

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Пугачевой Татьяны Талгатовны
«Мониторинг формирования, субклеточного распределения и расходования
резервов фосфора и азота в фототрофных микроорганизмах методами
аналитической просвечивающей электронной микроскопии»,
представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по
специальности 03.03.04 – Клеточная биология, цитология и гистология

Хорошо известно, что азот и фосфор являются ключевыми биогенными элементами, определяющими величину первичной продукции в природных водных экосистемах и эффективность культивирования хозяйственно ценных видов микроводорослей в биотехнологических комплексах. Основополагающие закономерности поглощения и ассимиляции этих макроэлементов одноклеточными фототрофами сформулированы еще в середине XX столетия и остаются общепринятыми до настоящего времени. Однако колоссальный прогресс в разработке инструментальных методов исследования биологических процессов на субклеточном уровне и применение омикс-подходов к решению биологических задач открыли принципиально новые возможности для более углубленного и доказательного исследования этой проблемы. Убедительным подтверждением эффективности новых подходов может служить диссертационная работа Татьяны Талгатовны Пугачевой, посвященная электронномикроскопическому исследованию механизмов адаптации микроводорослей и цианобактерий к дефициту фосфора и азота в среде и, в частности, изучению способности одноклеточных фототрофов к избыточному поглощению биогенов из среды и механизмов запасаания и расходования внутриклеточных резервов в меняющихся условиях среды обитания.

Актуальность и значимость этих вопросов для понимания фундаментальных основ функционирования природных фитопланктонных сообществ и биотехнологических комплексов по производству водорослевой биомассы очевидны и не требуют развернутой аргументации.

Характеризуя автореферат диссертации Т.Т. Пугачевой, необходимо, прежде всего, отметить продуманность и четкую согласованность всех

структурных компонентов выполненной работы. Цели и задачи исследования, его актуальность, теоретическая и практическая значимость убедительно обоснованы. Выбор объектов (зеленые, динофитовые микроводоросли и цианобактерии) и высоко технологичных инструментальных методов исследования (аналитической ПЭМ, методов молекулярной биологии и спектроскопии комбинационного рассеяния) максимально адекватен поставленным задачам. Результаты изложены логично, иллюстративно и стилистически грамотно. Достоверность экспериментальных данных и аргументированность выводов подтверждены статистическим анализом и впечатляющим списком публикаций в высокорейтинговых международных изданиях.

Наиболее яркой особенностью работы является новаторский подход к решению проблемы дифференцированной количественной оценки содержания и субклеточного распределения резервов фосфора и азота у микроводорослей и цианобактерий, основанный на использовании новейших методов аналитической электронной микроскопии (включающих собственную модификацию методики анализа ЭФПЭМ-карт).

Использование мощного инструментального арсенала, требующего специальной теоретической и методической подготовки и вдумчивый анализ экспериментальных данных позволили автору получить целый ряд важных результатов, дополняющую уже известную общую картину акклимации одноклеточных фототрофов к дефициту и избытку фосфора и азота в среде.

Среди них особо следует выделить:

- первое для микроводорослей описание ультраструктуры отдельных участков вакуолярных полифосфатных включений у *C. vulgaris*, организованных по типу многожильного кабеля, в котором взаимно параллельные структуры низкой и высокой электронной плотности равной ширины, чередуются с периодом $4,90 \pm 0,12$ нм. Прилегание структурно упорядоченных областей к внутренней стороне тонопласта указывает на его возможное вовлечение в процесс формирования полифосфатных цепей.

– первую для микроводорослей характеристику дифференциальной экспрессии генов, вовлеченных в метаболизм полифосфатов при избыточном поглощении фосфора. Показано, что VTC-подобный белок может участвовать в накоплении полифосфатов в «голодных» клетках в первые часы после восстановления фосфорного питания.

– определение химической природы азотных включений в вакуолях интактных клеток *Desmodesmus* sp. и *Amphidinium carterae* при помощи лазерной сканирующей микроспектроскопии комбинационного рассеяния, представленных кристаллами гуанина, накапливающимися при избытке азота в среде и выполняющими роль его внутриклеточных резервов.

Следует также отметить, что результаты, полученные Т.Т. Пугачевой в данной работе, хорошо объясняют типичную динамику содержания нитратов и фосфатов, регистрируемую нами в автотрофных накопительных культурах каротиногенных зеленых микроводорослей. Максимальные скорости поглощения неорганических соединений азота и фосфора обычно отмечаются в первые-вторые сутки после посева инокулята в свежую среду и зачастую совпадают с периодом лаг-фазы, вызванной беспрепятственным поступлением низкомолекулярных соединений в клетки путем пассивной диффузии по градиенту концентрации. При этом избыточные количества нитратов и фосфатов временно консервируются в вакуолях в виде малорастворимых включений. При «выедании» культурами элементов питания происходит мобилизация внутриклеточных резервов, обеспечивающая феномен кратковременного активного роста культур при следовых уровнях азота и фосфора в среде [Терентьева и др, 2008; Minyuk et al., 2019].

Результаты работы, прошедшие апробацию на трех международных и одной общероссийской конференциях и изложенные в 8 статьях в рецензируемых научных журналах, рекомендованных для защиты в диссертационном совете МГУ имени М.В. Ломоносова, могут быть использованы в биотехнологии для разработки систем мелиорации водной среды и изъятия фосфора и азота из сточных вод для их дальнейшего

использования в составе биоудобрений.

Автореферат четко отражает личный вклад соискателя и подтверждает отсутствие конфликта интересов с соавторами коллективных публикаций.

Ознакомившись с авторефератом диссертации Татьяны Талгатовны Пугачевой, считаем, что он в полной мере соответствует критериям, установленным для диссертаций на соискание ученой степени кандидата биологических наук Положением о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В. Ломоносова, а его автор, безусловно, заслуживает искомой степени.

06 декабря 2019 г.

Ведущий научный сотрудник,
Руководитель отдела биотехнологий и
фиторесурсов Федерального исследовательского
центра Институт биологии южных морей
имени А.О. Ковалевского РАН, к.б.н
299011 г. Севастополь, пр. Нахимова, 2

А.Б. Боровков

Ведущий научный сотрудник
Федерального исследовательского центра
Институт биологии южных морей
имени А.О. Ковалевского РАН, к.б.н.
299011 г. Севастополь, пр. Нахимова, 2

Г.С. Минюк

Подпись А.Б. Боровкова удостоверяю

