

## Отзыв

официального оппонента на диссертацию Януцевич Елены Алексеевны «Осмолиты и мембранные липиды в ответе микромицетов на стрессорные воздействия», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.03 - «Микробиология»

Диссертационная работа Елены Алексеевны Януцевич посвящена актуальной фундаментальной проблеме адаптации низших эукариот к стрессовым воздействиям. Особый интерес в этом отношении представляют микроскопические грибы, среди которых в последние годы выявлено немало экстремофилов. Несмотря на большой научный интерес к проблеме экстремофилии, который только растет в последние годы, механизмы адаптационного ответа у грибов на стрессорные воздействия остаются недостаточно исследованными, особенно, когда речь идет о комбинированном воздействии нескольких стрессовых факторов, что имеет место в природе. Исследование метаболической активности грибов, находящихся в экстремальных условиях существования, позволяет понять диапазон их адаптации и оценить возможности расселения в труднодоступных местообитаниях. Особое значение приобретает раскрытие механизмов защитного ответа грибов на стрессорные воздействия, в том числе связанные с изменением состава осмолитов и мембранных липидов. Исходя из сказанного, тема диссертационного исследования Е.А. Януцевич поставлена своевременно и, несомненно, является **актуальной**. Задачи исследований сформулированы четко и в полной мере соответствуют цели работы.

**Методологическая ценность** диссертации определяется тем, что для решения поставленных задач диссертантом использован комплексный научный подход, предусматривающий всестороннее исследование ответа грибов на стрессорные воздействия с позиции защиты мембран и



макромолекул клетки. Выбор объектов исследований вполне обоснован и позволяет сравнить особенности адаптивного ответа мезофильного микромицета *Aspergillus niger*, хорошо изученного в биохимическом отношении, а также нескольких термофильных и алкалофильных видов грибов.

**Научная новизна** работы обусловлена тем, что проведен всесторонний анализ стрессовых воздействий на мезофильный и экстремофильные грибы, выявлены общие закономерности и особенности ответа конкретных видов, связанные с изменениями содержания осмолитов и мембранных липидов у мицелиальных грибов. Диссертантом получены новые данные, характеризующие реакцию гриба *A.niger* на комбинированное воздействие теплового и осмотического шоков, которая нехарактерна для ответа на каждый из этих шоков в отдельности. Выявлены особенности реакций термофильных грибов на воздействие теплового шока, которые отличают их от мезофильных видов. Кроме того, получены интересные данные, характеризующие особенности адаптации к осмотическому стрессу у алкалофильного и термофильных микромицетов. Эти результаты расширяют представление об адаптационном потенциале мезофильных и экстремофильных грибов, а также различных механизмах их защитных реакций.

Помимо теоретического, работа имеет и **практическое значение**. Результаты могут быть использованы в биотехнологических целях – для получения биологически активных соединений, а также разработки лекарственных препаратов против грибных патогенов.

В работе реализован традиционный для отечественного естествознания подход к изложению и предоставлению материала, что и определяет структуру диссертации. Она состоит из следующих разделов: введение, обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты и обсуждение, заключение, список литературы, включающий



211 источников. Работа изложена на 106 страницах, содержит 40 рисунков и 5 таблиц.

Во **введении** обоснован выбор тематики исследования, показана ее актуальность, охарактеризована научная новизна и практическая значимость, обозначены цели и задачи исследования, представлена информация об апробации работы и публикациях по теме диссертации.

**Обзору литературы** посвящены две первые главы диссертации, что выглядит вполне логично. Автором охарактеризованы виды стрессовых воздействий и механизмы адаптации к ним, известные у грибов. В главе 2 достаточно подробно рассмотрены различные гипотезы термофилии, а также современные сведения об адаптации грибов к щелочным условиям. Обзор литературы хорошо структурирован, материал подобран с учетом задач диссертационного исследования. Автор анализирует работы последних лет, которые дают достаточно полное представление об изученности механизмов адаптации грибов к стрессовым воздействиям, молекулярно-генетических аспектах этой проблемы.

В третьей главе подробно охарактеризованы объекты и методы исследования, описаны условия экспериментов по влиянию стрессорных факторов на мезофильный гриб *A.niger*, термофильные виды родов *Rhizomucor* и *Myceliophthora*, а также алкалофильные микромицеты из рода *Sodiomyces*. Приведенные в работе описания методов исследования липидов, растворимых углеводов и полиолов дают достаточное представление о биохимических анализах, проведенных диссертантом на современном научном оборудовании.

В главе 4 рассмотрены варианты ответа мезофильного микромицета *A.niger* на различные стрессорные воздействия, включая холодовой, тепловой, окислительный и осмотический шоки, а также комбинированное стрессорное воздействие на гриб, включающее тепловой и осмотический шок в разных вариантах. Результаты проведенных диссертантом



экспериментов показали, что под действием холодого, окислительного и осмотического шоков происходит снижение общего количества углеводов и полиолов и увеличение содержания глицерина. При комбинированном действии на *A.niger* теплового и осмотического шоков наблюдалось доминирование ответа на тепловой шок, причем такое комплексное воздействие приводило к новой реакции, а именно – увеличению уровня маннита, что не свойственно при воздействии теплового и осмотического шоков по отдельности. В целом, полученные данные указывают на то, что осмолитическая система гриба активно участвует в адаптации к стрессовым воздействиям. Общей закономерностью адаптивного ответа на все изученные шоковые воздействия, явилось увеличение доли фосфатидных кислот в составе мембранных липидов.

В главе 5 рассмотрены особенности реакций термофильных грибов с температурным оптимумом в области 40-45° С на различные стрессорные воздействия. Диссертантом были определены температурные условия для постановки экспериментов по воздействию теплового и холодого шоков на 3 вида микромицетов. Были проанализированы изменения в составе основных углеводов под действием разных стрессовых воздействий. Проведенные эксперименты, результаты которых хорошо проиллюстрированы в работе графически, показали, что у всех исследованных термофильных грибов трегалоза была доминирующим углеводом на всех стадиях роста, её количество составляло до 95% от суммы сахаров. В результате действия теплового, холодого, окислительного и осмотического шоков её уровень снижался, хотя степень снижения в разных вариантах была различной.

Общие закономерности были выявлены и в отношении изменения количества фосфатидных кислот, которые доминировали в составе мембранных липидов у всех изученных термофильных грибов. При этом



реакция на осмотический стресс отличалась от адаптивного ответа на температурный и окислительный шок.

Главы 6 и 7 посвящены исследованию экстремофильных (алкалофильных) видов рода *Sodiomyces*, которые до последнего времени оставались недостаточно исследованными в биохимическом отношении. Диссертанту удалось проследить изменения в количественном содержании и составе углеводов и полиолов, а также мембранных липидов на различных стадиях развития гриба *Sodiomyces alkalinus*. Такой подход позволяет оценивать адаптационный потенциал гриба в определенные периоды его жизненного цикла. На примере алкалофильного гриба *Sodiomyces tronii* диссертантом экспериментально изучены изменения в содержании углеводов и полиолов, а также мембранных липидов в условиях действия различных стрессовых факторов.

Завершает работу глава 8, которая посвящена обсуждению полученных результатов. Автор выделяет общие закономерности адаптивного ответа изученных грибов на стрессорные воздействия, а также отмечает сходство и отличия ответов разных видов, выявленные в ходе проведенных экспериментов. Особенно хотелось бы отметить, что обсуждение выполнено на высоком профессиональном уровне, автором сопоставлены собственные результаты с данными последних лет, полученными другими исследователями. Проанализированы примеры адаптации грибов из различных таксономических групп, которые сравниваются с представителям мезофилов, термофилов и алкалофилов, изученными в данной работе. На основе проведенного сравнительного анализа сделаны обобщающие заключения, имеющие фундаментальное значение для понимания направлений адаптивной эволюции низших эукариот.

В общем заключении диссертант четко формулирует основные итоги проведенных исследований, выделяя три основных механизма



адаптации у мицелиальных грибов (действие осмолитной системы, изменения состава мембранных липидов и степени их насыщенности), показывая особенности их реализации для мезофильного микромицета *A.niger* и экстремофильных (термофильных и алкалофильных) грибов.

Полученные результаты позволили существенно расширить представление о специфике метаболизма мицелиальных грибов в условиях стрессовых воздействий. Сделанные выводы отличаются конкретностью и точно отражают полученные результаты. Совершенно очевидно, что проведенные эксперименты позволили получить новые данные, характеризующие адаптивный ответ на стрессорные воздействия у мезофильных и экстремофильных грибов.

Структура диссертации обеспечивает последовательное логичное рассмотрение тех вопросов, которые были обозначены в работе. Анализ содержания диссертации показывает, что работа Елены Александровны Януцевич опирается на большой объем фактического материала, в получении и анализе которого автор принял непосредственное участие.

По ходу прочтения работы возникли некоторые вопросы и замечания.

1. Выбор штаммов для исследования, на наш взгляд, заслуживает более подробного обоснования. Почему, например, не были включены в изучение психрофильные штаммы? Впрочем, использованных в работе термофильных и алкалофильных штаммов, а также сравниваемого с ними мезофильного гриба, оказалось вполне достаточно для решения поставленных задач.

2. Существует ли, по мнению диссертанта, связь полученных данных с биотехнологическим потенциалом изученных видов, о котором говорится в подразделе о практической значимости работы?

3. Чем можно объяснить, что для исследования комбинированного стрессорного воздействия на изученные микромицеты было выбрано



только сочетание теплового и осмотического шоков? Почему не рассматривались другие возможные варианты?

4. При исследовании алкалофильных штаммов для анализа компонентов цитозоля и мембранных липидов на разных этапах жизненного цикла был выбран один гриб (*Sodiomyces alcalinus*), а для изучения ответа на стрессорные воздействия – другой (*Sodiomyces tronii*). Чем это можно объяснить? Ведь казалось бы в данном случае все исследования целесообразно провести с одним видом, что, возможно, дало бы ответ на вопрос об адаптивном ответе гриба на стрессорные воздействия на разных этапах жизненного цикла?

5. На наш взгляд главы 6 и 7 можно было бы объединить, сделав единое обсуждение полученных результатов изучения алкалофильных грибов.

6. В работе имеются отдельные опечатки и неточности.

Указанные замечания не отражаются на достоверности полученных данных и сделанных выводов, положительной оценке диссертационной работы, не снижают ее научной ценности. Хотелось бы отметить высокий методический уровень работы, четкое представление результатов, их качественное обсуждение, существенную научную новизну полученных данных. Текст работы изложен ясным научным языком. Диссертант показал полное владение проблемой.

Автореферат отражает основное содержание диссертационной работы. Материалы диссертации достаточно полно отражены в публикациях и апробированы на российских и международных конференциях. Всего по материалам диссертационной работы опубликовано 27 научных работ, в том числе 6 статей в журналах, индексируемых в международных базах данных, из них 2 статьи в ведущих рецензируемых научных журналах из перечня ВАК.

Диссертационная работа Елены Алексеевны Януцевич «Осмолиты и мембранные липиды в ответе микромицетов на стрессорные



воздействия» является законченным исследованием в области микробиологии. По содержанию, актуальности, новизне, теоретической и практической значимости она полностью отвечает требованиям п. 9-14 постановления правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года № 842 «Положение о порядке присуждения ученых степеней», а ее автор, Януцевич Елена Алексеевна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.03 – микробиология.

Официальный оппонент  
доктор биологических наук,  
доцент по специальности «Микология»,  
профессор кафедры ботаники  
биологического факультета  
Федерального государственного бюджетного  
образовательного учреждения высшего образования  
«Санкт-Петербургский государственный университет»

Власов Дмитрий Юрьевич

13.03.2020г.

Контактные данные:

тел: 8-911-710-94-28 e-mail: [Dmitry.Vlasov@mail.ru](mailto:Dmitry.Vlasov@mail.ru)

Специальность, по которой официальным оппонентом защищена диссертация: 03.00.24 - «Микология»

Адрес места работы:

199034, Университетская набережная,

д. 7/9, Санкт-Петербург.

Тел.: (812) 3289644; e-mail: [Dmitry.Vlasov@mail.ru](mailto:Dmitry.Vlasov@mail.ru)

Подпись сотрудника организации Д.Ю. Власова  
удостоверяю:



ЗАМЕСТИТЕЛЬ НАЧАЛЬНИКА  
УПРАВЛЕНИЯ КАДРОВ СПбГУ  
Н. К. КОРЕЛЬСКАЯ