

Отзыв

официального оппонента – кандидата биологических наук Васильченко Алексея Сергеевича на диссертационную работу Шиловой Анны Владимировны «Филогенетическое разнообразие и гидролитический потенциал бактериального сообщества содового шламохранилища», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.03 – Микробиология

Актуальность темы диссертации

Изучение экстремофильных микроорганизмов интересно как с точки зрения фундаментальной науки, так и для решения различных практических задач. Экстремофилы рассматриваются в качестве источника экстремоферментов и продуктов метаболизма - экстремолитов, а также объектов для изучения механизмов адаптации к условиям, отклоняющимся от нормальных, и как моделей реликтовой микрофлоры. Экстремофильные микроорганизмы служат источником новых высокоактивных и устойчивых в широком диапазоне изменений условий ферментов, которые находят применение в промышленности. Поэтому актуальность научного исследования, посвященного изучению генетического и физиолого-биохимического разнообразия, а также гидролитического потенциала микробного сообщества содового шламохранилища, характеризующегося высокой минерализацией и высоким рН среды, не вызывает сомнений.

Новизна исследования, значимость для науки и практики полученных автором результатов

Научную новизну диссертации А.В. Шиловой определяет впервые проведенный анализ генетического и фенотипического разнообразия микробиома биотопа антропогенного происхождения – отвалы содопроизводящего предприятия, характеризующегося высокими значениями рН среды и высокой минерализацией. Полученные данные расширяют представление о микробном составе экстремальных экологических ниш и содержат новую информацию о филогенетическом разнообразии домена *Bacteria* в щелочных высокоминерализованных средах антропогенного происхождения. Изучены адаптивные возможности алкалофильного представителя рода *Bacillus* в сравнении с алкотолерантным штаммом *Bacillus subtilis* ATCC 6633.

Полученные данные существенно расширили представления о микробном составе экстремальных экологических ниш и содержат новую информацию о филогенетическом разнообразии домена *Bacteria* в щелочных высокоминерализованных средах антропогенного происхождения. Предложена новая модификация методики выделения алкотолерантных и алкалофильных бактерий, позволяющая получить большее разнообразие культивируемых

форм с интересующей ферментативной активностью. В ходе работы выделены и идентифицированы микроорганизмы-гидролитики, устойчивые к условиям сильнощелочной и высокоминерализованной среды. Оптимизированы параметры культивирования штамма *Pseudomonas peli* – продуцента липазы, активной в щелочной среде, что позволило добиться его большей липолитической активности при более эффективном потреблении субстрата.

Степень обоснованности и достоверности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Диссертация А.В. Шиловой является цельной, законченной работой. Основные положения диссертации, выносимые на защиту, и выводы, основываются на значительном объеме проведенных микробиологических, биофизических и молекулярно-генетических исследований.

Для анализа полученных данных автором были использованы адекватные методы статистического анализа, позволяющие сделать обоснованные заключения о результатах проведенных экспериментов. Материалы диссертационной работы нашли свое отражение в 14 научных работах, среди которых 4 статьи в периодических научных изданиях, включенных в перечень ВАК Минобрнауки РФ, из которых 3 публикации в журналах, входящих в международные базы цитирования Scopus и/или Web of Science.

Содержание диссертации, завершенность.

Диссертационная работа А.В. Шиловой построена по классической схеме – введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты и их обсуждение, заключение и список литературы, включающий 251 источник. Всего диссертация содержит 18 рисунков и 14 таблиц. Выводы в диссертационной работе сформулированы достаточно четко и соответствуют заявленной цели и задачам исследования.

Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации

Содержание, изложение и оформление материала диссертационной работы соответствуют всем установленным правилам. Достоинствами работы является обсуждение результатов исследования по ходу их подробного описания.

Представленная работа в настоящем виде может рассматриваться как законченное исследование, поскольку автору удалось, в соответствии с поставленной целью, охарактеризовать бактериальное сообщество щелочных высокоминерализованных сред антропогенного происхождения и оценить гидролитический потенциал его алкалофильных

и алкалотолерантных представителей. Автореферат достаточно полно передает содержание диссертации.

Работа А.В. Шиловой представляет собой законченное исследование, дающее представление о филогенетическом разнообразии домена *Bacteria* в щелочных высокоминерализованных средах антропогенного происхождения и биотехнологическом потенциале о его алкалофильных и алкалотолерантных представителях, обладающих гидролитическими активностями.

В ходе рецензирования диссертационной работы к соискателю появились следующие замечания и вопросы:

Вопросы:

1. Касательно предложенной методики выделения алкалофильных и алкалотолерантных штаммов-гидролитиков: что именно выступает селективным фактором в случае использования богатой и щелочной среды (рН11), учитывая, что субстрат (естественное местообитание) достаточно обеднен по нутриентам и «богатая» среда - это потенциально стресс-фактор ?

2. Ацидобактерии встречаются повсеместно, в том числе и в условиях щелочных значений рН. Однако это все-таки ацидофильная группа микроорганизмов. Мог ли антропогенный характер происхождения этой территории способствовать распространению ацидобактерий в почвоподобных субстратах, характеризующихся щелочными значениями рН?

3. Как можно объяснить отсутствие семейства *Bacillaceae* в результатах анализа метагенома (Рисунок 9), если по результатам бактериологического посева идентифицировано множество представителей этих семейств (*Bacillus* spp. Таблица 4).

Замечания:

1. В методике отбора образцов нет данных по какой методике отбирались. Не понятно с какой глубины отбирались образцы, обозначенные как «поверхностные» (мы живем в трехмерном мире).

2. Нет единообразия в обозначении исследуемых образцов, фигурирующих на рисунках.

3. Хотелось бы больше логики в обозначении иллюстрируемых на рисунках данных. Например, на Рисунке 5 обозначения образцов, взятых на разных глубинах, не следуют логике (1– 5 см, 2 – 10 см, 3 – поверхность).

4. Не понятно, что автор имеет ввиду, употребляя термин «нейтрофил» применительно к *B. subtilis* ATCC 6633. Оценивая результаты, полученные в диссертации

при работе с этим микроорганизмом, этот штамм является скорее алкотолерантным, чем нейтрофильным.

Данные замечания не являются принципиальными, не уменьшают значимость полученных результатов и носят рекомендательный характер, а рецензируемая диссертационная работа Шиловой Анны Владимировны оставляет положительное впечатление и представляется перспективной для развития этого направления исследований.

Заключение

Диссертационная работа Шиловой Анны Владимировны, представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук, является научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований решена научная задача, имеющая важное значение для прикладной микробиологии, а именно изучено филогенетическое разнообразие алкотолерантных и алкалофильных бактерий содового шламохранилища, полезных для биотехнологии. Научно-квалификационная работа соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 года № 842, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.03 - Микробиология.

Официальный оппонент

Кандидат биологических наук,

заведующий лабораторией

антимикробной резистентности

Института экологической и

сельскохозяйственной биологии (Х-БИО)

ФГАОУ ВО «Тюменский государственный университет»

Васильченко Алексей Сергеевич

Подпись Васильченко Алексея Сергеевича заверяю

ученый секретарь ТюмГУ

«20» ноября 2021 г.

Адрес: 625003 Тюмень, ул. Володарского, 6

E-mail: a.s.vasilchenko@utmn.ru

Телефон: (3532) 77-54-17



Э.М. Лимонова