

УТВЕРЖДАЮ:

Директор Уфимского Института биологии –
обособленного структурного подразделения
Федерального государственного бюджетного
научного учреждения Уфимского
федерального исследовательского центра
Российской академии наук (УИБ УФИЦ РАН)

В.Б. Мартыненко

«28» октября 2021 г.



ОТЗЫВ

ведущей организации на диссертацию Шиловой Анны Владимировны
«Филогенетическое разнообразие и гидролитический потенциал
бактериального сообщества содового шламохранилища»,
представленную к защите на соискание учёной степени кандидата
биологических наук по специальности 03.02.03 Микробиология

Изучение биоразнообразия экстремофильных микробных сообществ, многие представители которых относятся к эволюционно древним ветвям бактерий и архей, а также механизмов биохимической адаптации микроорганизмов к экстремальным условиям окружающей среды вносит значительный вклад в развитие фундаментальной науки. Кроме того, выделенные из подобных экологических ниш микроорганизмы имеют большой биотехнологический потенциал и представляют интерес для промышленности. Синтезируемые им ферменты, как правило, обладают повышенной активностью и стабильностью в различных неблагоприятных условиях, в том числе при щелочном рН и засолении.

В настоящее время накоплено достаточно много информации о биоразнообразии прокариотов природных содовых озер. Однако микробиомы щелочных высокоминерализованных биотопов антропогенного происхождения, в частности, содовых шламохранилищ, сукцессия бактериального сообщества в процессе естественного восстановления этих

территорий и свойства микроорганизмов бедных углеродным субстратом щелочных сред изучены недостаточно. Все вышперечисленное и обуславливает **актуальность диссертационного исследования** Шиловой А.В., **целью** которого было охарактеризовать филогенетическое разнообразие микробиома содового шламоохранилища (г. Березники, Пермский край) и оценить биотехнологический потенциал выделенных экстремофильных и/или экстремотолерантных представителей домена *Bacteria*.

Исследования выполнены при финансовой поддержке Государственного задания на тему «Изучение функционального и видового разнообразия микроорганизмов, полезных для эоценозов и практической деятельности человека» (№ АААА-А19-119112290008-4), гранта РФФИ № 19-34-90103 «Биоразнообразии прокариотов щелочных биотопов антропогенного происхождения» и проекта международных исследовательских групп на базе государственных образовательных учреждений или научных организаций Пермского края № С-26/507 «Получение препаратов для сельского хозяйства на основе клеток и ферментов микроорганизмов экстремальных экосистем».

Достоверность и обоснованность основных положений и выводов диссертации подтверждена статистической обработкой и воспроизводимостью результатов экспериментов, которые были представлены на научных форумах различного ранга, а также использованием комплекса взаимодополняющих классических и современных методов исследования (атомно-силовая микроскопия, молекулярно-генетический и метагеномный анализ).

Большинство экспериментальных результатов, полученных автором в ходе диссертационного исследования, отличаются **научной новизной**:

- впервые охарактеризовано филогенетическое разнообразие бактериального сообщества различных сред содового шламоохранилища, представленное филумами *Firmicutes*, *Proteobacteria*, *Bacteroidetes*,

Acidobacteria, Verrucomicrobia, Actinobacteria и *Candidatus Saccharibacteria*, среди которых доминируют *Firmicutes* и *Proteobacteria*;

- изучена сукцессия бактериального сообщества при восстановлении территорий старой карты шламохранилища и выявлены биомаркеры этого восстановления, такие как появление представителей рода *Cellulomonas* и увеличение доли ацидобактерий и актинобактерий;

- модифицирована методика выделения алкалотолерантных и алкалофильных бактерий из высокощелочной среды, предполагающая наличие только одного из лимитирующих факторов (селективного субстрата или высокого рН) с целью получения более обширного материала для скрининга гидролитических активностей;

- изучен биотехнологический потенциал выделенных и идентифицированных бактериальных изолятов, устойчивых к щелочной среде и высокому содержанию солей и обладающих различными гидролитическими активностями (липазной, протеазной, амилазной и целлюлазной).

- определены морфометрические особенности, уровень метаболической активности и внутриклеточный рН факультативного алкалофила *Bacillus aequororis* в широком диапазоне рН и концентрации хлорида натрия.

Значимость для науки и практики полученных результатов, выводов и рекомендаций диссертационного исследования Шиловой А.В. заключается в том, что данные, полученные в ходе его выполнения, расширяют знания о микробном составе экстремальных экологических ниш и содержат новую информацию о филогенетическом разнообразии домена *Bacteria* в щелочных высокоминерализованных средах антропогенного происхождения, о его алкалофильных и алкалотолерантных представителях, обладающих гидролитическими активностями. Выделенные чистые культуры алкалотолерантных и алкалофильных бактерий с амилазной, липазной, протеазной, целлюлазной активностями, которые могут служить продуцентами ферментов, используемых в различных отраслях

промышленности. Оптимизирована среда культивирования наиболее перспективного штамма *Pseudomonas peli* – продуцента липазы, активного в высокощелочной среде. Последовательности гена 16S рРНК идентифицированных штаммов депонированы в GenBank и доступны для других исследователей. Результаты работы используются при чтении курса лекций для студентов, обучающихся в магистратуре биологического факультета Пермского государственного национального исследовательского университета.

Диссертация построена по общепринятому плану и содержит введение, обзор литературы, описание объектов и методов исследования, экспериментальные главы согласно основным задачам исследования, заключение по полученным результатам, выводы диссертационного исследования, а также список использованной литературы и раздел с приложениями. Работа изложена на 169 страницах, содержит 14 таблиц и иллюстрирована 18 рисунками. Список литературы включает 251 наименований, из них 214 на английском языке.

По полученным данным опубликовано 14 научных 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 и/или Web of Science.

Выводы диссертационной работы логично следуют из поставленных задач и цели исследования. **Содержание автореферата соответствует основным положениям диссертации.**

Однако при всех отмеченных положительных моментах имеется ряд **замечаний и вопросов** к диссертационной работе:

1. Автору следовало бы внимательнее относиться к оформлению ссылок на литературные источники в тексте. Очень часто они перечисляются бессистемно, например, на стр. 5, 9, 34, 66. Кроме того, работы на русском языке принято упоминать в первую очередь (стр. 6, 7, 16, 33). Часто автор забывает поставить знаки препинания между фамилией автора и годом

публикации (стр.16, 17). Одна и та же ссылка может упоминаться как «Margesin et al., 2001» и «Margesin, Schinner, 2001» (стр. 33, 35). Ссылка на источник № 209 должна выглядеть как «Singh, Cameotra, 2004», а не «Singh et al., 2004» (стр. 35).

Имеются замечания и к оформлению списка используемой литературы. Например, ссылки №№ 141 и 142 совпадают, а ссылка на «Yin et al., 2001» (стр. 33) вообще отсутствует. В списке присутствуют как полные, так и сокращенные названия журналов. Диссертант использует две разные публикации, давая на них одну ссылку. Так, в тексте имеется только одна ссылка на «Oren, 2002», в то время как в списке литературы есть ссылка № 161 (2002 г.), где единственным автором является Oren A. и ссылка № 163 на коллективную статью (2002 г.), в которой первым автором является вышеупомянутый ученый и которую надо обозначать как «Oren et al., 2002». К тому же, в ссылке № 163 указано ошибочное название статьи «Microbial life at high salt concentrations: phylogenetic and metabolic diversity» вместо «Intracellular ion and organic solute concentrations of the extremely halophilic bacterium *Salinibacter ruber*». Иногда диссертант не перечисляет всех авторов статьи или хотя бы первых трех, а сразу же после первого пишет «et al.» (№№ 213, 217-219).

2. С чем может быть связано доминирование представителей семейства *Streptococcaceae* в пробах грунта старой карты с глубины 10 см, в частности, редко встречающегося рода *Lactovum*?

3. Как автор может объяснить отсутствие протеолитических микроорганизмов в пробе 2-2 на рисунке 5?

4. При оптимизации условий культивирования штамма *Pseudomonas peli* 3-Т внимание уделялось только подбору источников азота, углерода и их концентраций. Почему не варьировались другие параметры ферментации, такие как температура, pH, аэрация?

5. Почему штаммы, обладающие наиболее высокими гидролитическими активностями, не депонированы в ВКМ или ВКПМ?

6. В таблицах №№ 6-9 данные по активности ферментов в культуральной жидкости представлены как «Супернатант, ммоль/(л·сут) / биомасса, мг/мл» или «Супернатант, ммоль/(л·мин) / биомасса, мг/мл». Что это за биомасса и с чем связана необходимость указания ее значений, ведь данные сведения в тексте не обсуждаются?

7. Хотелось бы порекомендовать автору при упоминании конкретного штамма, не забывая указывать его штаммовое обозначение, например, *Paenisporsarcina quisquiliarum* 4-K, а не просто *Paenisporsarcina quisquiliarum*.

Вышеупомянутые вопросы и замечания, в целом, не влияют на общую положительную оценку диссертационной работы, в которой получены значимые для науки и практики результаты.

Заключение

Диссертационная работа Шиловой А.В. «Филогенетическое разнообразие и гидролитический потенциал бактериального сообщества содового шламохранилища», представленная к защите на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.03 Микробиология, является законченной научно-квалификационной работой, методический уровень которой соответствует поставленным задачам. В диссертации на основании проведенных автором исследований предложено обоснованное решение научно-практической проблемы, касающейся получения сведений о микробных сообществах экстремальных экологических ниш антропогенного происхождения и поиска среди них представителей продуцентов хозяйственно-ценных метаболитов. По актуальности избранной темы, научной новизне полученных результатов, практической значимости, объему выполненных исследований данная работа соответствует требованиям «Положения о порядке присуждения учёных степеней», утверждённого Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 (ред. от 01.10.2018), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор, Шилова Анна Владимировна,

заслуживает присуждения искомой степени по специальности 03.02.03 Микробиология.

Отзыв на диссертацию рассмотрен и одобрен на объединенном семинаре лаборатории прикладной микробиологии и лаборатории биотехнологий Уфимского Института биологии – обособленного структурного подразделения Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, протокол № 5 от 25.10.21 г.

Ведущий научный сотрудник лаборатории
биотехнологий УИБ УФИЦ РАН,
доктор биологических наук по специальности
03.01.06 Биотехнология (в том числе бионанотехнологии)
и 03.02.03 Микробиология
Коршунова Татьяна Юрьевна



Уфимский Институт биологии – обособленное структурное подразделение
Федерального государственного бюджетного научного учреждения
Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии
наук (УИБ УФИЦ РАН)

450054, г. Уфа, проспект Октября, 69, лит. Е.
Тел./факс: (347) 235-62-47; e-mail: ib@anrb.ru

Подпись Коршуновой Т.Ю. заверяю
Ученый секретарь УИБ УФИЦ РАН
к.б.н., доц. Уразгильдин Р.В.

