

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации на соискание учёной степени кандидата биологических наук Зайцева Петра Андреевича на тему «Функционально-метагеномный анализ влияния стрессоров на природные и искусственные альго-бактериальные сообщества» по специальности 1.5.6. Биотехнология

Диссертационная работа Зайцева П.А. посвящена исследованию влияния ряда стрессовых факторов на таксономический состав альго-бактериальных сообществ (АБС) антропогенных экосистем и искусственных культивационных систем, а также на биотехнологический потенциал данных АБС для их применения в биологических системах очистки сточных вод с использованием методов функциональной метагеномики. Особое внимание автор уделяет АБС с выраженной способностью к биоаккумуляции фосфора. Важно отметить комплексный подход автора к своему исследованию. Комплексность подхода отразилась как в общем плане работы, так как изучение поставленной проблемы происходило на разных уровнях, так и в используемых автором методах. Так, в качестве объектов исследования были выбраны как природные АБС из водоочистных сооружений и апатитовых разработок, так и лабораторные АБС изолированных монокультур микроводорослей. Стрессовыми факторами в исследовании послужили высокая концентрация фосфата, присутствие лекарственных веществ и иммобилизация на синтетических носителях.

Для достижения поставленных задач автором были использованы как классические микробиологические и биохимические методы, так и современные молекулярно-генетические методы, включая секвенирование второго и третьего поколения, высокотехнологичные методы флуоресцентной и аналитической просвечивающей микроскопии, биофизические методы оценки активности фотосинтетического аппарата. Отдельно хочу остановиться на применении методов секвенирования в представленной работе. Если сами по себе различные методы секвенирования уже стали достаточно рутинными и не представляют собой большой технической сложности, то биоинформатическая обработка полученных данных остается сложной и нетривиальной задачей, для решения которой нет универсальных алгоритмов. Зайцева П.А. вполне можно назвать первопроходцем в России в решении

подобных биоинформатических задач при изучения альго-бактериальных сообществ. А разработанные им подходы к обработке метагеномных данных для предсказания функционального потенциала исследуемых АБС выводят работу автора в авангард мировой науки. Полученные автором результаты проливают свет на различные аспекты экологии и физиологии АБС антропогенных сообществ, а также могут быть применены в решении практических задач, связанных с биологической очисткой сточных вод.

Таким образом, актуальность, новизна, а также практическая и фундаментальная значимость диссертационной работы Петра Андреевича не вызывают сомнений. Высокий уровень диссертационной работы отражен в публикациях в высокорейтинговых журналах, включая журналы первого квартиля WoS и Scopus.

При ознакомлении с материалом, представленном в автореферате, возникли следующие вопросы:

1. Автор указывает, что для моделирования стресса, связанного с резким повышением концентрации экзогенного фосфора, АБС инкубировали в проточном желобе со скоростью подачи третичного эфлюента — 10 л/мин и содержанием P_i $9,29 \pm 0,93$ мг/л, при этом в среде BG-11, используемой для поддержания выделенных монокультур содержание фосфата составляло 40 мг/л. Во-первых, учитывая, что источниками P_i могут являться разные соли, более корректно было бы указывать молярную концентрацию этого элемента. Во-вторых, почему автор считает, что описанные условия представляют собой условия с резко повышенной концентрацией фосфатов, если абсолютные значения концентрации не велики и в других экспериментах автор в качестве повышенной концентрации использует 200 мг/л P_i ?
2. Как соотносятся использованные в работе концентрации лекарственных веществ (5 мкг/л) с известными из литературных данных действующими на микроорганизмы концентрациями? Одно из использованных лекарственных веществ, диклофенак, не является антибиотиком, однако его действие оказалось сходным с антибиотиком цефтриаксоном. Какой можно предположить механизм у наблюдаемого ингибирующего воздействия на цианобактерии у таких разных веществ?
3. Методы метагеномного секвенирования, в основном с использованием баркодов, находят все более широкое применение в полевых исследованиях альгологических и цианобактериальных сообществ. Однако результаты

применения этих методов часто не согласуются с результатами применения других методов: в них отсутствуют некоторые последовательности ОФМ, наблюдаемых при непосредственном морфологическом анализе проб и непосредственно изолированных из этих проб. Часто эти расхождения связаны с трудностями разрушения клеток некоторых микроводорослей и цианобактерий при выделении ДНК, с длительным присутствием геномной ДНК в среде уже после гибели соответствующих организмов, с неполнотой используемых баз данных. Автором предложен ряд более совершенных подходов, таких как анализ полных геномов микроорганизмов из АБС с использованием сочетания методов секвенирования второго и третьего поколения. Насколько эти новые подходы решают описанную выше проблему? Насколько совпадали у автора результаты микроскопических наблюдений, генетического анализа выделенных культур и данных метагеномики? Насколько удалось идентифицировать разнообразие эукариотической компоненты АБС? Как, по мнению автора, полученные количественные данные по динамике таксономического разнообразия, соотносятся с реальными изменениями, учитывая известные проблемы количественной интерпретации метагеномных данных?

4. Для биологической очистки сточных вод от фосфора очень часто используют сообщества, состоящие из гетеротрофных бактерий, которые обладают высокими скоростями роста и которым не нужен свет. Какие преимущества имеют исследуемые автором альго-бактериальные сообщества и насколько важен в них фотоавтотрофный компонент по мнению автора?

Все поставленные вопросы носят дискуссионный характер, не ставят под сомнения выводы и положения данной работы и вызваны исключительно интересом к полученным Зайцевым П.А. результатам.

Считаю, что диссертационная работа Зайцева П.А. отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В.Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует специальности 1.5.6. Биотехнология, а также критериям, определенным пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В.Ломоносова. Работа 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 ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.6. Биотехнология (по биологическим наукам).

Отзыв подготовил:

кандидат биологических наук,

в.н.с., зав. лаборатории экофизиологии микроводорослей,

Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН

СИНЕТОВА Мария Андреевна

«28» февраля 2025 г.

Контактные данные: Тел.: +7 (985) ; e-mail: maria.sinetova

Адрес места работы: 127276 Россия, г. Москва, Ботаническая ул., д. 35,
ФГБУН "Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН"

Подпись сотрудника ИФР РАН М.А. Синетовой заверяю: