменения под влиянием разных факторов. Такие факторы могут быть и природными, и антропогенными, связанными, например, с загрязнением окружающей среды или использованием микробных сообществ для ее очистки. Таким образом, актуальность темы исследования, ее фундаментальная и практическая значимость не вызывают сомнений. Необходимо отметить, что объекты исследования, альго-бактериальные сообщества (в том числе, их цианобактериальная компонента), существуют с древнейших времен, представляют важнейшую линию эволюции биосферы и являются важным действующим агентом в современной биосфере, а также важным объектом фотобиотехнологии. Таким образом, их изучение имеет большое научно-практическое значение.

Степень обоснованности положений и научных выводов, выносимых на защиту. На сегодняшний день альго-бактериальные

сообщества как перспективные объекты фотобиотехнологии, изучены еще недостаточно.

Целью работы являлось исследование методами метагеномики таксономической структуры ряда альго-бактериальных сообществ и влияния на нее различных стрессоров. Автором были сформулированы следующие **задачи работы**: 1) провести анализ таксономического состава и выявить функциональный потенциал ряда альго-бактериальных сообществ; 2) проанализировать динамику изменения этих параметров под действием модельных стрессоров (высокой концентрации фосфата, наличия лекарственных веществ и др.); 3) экспериментально оценить потенциал сообщества, растущего в искусственной системе для очистки сточных вод, в плане удаления из них фосфата; 4) сконструировать лабораторное альго-бактериальное сообщество, перспективное для очистки сточных вод от фосфатов.

В ходе работы эти задачи были выполнены и цель достигнута. Основные положения и выводы диссертационной работы сформулированы на основании экспериментальных результатов, полученных новейшими молекулярно-биологическими методами. Полученные результаты математически обработаны и их достоверность не вызывает сомнений.

Научная новизна и практическая значимость исследования. Методами метагеномики в работе впервые была получена оценка потенциала альго-бактериального сообщества к биоизъятию неорганического фосфора из сточных вод, а также оценка его устойчивости к ряду лекарственных препаратов, выступающих в качестве загрязнителей среды. Сравнительное исследование структуры сообществ проведено с помощью новейшей технологии 3-го поколения на платформе Oxford Nanopore Technologies.

Понимание связи между таксономическим составом сообщества, содержащимися в нем определенными генетическими элементами и наблюдаемым фенотипом дало автору возможность подойти к рациональному конструированию микробных сообществ для биотехнологии.

Методология и методы исследований. Как уже отмечалось, работа проведена с помощью новейших методов метагеномики, а также с использованием современных микробиологических методов.

Структура и содержание научной работы. Диссертация изложена на 160 страницах текста, содержит 20 таблиц и 35 рисунков. Она написана по классической схеме и содержит введение, обзор литературы (глава 1), описание объектов и методов исследования (глава 2), результаты и их обсуждение (глава 3), заключение, выводы, перечень сокращений и список литературы, включающий 275 работ позднейшего времени.

Обзор литературы состоит из двух частей. В первой из них дается характеристика альго-бактериальных сообществ, в частности, в плане использования в экобиотехнологии для удаления фосфора из сточных вод. Отдельное внимание уделено влиянию различных стрессоров на сообщество. Вторая часть обзора повествует о функционально-метагеномном анализе альго-бактериальных сообществ и его возможностях как методологии анализируемой работы.

Во второй главе приведено подробное и точное описание методов, использованных в работе.

Третья глава, посвященная результатам исследования и их обсуждению, состоит из нескольких тематических блоков и, соответственно, параграфов. В первом из них (3.1.) обсуждается анализ таксономического состава и биоразнообразия альго-бактериального сообщества из активного ила водоочистных сооружений Звенигорода. Результаты опытов с меняющейся концентрацией фосфата свидетельствуют об изменении состава сообщества и о тенденции к снижению его биоремедиационного потенциала. Безусловный интерес представляют данные о смене фототрофного компонента сообщества (цианобактерии / водоросли). Во втором параграфе (3.2.) изложены результаты по изучению действия микрополлютантов (лекарственных веществ цефтриаксона и дихлофенака) на состав и функциональное состояние сообщества. Третий параграф (3.3.) посвящен

изучению действия на сообщества таких модельных стрессоров как иммобилизация на хитозане, а также лекарственных веществ. Четвертый параграф (3.4.) посвящен изучению таксономического состава и биоразнообразия сообществ из эвтрофицированных биотопов, в качестве которых автором была выбрана система водоемов с повышенной концентрацией фосфата вблизи апатитовых разработок (г. Апатиты). Отмечены различия сообществ разных водоемов, обусловленные, в частности, различием в содержании в них фосфатов. Убедительно выглядят результаты, указывающие на смену доминирующего фототрофного компонента сообществ в зависимости от концентрации фосфата, сукцессию. Пользуясь случаем, необходимо отметить высокое качество иллюстраций (фотографий фототрофных микроорганизмов), представленных в работе, а также прекрасное оформление диссертации, в целом. Следующий параграф (3.5.) посвящен в первую очередь, изучению альгологической монокультуры *Micractinium simplicissimum*, выделенной из эвтрофицированного водоема (г. Апатиты). В шестом параграфе (3.6.) проанализирована роль микробиома фикосферы лабораторного альго-бактериального сообщества в ответе на изменения режима фосфорного питания. Наконец, последний параграф (3.7.) посвящен конструированию и изучению искусственного микробного сообщества для биоизъятия фосфора из сточных вод.

