

ОТЗЫВ

официального оппонента – доктора медицинских наук, профессора Немцевой Наталии Вячеславовны на диссертационную работу Шиловой Анны Владимировны «Филогенетическое разнообразие и гидrolитический потенциал бактериального сообщества содового шламоохранилища», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.03 – Микробиология

Актуальность темы диссертации. Последствием современной промышленной революции является формирование техногенных территорий, существенно отличающихся по ряду экологических параметров от большинства наземных экосистем, и оказывающих негативное воздействие на окружающую среду. Научный интерес к данным местообитаниям определяется несколькими аспектами. Во-первых, изучение биологического разнообразия микробных сообществ, играющих ключевую роль в продуктивности и биогеохимии экосистем с экстремальными условиями жизни, представляет интерес для фундаментальной микробиологии. Во-вторых, как известно, в подобных местообитаниях поддерживается рост экологически и экономически важных микроорганизмов, представляющих практический интерес для биотехнологии.

Микробное разнообразие экстремальных сред исследуется разными научными группами на протяжении длительного времени. Однако микробное разнообразие щелочных высокоминерализованных биотопов антропогенного происхождения, в частности, содовых шламоохранилищ, а также динамика микробиома в процессе восстановления этих территорий и биотехнологический потенциал бактериального сообщества щелочных сред бедных углеродным субстратом изучены недостаточно.

Все это определило актуальность диссертационного исследования Шиловой Анны Владимировны, посвященного исследованию микробного разнообразия с оценкой биотехнологического потенциала бактериального сообщества техногенной среды, возникшей в результате производства соды, характеризующейся высокой степенью минерализации и щелочной реакцией.

Научная новизна работы. Оценивая новизну проведенного исследования, следует отметить следующие ключевые моменты.

- Впервые охарактеризовано филогенетическое разнообразие бактериального сообщества различных сред содового шламохранилища, что важно для понимания биологии и экологии техногенных экосистем.
- В процессе изучения сукцессии бактериального сообщества при восстановлении территорий старой карты шламохранилища выявлены биомаркеры восстановления природной среды после антропогенной нагрузки данного типа.
- Автором модифицирована методика выделения гидролитических алкалолотолерантных и алкалофильных бактерий из высокощелочной среды антропогенного происхождения, что позволило получить обширный материал для скрининга гидролитических активностей среди галоалкалолотолерантных бактерий.
- Исследован биотехнологический потенциал выделенных и идентифицированных бактериальных изолятов, устойчивых к щелочной среде и высокому содержанию солей, обладающих различными гидролитическими активностями, что открывает перспективы для практической реализации в плане биотехнологического применения.
- Изучена морфология и определены морфометрические характеристики, уровень метаболической активности и внутриклеточный pH факультативного алкалофила *Bacillus aequororis* в условиях различных pH и концентраций хлорида натрия, важные для оценки особенности адаптивных реакций микроорганизмов в экстремальных условиях высокоминерализованной и щелочной среды.

В связи с этим, диссертационное исследование Шиловой А.В., направленное на характеристику филогенетического разнообразия микробиома содового шламохранилища (г. Березники, Пермский край) и оценку биотехнологического потенциала выделенных экстремофильных и/или экстремотолерантных представителей домена *Bacteria*, следует рассматривать, как, безус-

ловно, современное, новое и важное с фундаментальных и прикладных позиций.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций. Диссертационная работа Шиловой А. В. представляет собой завершённое научное исследование с грамотно расставленными акцентами, четко поставленной целью и задачами. Достоверность полученных результатов подтверждена их верификацией с использованием большого разнообразия современных методов микробиологии, биохимии и молекулярной биологии, характеризующихся высокой специфичностью и воспроизводимостью, выполненных на современном оборудовании.

В итоге, на основании анализа достаточного по объему фактического материала диссертант пришла к выводам, которые логично вытекают из содержания работы и полностью соответствуют цели исследования и поставленным задачам.

Обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных и изложенных в диссертации, является результатом кропотливой работой автора и не вызывает сомнения. Импонирует сбалансированное сочетание в работе современных молекулярно-генетических подходов с методами классической бактериологии, что в совокупности позволило получить богатый материал, демонстрирующий адаптивный потенциал микрофлоры в экстремальных условиях высокоминерализованной и щелочной среды, а также изолировать биотехнологически значимые микроорганизмы.

Экспериментальный материал изложен последовательно, подтвержден иллюстрациями. Результаты экспериментов статистически достоверны.

Выносимые на защиту положения диссертации достаточно подробно обсуждены в публикациях, размещенных в журналах, рекомендованных ВАК, а также на научных международных и российских конференциях.

Таким образом, достоверность полученных результатов исследования, степень обоснованности положений и заключения, сформулированных в диссертации, не вызывают сомнения.

Практическая значимость работы. В качестве фундаментального аспекта работы следует рассматривать представленные Шиловой А.В. данные о филогенетическом разнообразии домена *Bacteria* в щелочных высокоминерализованных средах антропогенного происхождения (содовом шламохранилище), о его алкалофильных и алкалотолерантных представителях - продуцентах гидролитических ферментов. Полученные результаты метагеномных и бактериологических исследований расширяют знания о микробиологии экстремальных экологических ниш.

В плане реализации прикладного аспекта диссертантом изолированы штаммы устойчивых в щелочной среде бактерий, обладающих амилазной, липазной, протеазной, целлюлазной активностями, представляющие интерес в плане их возможного применения в биотехнологических процессах.

Оптимизирована среда культивирования наиболее перспективного штамма *Pseudomonaspeli* – продуцента липазы, активной в высоко щелочной среде. Последовательности 16S рРНК идентифицированных штаммов депонированы в базу данных GenBank.

Полученные автором материалы открывают широкие перспективы в плане дальнейшего изучения филогенетического разнообразия микробиома содового шламохранилища, а также отбора и селекции микробных изолятов с целью усиления их ферментативной активности для создания на их основе ценных биопрепаратов.

Содержание диссертации, ее завершенность. Диссертационная работа Шиловой А. В. построена по традиционному принципу и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, результатов исследования, обсуждения результатов, заключения и списка использованных источников. Список цитируемых источников включает 251 позицию, из них 214 на английском языке. Работа изложена на 169 страницах, с представлением результатов исследований в виде 18 рисунков и 14 таблиц.

Во введении обосновывается актуальность выбранной темы для исследовательской работы, четко представлены цель, задачи, грамотно сформули-

рованы положения, выносимые на защиту, представлена структура диссертации и отмечен личный вклад автора диссертационной работы. Обозначены научно-практическая значимость и новизна диссертационной работы.

В литературном обзоре достаточно подробно представлено современное состояние научной проблемы, которой посвящена диссертация.

В главе объекты и методы исследования изложенный материал позволяет получить представление об объектах и использованных подходах. Спектр использованных методик представлен сочетанием традиционных бактериологических методов и современных биохимических и молекулярно-генетических подходов. Полученные результаты подвергались адекватной статистической обработке.

Результаты представлены в 3-х главах. Значимым результатом является характеристика филогенетического разнообразия домена *Bacteria* в щелочных высокоминерализованных средах антропогенного происхождения, а также характеристика биотехнологического потенциала гидролитических бактерий, изолированных из данной антропогенной среды бедной питательными веществами. Автор предполагает перспективность использования штамма рода *Pseudomonas* в биотехнологических процессах.

В заключении автор резюмирует полученные результаты и обсуждает наиболее проблемные моменты их интерпретации. Труд завершается достаточно информативными выводами, соответствующими поставленным задачам и подкрепляющими основные положения диссертации.

Таким образом, рецензируемая диссертация обладает внутренним единством, содержит новые научные результаты, ценные для науки и практики.

Опубликованные результаты диссертации в научной печати. Материалы диссертации опубликованы в печати, всего 14 работ, в том числе 4 статьи в периодических научных изданиях, включенных в перечень ВАК Минобрнауки РФ, из которых 3 публикации в журналах, входящих в международные базы цитирования Scopus/или Web of Science.

Содержание автореферата. Содержание и оформление автореферата соответствует требованиям ВАК Минобрнауки РФ и в достаточной мере отражает основные положения диссертационной работы.

В ходе рецензирования диссертационной работы к соискателю появились следующие вопросы:

1. Вы изучили микробное разнообразие техногенного местообитания, возникшего в результате производства соды, однако существуют естественные содовые экосистемы. Каковы на Ваш взгляд основные различия в структуре микробных сообществ этих местообитаний?

2. Исследованные Вами пробы, характеризовались экстремальными значениями рН, которые способны оказывать существенное влияние на качество и количество собранной ДНК, и, как следствие, на конечный результат секвенирования. Какие использованы Вами подходы для исключения данного воздействия?

3. Для метагеномного секвенирования Вами использованы приборы от разных производителей, в частности MiSeq (Illumina) и PGM iontorrent (LifeTechnologies). Что побудило Вас к этому? Какие подходы Вы бы рекомендовали для изучения микробного разнообразия местообитаний с экстремальными условиями жизни?

4. Какова доля в исследованных Вами микробиомах неизвестных микроорганизмов, и какова вероятность того, что выявленные Вами индексы Шеннона, Пиелу и Симпсона отражают реальную картину разнообразия, выровненности и доминирования определенных таксонов в структуре сообщества?

5. Каковы на Ваш взгляд перспективы использования выделенных вами биотехнологически значимых штаммов микроорганизмов?

Заданные вопросы носят дискуссионный характер и не умаляют значимости диссертационного исследования.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационная работа Шиловой Анны Владимировны по объему и научно-методическому уровню выполненных исследований является законченной научно-квалификационной работой, отражающей новые фундаментальные знания, которые вносят существенный вклад в изучение микробного разнообразия экстремальных экосистем. По актуальности, научной новизне, теоретической и практической значимости, а также достоверности полученных результатов, диссертационная работа Шиловой А.Г. соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ № 842 от 24 сентября 2013 г. (ред. от 01.10. 2018 г.), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.03 – Микробиология.

19.11.2021 г.

Официальный оппонент:

Ведущий научный сотрудник, и.о. заведующего лабораторией водной микробиологии Института клеточного и внутриклеточного симбиоза Уральского отделения Российской академии наук Оренбургского федерального исследовательского центра Уральского отделения Российской академии наук (г. Оренбург), доктор медицинских наук, профессор, 03.02.03 – Микробиология

Наталья Вячеславовна Немцева

Адрес: 460000, г. Оренбург, ул. Пионерская, 11, телефон: +7(3532) 77-54-17
e-mail: nvnemtseva@gmail.com

Подпись сотрудника Немцовой Натальи Вячеславовны удостоверяю:
и.о. ученого секретаря ИКВС УрО РАН ОФИЦ УрО РАН
к.б.н.



Е.А. Щуплова