

**ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА
НА ДИССЕРТАЦИОННУЮ РАБОТУ
МАТАНЦЕВОЙ О. В.
"КОНКУРЕНТНОЕ ПОГЛОЩЕНИЕ И АССИМИЛЯЦИЯ ОРГАНИЧЕСКИХ
ВЕЩЕСТВ И НИТРАТ-ИОНОВ КЛЕТКАМИ ДИНОФЛАГЕЛЛЯТ
PROROCENTRUM MINIMUM",**

**представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук
по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология**

Работа О. В. Матанцевой посвящена изучению проблемы конкурентного поглощения и ассимиляции органических веществ и нитрат-ионов клетками динофлагеллят. Актуальность исследования связана с одним из глобальных вызовов современности – деформацией естественных биогеохимических циклов азота и углерода, происходящих в различных экосистемах под постоянно растущим прессом антропогенного воздействия. Традиционными объектами для изучения биогенных циклов азота и углерода, как правило, служат прокариотные микроорганизмы, высшие растения и грибы. Выбор соискательницей в качестве объекта своих исследований эукариотных микроорганизмов динофлагеллят, в этом смысле, представляется очень удачным и перспективным. Эти организмы широко представлены в водных экосистемах и играют важную роль в их функционировании.

Диссертационная работа О. В. Матанцевой представлена в одном томе на 134 страницах машинописного текста, содержит 31 рисунок и 10 таблиц. Соискательницей использована традиционная для квалификационных работ структура. Диссертация состоит из введения, четырех основных глав: «Обзор литературы», «Материалы и методы», «Результаты» и «Обсуждение», а также краткого «Заключения», «Выводов», «Списка литературы», «Благодарностей» и «Приложения». У меня, правда, возникли некоторые сомнения по поводу целесообразности вынесения части иллюстраций (7 рисунков) в «Приложение». Диссертация небольшая по объему и им вполне хватило бы места в основной части рукописи. В частности, это позволило бы избежать повторяющейся нумерации рисунков (рис. 1-7 в основных разделах и рис. 1-7 в приложении). Библиография включает 242 источника, из них 233 – на иностранном языке. Техническое оформление работы выполнено на высоком уровне. Количество опечаток в тексте сведено к минимуму. Все иллюстрации хорошо читаемы и информативны. Хочу особо отметить, что диссертация написана очень хорошим языком без каких-либо стилистических погрешностей, не содержит сленга и неоправданных англицизмов.

Введение (стр. 6-13) представляет собой краткую характеристику работы, выполненную по классической схеме. Здесь диссертантка обосновывает актуальность проблемы, на решение которой направлено ее исследование, затем последовательно описывает цель и задачи, научную новизну, практическое и теоретическое значение и т.д. Все эти пункты написаны в полном соответствии с рекомендациями ВАК РФ. Анализ этого раздела диссертационной работы О. В. Матанцевой позволяет заключить, что соискательницей анонсировано актуальное, самостоятельное исследование, результатом которого стало получение ряда принципиально новых

данных, вносящих существенный вклад в развитие биологической науки. Иными словами, диссертация содержит основные признаки, определяющие статус квалификационной работы, представляемой на соискание ученой степени «кандидата наук» согласно п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней» (Постановление Правительства РФ от 24.09.2013 N 842; ред. от 28.08.2017).

Цель своего исследования диссертантка формулирует следующим образом: «исследование конкурентного поглощения и ассимиляции органических веществ (мочевины и глицина) и нитрат-ионов клетками миксотрофных динофлагеллят *P. minimum*». Отдельно хочу остановиться на сформулированных О. В. Матанцевой «задачах исследования», а также на «положениях, выносимых на защиту» (стр. 8-9). Эти важнейшие элементы квалификационных работ продуманы и представлены, с моей точки зрения, диссертанткой безупречно. Поставленной цели диссертантка обоснованно предполагает достичь путем решения 4 основных задач. 1. Изучить конкурентный транспорт азота мочевины и нитрат-ионов, а также азота глицина и нитрат-ионов в клетки динофлагеллят *P. minimum* в условиях избыточного содержания азота в среде. 2. Оценить роль мочевины и глицина как источников углерода для биосинтетических процессов в клетках *P. minimum*. 3. Идентифицировать гомологи белков, вовлеченных в поглощение и начальные этапы метаболизма нитрат-ионов, мочевины и глицина, у динофлагеллят *P. minimum* с помощью анализа транскриптомных баз данных. 4. Исследовать поглощение питательных субстратов отдельными клетками динофлагеллят *P. minimum*.

