

Отзыв
Официального оппонента на диссертацию
Потапова Сергея Анатольевича
на тему:
«Вирусные сообщества в оз. Байкал»
на соискание ученой степени кандидата биологических наук
по специальности 03.02.08 – Экология

Озеро Байкал – величайшая ценность не только нашей страны, но и всей планеты. Нет необходимости приводить обоснования уникальности Байкала и необходимости его сохранения в первоизданном виде, равно как и обосновывать необходимость всестороннего исследования этого уникального природного объекта. Работа Сергея Анатольевича Потапова посвящена изучению вирусов, - самых мелких представителей байкальской «фауны», которые являются неотъемлемой частью сообщества живых организмов озера Байкал, что определяет **актуальность** диссертационного исследования.

Цель диссертационного исследования Потапова С.А. – установить генетическое разнообразие и структуру вирусных сообществ планктона, нейстона и перифитона озера Байкал, а также количественные показатели и динамику развития планктонных вирусов в пелагиали с учетом абиотических и биотических факторов среды. Реализация данной цели потребовала от диссертанта большой экспериментальной и теоретической работы.

Исследование Потапова С.А. носит системный характер и объединяет результаты изучения вирусных сообществ в разных зонах озера на протяжении ряда лет. Диссертантом получены **новые теоретически значимые** результаты, которые позволили уточнить и расширить данные о таксономическом составе вирусных сообществ в водных экосистемах и, в частности, о биоразнообразии T4-подобных вирусов сем. *Myoviridae*. Полученные в работе последовательности и массивы данных высокопроизводительного секвенирования зарегистрированы в базах MG-RAST, NCBI и, несомненно, будут использованы при сравнительном анализе других водоёмов. Анализ изменений видового состава вирусов в зависимости от условий обитания и различных воздействий, в том числе антропогенных, важен для прогнозирования состояния биоценоза не только озера Байкал, но и других водоемов, что имеет не только теоретическую, но и **практическую значимость**. В диссертации продемонстрировано успешное применение метода проточной цитометрии для определения числа вирусных частиц и бактерий и качественного анализа проб воды, который должен найти практическое применение для анализа микробных сообществ озера Байкал и мониторинга ультрамикрорепланктона водных экосистем.

Научная новизна диссертационного исследования Потапова С.А. не вызывает сомнений. Автором впервые проведена количественная оценка вирусных частиц и бактерий в озере Байкал методом проточной цитометрии, определены экологические факторы, влияющие на численность микробных сообществ; показано определяющее влияние количества бактерий и

температуры воды на численность вирусных частиц в озере. Впервые проанализирован виром по гену *g23* методом высокопроизводительного секвенирования, в сравнительном аспекте охарактеризовано генетическое разнообразие *g23*-сообществ поверхностного микрослоя воды, воды и биоплёнок, сформированных на камнях и губках. Впервые выполнено метагеномное секвенирование вирусных сообществ в пелагиали оз. Байкал, установлены состав и структура виромов, проведена функциональная аннотация генов. Показано влияние морфометрических показателей и трофического статуса водоёмов на состав виромов.

Достоверность полученных результатов и выводов диссертационной работы С.А. Потапова основана на тщательном анализе объектов исследования, большом объеме материала и комплексе взаимодополняющих современных методов исследования. Следует особо отметить, что в работе использовался материал, отобранный в период с 2011 г. по 2018 г., в широком диапазоне глубин, что обеспечивает высокую достоверность результатов диссертационного исследования.

Характеристика диссертации. Работа Сергея Анатольевича представляет собой законченное исследование, оформление которого отвечает всем требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям. Диссертация состоит из введения, 6 глав результатов и обсуждения, заключения, выводов и списка литературы. Работа изложена на 156 страницах, содержит 11 таблиц и 25 рисунков. Список литературы включает 298 источников, из которых 24 на русском языке, 270 на иностранных языках и 4 источника интернет ресурсов.

Во введении показана актуальность темы диссертационной работы и степень её разработанности, а также необходимость изучения вирусов озера Байкал. В этом разделе автор формулирует цель и задачи исследования, а также положения, выносимые на защиту, и приводит характеристики диссертационной работы, сведения о публикациях и личном вкладе в работу.