Уже беглый обзор экспериментальной части работы свидетельствует о ее масштабности и всесторонности. Автор тщательно старался отметить и проанализировать выявленные им закономерности.

Эти закономерности сформулированы в заключительной части работы, написанной четко, логично и убедительно.

Выводы работы не вызывают возражений. Содержание автореферата соответствует содержанию диссертации.

Пожелания и замечания. Несмотря на общую положительную и, безусловно, высокую оценку анализируемой работы, представляется

уместным высказать небольшие замечания и пожелания, которые могут пригодиться автору.

Прежде всего, это частое отсутствие согласований, опечатки и неудачные конструкции фраз. Хотя обычно рецензент высказывает подобные замечания в качестве «дежурных», в самом конце рецензии, здесь их, к сожалению, довольно много, и они затрудняют чтение, иногда лишая фразу смысла. Во многих случаях эти нелепости обусловлены редактированием текста, начатым, но не доведенным до конца, когда исправления коснулись лишь части фразы, а другая осталась без изменения. Другая причина, вероятно, объясняется навязчивостью компьютера, который «по своему усмотрению» вносит изменения в тексты, создавая пишущему большие неудобства. К сожалению, сегодня приходится более тщательно вычитывать текст, чем раньше. Примеры несогласований: «Применение ОФМ ... основано на чистых культурах и консорциумов...» (с. 18). «Факт стабильности состава корового биома, наблюдаемая у АБС ...», с. 19). «совместная дивергенции доминирующих форм микробиома...» (с. 20).

К неудачным формулировкам относится: «Стрессором называют внутреннее или внешнее воздействие на живую систему, вызывающее стрессовый ответ...» (с. 20, это хорошее определение – НК). Но далее: «Ответ живой системы на действие стрессоров ...» (Если стрессор это воздействие, то получается «действие воздействия», возможно, неудачный перевод).

Примеры неудачных словосочетаний: «процессы чувства кворума», «выход целевых процессов» (с. 17), «фикосфера ОФМ» (зачем добавлять ОФМ, оксигенных фототрофных микроорганизмов, если термин фикосфера их и так подразумевает?).

Некоторые фразы воспринимаются как ошибочные (например, анаммокс или перечень хемоорганогетеротрофных бактерий с указанием на выделение серной и азотной кислот, см. с. 28). Очевидно, это «псевдоошибки», возникшие при перестановке слов во фразах.

Терминологическая поправка: условия лучше называть не аноксигенными (не выделяющими O₂), а аноксическими (с.28).

Что касается вопросов, «достойных обсуждения», то это не замечания, а скорее, ассоциации, возникшие при чтении работы и напоминающие о ее «исторической базе». В начале XX века пионерные работы по удалению водорослями биогенных элементов из вод проводились еще Е.Е. Успенским (и, конечно, не только им). Концепция микробного сообщества, в частности, циано-бактериального, была разработана академиком Г.А. Заварзиным. А интерес мирового научного сообщества к этой проблематике в конце XX в. был настолько велик, что 1994 год был назван «годом слизи». Яркие пионерные работы по альго-бактериальным сообществам связаны с именем С.Н. Дедыш и ряда других сотрудников на кафедре биологии почв МГУ. У цианобактерий чрезвычайно интересные «взаимоотношения» с фосфором, в частности, исследованные Л.М. Герасименко в плане «актуалистической палеонтологии», но есть и физиологические аспекты. Наука идет в будущее, но упоминание исторических мотивов может углубить и оживить работу.

Конечно же, все вышесказанное не уменьшает научной ценности рецензируемой работы. Диссертация Зайцева П.А. соответствует требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В. Ломоносова к работам подобного рода.

Заключение. Диссертационная работа Зайцева Петра Андреевича выполнена на современном методическом уровне и представляет законченное серьезное научное исследование. Полученные диссертантом данные не вызывают сомнений и вносят ценный вклад в современные представления о возможностях метагеномики при анализе биоразнообразия и структуры альго-бактериальных сообществ, а также о перспективах их использования в экобиотехнологии.

Содержание диссертации соответствует специальности 1.5.6. Биотехнология (по биологическим наукам), а также критериям, определенным пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в

Московском государственном университете имени М.В. Ломоносова, а также оформлена согласно требованиям Положения о совете по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова.

Таким образом, соискатель Зайцев Петр Андреевич заслуживает присуждения степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.6. Биотехнология (по биологическим наукам).

Официальный оппонент:

Доктор биологических наук, доцент, доцент кафедры микробиологии биологического факультета ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова»

Колотилова Наталья Николаевна

10.02.2025

Контактные данные: тел. +7(499)939-45-45, kolotilova

Специальность, по которой официальным оппонентом защищена диссертация: 07.00.10 История науки и техники (биологические науки)

Адрес места работы: 119234, Россия, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12, ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова», биологический факультет

Подпись сотрудника Н.Н. Колотиловой удостоверяю:
Ученый секретарь

Е.В. Петрова