Совершенно очевидно, что если диссертантке удастся решить эти задачи, то цель исследования будет достигнута. О. В. Матанцева выносит на защиту 4 основных положения. Не буду их перечислять, отмечу, лишь, что все они органически вытекают из решения каждой из поставленных задач и являются оригинальными производными защищаемой квалификационной работы.

Глава 1. Обзор литературы (стр. 14-36). Глава написана очень хорошо. Диссертанткой проделан большой труд по разностороннему анализу материалов из более чем 240 источников. Большинство включенных в эту главу работ датируются нынешним веком (по 2017 г. включительно), что неудивительно, учитывая современный уровень решаемых в работе задач. Однако в тех случаях, когда это оказывается необходимо, например, при анализе морфофункциональной организации клеток динофлагеллят, О. В. Матанцева обращается к источникам второй половины XX в. и анализирует их очень грамотно и уверенно, демонстрируя свободное владение материалом и глубокое понимание сути обсуждаемых вопросов. Глава включает 4 основных раздела, каждый из которых имеет, кроме того, дополнительные подразделы. Такая дробность полностью оправдана выбранным диссертанткой способом представления результатов собственного анализа литературных источников. Не секрет, что многие соискатели при написании обзоров литературы используют скучный, но проверенный – хронологический способ подачи материала. При этом связь между конкретными, включаемыми в анализ данными, и задачами собственного исследования, зачастую растворяется в хронологии не связанных друг с другом событий и фактов. О. В. Матанцева построила свой обзор таким образом, что каждый из его пунктов непосредственно связан с конкретными вопросами, затрагиваемыми в ее исследовании. Обзор содержит всю необходимую информацию о современном состоянии и уровне научных исследований, непосредственно связанных со всем комплексом решаемых в диссертационной работе О. В. Матанцевой задач. При этом в нем нет ничего лишнего или имеющего

неочевидное отношение к исследованию. Глава читается очень легко и полностью выполняет те функции, которые закреплены за ней в данном типе квалификационных работ.

Глава 2. Материалы и методы (стр. 37-46). Глава состоит из 10 разделов, в которых описаны основные методологические составляющие диссертационной работы О. В. Матанцевой. Приведенный в этой главе арсенал методов, которыми овладела диссертантка, позволяет заключить, что перед нами зрелый исследователь, отвечающий высоким требованиям современного уровня развития биологической науки. Глава начинается с характеристики модельного штамма *Prorocentrum minimum* CCAP1136/16 и описания условий его культивирования. Приведенные далее методы измерения концентрации источников азота и углерода в культуральной среде, методики подсчета клеток, масс-спектрометрии и протоколы исследований полностью воспроизводимы и не оставляют сомнений в качестве выполненной с их помощью работы. Аналогично, очень четко и, вместе с тем, подробно представлены разделы, посвященные методам, использованным для количественной и статистической оценки полученных результатов и биоинформатическому анализу. Совокупность методов, описанных в данной главе, не оставляет сомнений в их необходимости и достаточности для достижения поставленной в работе цели.

У меня нет замечаний по этой главе диссертации за исключением пожелания на будущее: стремиться избегать неопределенностей, особенно в формулировках, предполагающих определенную конкретику. Так, на стр. 44 написано: «Несколько клеток, выбранных случайным образом, были проанализированы ...». Или на стр. 46: «В качестве последовательностей запроса использовались аминокислотные последовательности белков ..., принадлежащих различным видам организмов». Очевидно, что в первом случае возникает резонный вопрос – «сколько?», а во втором: «каким?».

Глава 3. Результаты (стр. 48-79). В отличие от диссертационной работы, в автореферате эта глава рассматривается в едином контексте с главой «Обсуждение» что, с моей точки зрения, в обоих случаях абсолютно оправдано. С одной стороны, такой подход позволяет диссертантке в основном тексте работы анонсировать конкретные результаты своих экспериментов, так сказать, «в чистом виде», не отвлекаясь на их обсуждение и, позволяя, тем самым, читателю сосредоточиться на собственной оценке сути и результатов исследовательского процесса. С другой стороны, объединение обеих глав в автореферате позволяет О. В. Матанцевой удачно преодолеть ограничения, предъявляемые к его объему, сохранив суть и основные положения, представленные в этих разделах.