Обзор литературы сначала вводит читателя в мир бактериофагов, приводя данные об истории открытия фагов, их таксономии и морфологических особенностях, а также основные характеристики литических и лизогенных фагов. Данный раздел, несомненно, полезен для читателей, не являющихся вирусологами. Далее Сергей Анатольевич приводит опубликованные данные об изучении вирусов в водоемах, показывающие их важную роль в морских и пресноводных экосистемах (озёрах), последним автор уделяет особое внимание. Завершается «общая» часть обзора литературы анализом публикаций, подтверждающих роль вирусов как активных компонентов трофических цепей водных экосистем. Далее автор излагает опубликованные сведения об исследованиях вирусов озера Байкал, из которых вытекает необходимость их развития и, соответственно, исследований, представленных в данной диссертационной работе. В «Обзоре» приводятся сведения о молекулярно-генетических исследованиях водных бактериофагов, методах их проведения, обосновывается их необходимость; о метагеномных исследованиях и анализе β -разнообразия вирусных сообществ. Завершается анализ публикаций о

применении современных методов исследований для изучения вирусов разделом, посвященным проточной цитометрии.

«Обзор литературы» в целом обосновывает постановку задачи диссертационного исследования, однако, было бы полезно в его конце привести краткое заключение-обобщение опубликованных данных, из которого вытекает необходимость данного исследования.

Глава «**Материалы и методы**» начинается с детального описания процесса отбора проб из озера Байкал и их фиксации для исследования разными способами, в тексте приводится полная информация о месте и времени отбора проб, а также о глубине. Текст главы дает исчерпывающее представление об использованных методах исследования, описание методов составлено достаточно подробно и в соответствии с принятыми правилами. Комплекс методов исследования полностью адекватен задачам диссертационной работы.

Результаты диссертационного исследования С.А. Потапова изложены в четырех отдельных главах, в которых автор последовательно и логично излагает характеристики вирусных сообществ в «макромасштабе» и на уровне отдельных родов и видов. Полученные данные по оценке численности бактерий и вирусных частиц методами проточной цитометрии и эпифлуоресцентной микроскопии сопоставлены с аналогичными данными по другим озёрам, установлена положительная корреляция между численностью вирусов и гетерофитных бактерий. Потаповым С.А. изучены и проанализированы вертикальные профили численности вирусных частиц, бактерий, пикоцианобактерий в периоды положительной стратификации вод и весеннего перемешивания; выявлена значимая корреляционная связь между численностью вирусов и бактерий (ККП, $r = 0,9$, $p < 0,05$) и между численностью вирусов и температурой воды (ККП, $r = 0,8$, $p < 0,05$). Исследование сезонной динамики численности вирусных частиц показало повторяющийся рост численности вирусов в сентябре, связанный с ростом численности пикоцианобактерий. В связи с этим возникает вопрос: связано ли данное увеличение численности вирусов следствием накопления в воде озера Байкал «продуктов жизнедеятельности» людей к концу лета?

В главе 4 рукописи представлены результаты получения нуклеотидных последовательностей T4-подобных бактериофагов из биоплёнок, сформированных на абиотических и биотических субстратах и из поверхностного микрослоя воды оз. Байкал, с использованием праймеров, фланкирующих фрагмент гена основного капсидного белка gp23. Как и в других главах, проводится тщательный анализ результатов в свете опубликованных данных.

Несомненным достоинством диссертационной работы Потапова С.А. является проведение анализа gp23 последовательностей бактериофагов озера Байкал методом высокопроизводительного секвенирования. Полученные данные показали высокое разнообразие и уникальность состава бактериофагов озера, автор также провел детальный анализ опубликованных данных по другим водоемам и сравнил их с экспериментальными.

Метагеномный анализ вириопланктона пелагиали озера Байкал позволил Потапову С.А. получить интересные данные о составе вирусов. Так, в образцах из озера Байкал идентифицировано 21 семейство вирусов, хозяева которых стоят на самых разных ступенях эволюционной лестницы: бактерий, водоросли, птиц, рыб, насекомых, людей и животных. Установлено, что семейства *Mycoviridae*, *Siphoviridae*, *Podoviridae*, *Phycodnaviridae*, *Poxviridae* составляют основную долю (97%) от всех идентифицированных семейств. Вопрос: основная часть идентифицированных последовательностей вирусов принадлежала хвостатым бактериофагам порядка Caudovirales, - как Вы думаете, с чем это может быть связано?

Раздел «Анализ массивов многомерных данных физико-химических и микробиологических показателей» является логическим завершением экспериментальной части диссертационной работы. Впечатляет набор показателей, использованных диссертантом для корреляционного анализа, включающий все доступные физико-химические характеристики воды, индекс разнообразия по Шеннону и показатели численности вирусов и бактерий. Выявлена положительная корреляционная связь между численностью вирусных частиц и бактерий, индексом разнообразия по Шеннону и температурой, проанализирована роль других компонентов в поддержании численности вирусов и бактерий. Сопоставление с данными исследований других озёр показало, что байкальские виромы отличаются от всех известных, что обусловлено, главным образом, географической обособленностью озера, уникальностью его гидрофизических и гидрохимических параметров, высокой эндемичностью сообществ обитателей озера Байкал.

Глава «Обсуждение результатов» не выделена отдельно, однако, следует отметить, что все результаты детально обсуждены с привлечением релевантных научных публикаций, среди которых публикации последних лет. Глава «Заключение» суммирует полученные результаты.

«Выводы», заключающие диссертационную работу, сформулированы четко и полностью соответствуют полученным результатам и поставленным задачам. Содержание автореферата полностью соответствует содержанию диссертационной работы.

Диссертационная работа Сергея Анатольевича Потапова в целом оставляет хорошее впечатление, огромный по объему материал изложен четко и последовательно, хорошо иллюстрирован. Автору удалось избежать излишнего «научообразия», специальные термины использованы адекватно. В рукописи сравнительно немного опечаток, однако, не могу не отметить формулировку цели работы, в которой использовано несуществующее в русском языке отглагольное существительное «установление». Совершенно непонятно, почему диссертант использовал это слово. Еще одно замечание: по правилам, принятым в российской научной литературе, недопустимо ссылаться на неопубликованные данные, - такие ссылки встречаются в рукописи неоднократно, в частности, на стр. 81 и 87.

К содержанию работы замечаний нет, представленные исследования выполнены на высоком профессиональном уровне и, несомненно, внесут

большой вклад в понимание функционирования биоты озёр в целом, а не только озера Байкал. Нужно отметить, что эта линия проходит через всю рукопись диссертации, Сергей Анатольевич анализирует полученные данные в свете опубликованных работ.

Заключение: диссертация Потапова С.А. на тему «Вирусные сообщества в оз. Байкал» является завершённой научно-квалификационной работой, в которой, на основании выполненных автором исследований, решена научная задача определения генетического разнообразия и структуры вирусных сообществ планктона, нейстона и перифитона оз. Байкал, а также количественных показателей и динамики развития планктонных вирусов в пелагиали с учетом абиотических и биотических факторов среды, имеющая существенное значение для экологии.

Диссертация полностью соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание учёной степени кандидата биологических наук, согласно пункту 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 г. (с изменениями от 21.04.2016 №335), а её автор, Потапов Сергей Анатольевич, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.08 – Экология.

Рябчикова Елена Ивановна,

профессор, доктор биологических наук,
заведующая группой микроскопических исследований Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук

Адрес: 630090, г. Новосибирск, пр. Ак. Лаврентьева, 8

Для телеграмм: Новосибирск 90, ИХБФМ

Телефон: (383) 363-51-50 Факс: (383) 363-51-53

E-mail: lenryab@niboch.nsc.ru

Сайт группы: <http://www.niboch.nsc.ru/doku.php/ru/structure/labs/microscop>

Согласна на включение в аттестационное дело и дальнейшую обработку моих персональных данных.

Подпись Рябчиковой Е.И. заверяю
Ученый секретарь ИХБФМ СО РАН
К.х.н.



 П.Е. Пестряков