Глава включает подробное описание результатов независимых экспериментов, связанных с изучением: конкурентного поглощения нитрат-ионов и мочевины, нитрат-ионов и глицина, влияния мочевины и глицина на поглощение нитрат-ионов в монокультуре *P. minimum*, а также поглощение бикарбонат-ионов в присутствии дополнительного источника азота, и углерода мочевины и глицина этими динофлагеллятами. Кроме того, в этой главе представлены результаты анализа поглощения мочевины, ионов нитрата и бикарбоната отдельными клетками динофлагеллят с помощью масс-спектрометрии вторичных ионов в наномасштабе. Еще один раздел главы «Результаты» – аналитический, посвящен поиску в транскриптомах *P. minimum* гомологов белков, участвующих в транспорте и ассимиляции нитрат-ионов, мочевины и глицина. Материал, представленный в этой главе, продуман и представлен на очень высоком уровне. Описание каждого

эксперимента содержит всю необходимую информацию, позволяющую сделать заключение о достоверности полученного результата. Большой объем фактического материала представлен в виде табличных данных и графических схем. Их содержание и оформление не вызывает никаких вопросов, они органически вписываются в основной текст диссертационной работы. Для оценки статистической поддержки полученных результатов диссертанткой использован набор актуальных алгоритмов из пакета программ MaxStat. Все виды статистического анализа, примененные в этой работе, полностью соответствуют задачам исследования, необходимы и достаточны для недвусмысленной трактовки конкретных результатов.

Глава «Обсуждение» стр. (80-95) по своей структуре идентична главе «Результаты». Здесь диссертантка очень зрело подвергает анализу результаты оригинальных экспериментов, представленные ею в предыдущей главе. При этом она стремится в каждом конкретном случае, если такая возможность существует, рассмотреть несколько гипотез и, анализируя их, предлагает свое виденье проблемы. Собственно, на этом этапе и обосновываются основные положения, вынесенные на защиту. Считаю, что в ходе самостоятельного исследования О. В. Матанцевой доказано, что: (1) транспорт азота в составе мочевины и глицина в клетки динофлагеллят *P. minimum* эффективнее, чем конкурентный транспорт азота в составе нитрат-ионов, (2) углерод мочевины и глицина ассимилируется клетками *P. minimum* в незначительной степени и (3) популяции динофлагеллят *P. minimum* гетерогенны в отношении поглощения питательных субстратов. Также ею показано, что динофлагелляты *P. minimum* обладают гомологами белков, отвечающих за транспорт и метаболизм нитрат-ионов, мочевины и глицина, у растений и животных.

Выводы (стр. 98). Выводы, их всего 6, в основном тексте диссертации и в автореферате полностью совпадают. Они логически связаны с полученными в ходе исследования результатами, объективны и достоверны. Выводы полностью отвечают главной цели исследования, содержат решения всех поставленных задач и поддерживают все положения, вынесенные диссертанткой на защиту.

Завершая отзыв, отмечу, что основные материалы диссертации О. В. Матанцевой опубликованы в 6 статьях, в журналах из перечня изданий, рекомендованных ВАК РФ. Результаты исследований были представлены О. В. Матанцевой на 8 научных конференциях, в том числе, на 5 крупных международных форумах. Автореферат полностью отражает основные положения диссертационной работы и оформлен в соответствии с требованиями ВАК РФ.

Заключение.

Резюмируя все вышеизложенное, считаю, что диссертация О. В. Матанцевой "Конкурентное поглощение и ассимиляция органических веществ и нитрат-ионов клетками динофлагеллят *Prorocentrum minimum*" является законченной научно-квалификационной работой и полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» от 24 сентября 2013 г. № 842 (ред. от 28.08.2017), утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации, предъявляемым к диссертациям, выдвигаемым на соискание ученой степени кандидата наук. Высказанные в процессе написания отзыва пожелания носят исключительно рекомендательный характер и не снижают общей положительной оценки этой работы. Считаю, что ее автор О. В. Матанцева, безусловно, заслуживает

присуждения ей искомой степени кандидата биологических наук по специальности
03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология

Фролов Александр Олегович



доктор биологических наук по специальности
03.00.19 – паразитология, гельминтология,
главный научный сотрудник
лаборатории по изучению паразитических
червей и протистов
ФГБУН Зоологический институт РАН,
тел.: 89215910718, e-mail: frolal@yandex.ru,
199034, Санкт-Петербург,
Университетская наб., д. 1, ЗИН РАН
сайт: <https://www.zin.ru/>

5 февраля 2018 г.

Подпись д.б.н. А.О. Фролова заверяю
Ученый секретарь Федерального государственного бюджетного учреждения науки
Зоологического института Российской академии наук

