

УТВЕРЖДАЮ

Проректор

МГУ имени М.В.Ломоносова,

А.А.Федянин



ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

на диссертацию Януцевич Елены Алексеевны «Осмолиты и мембранные липиды в ответе микромицетов на стрессорные воздействия», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.03 – микробиология

Диссертация Е.А. Януцевич посвящена одной из наиболее актуальных тем современной микробиологии – изучению ответа микроорганизмов на стрессорные воздействия.

В качестве объектов исследований обоснованно были выбраны мезофильные и термофильные виды микромицетов. Приспособленность мицелиальных грибов к одиночному и комбинаторному воздействию факторов, встречающихся в их естественных местах обитания изучена крайне слабо. В виду интенсивного развития стрессологии микроорганизмов, в том числе и микромицетов, проведенные автором исследования представляются чрезвычайно востребованными.

В диссертационной работе Е.А. Януцевич было проведено исследование ответа грибов на стрессорные воздействия с позиции защиты мембран и макромолекул клетки, включающей изучение трех взаимосвязанных механизмов – изменения состава осмолитов, мембранных липидов и степени ненасыщенности мембранных фосфолипидов.

Диссертация 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.

Полученные автором результаты представляют значительный интерес, это новые и оригинальные данные, безусловно, вносящие понимание в адапционную

физиологии микроорганизмов. Так, в работе была выяснена роль трех механизмов адаптации – осмолитной системы, изменения состава мембранных липидов и их степени ненасыщенности на примере мицелиальных грибов. В результате проведенных исследований, были установлены закономерности изменения состава углеводов и полиолов цитозоля, а также состава мембранных липидов под воздействием различных видов шока у мезофильного гриба *Aspergillus niger* и у экстремофильных грибов: термофильных микромицетов *Rhizomucor miehei*, *R. tauricus* и *Myceliophthora thermophila* и алкалофильных грибов *Sodiomyces tronii* и *S. alkalinus*.

Было показано, что для адаптации микромицета *A. niger* к стрессорным воздействиям и для термофилии и алкалофилии важна осмолитная система клетки. Высокий уровень трегалозы на всех стадиях роста у трёх термофильных грибов и у алкалофилов доказывает необходимость трегалозной защиты для термофилии и алкалофилии. Однако, несмотря на высокое содержание трегалозы, для адаптации к осмотическому шоку всем изученным микромицетам необходимы полиолы.

Интересно, что у *A. niger* в ответ на холодовой шок возрастал уровень глицерина, что нехарактерно для экстремофилов. В ответ на комбинированный шок (тепловой + осмотический) у *A. niger* доминировал ответ на тепловой шок (рост уровня трегалозы), при этом наблюдалось ингибирование синтеза глицерина и появлялся новый эффект – рост уровня маннита. Осмолитная система не участвовала только в адаптации к окислительному шоку у всех изученных микромицетов.

Изучение изменения состава мембранных липидов под воздействием стрессоров показало, что *A. niger* обладал демонстрировал универсальный ответ на тепловой, осмотический, окислительный и холодовой шоки – значительное повышение доли фосфатидных кислот в составе мембранных липидов. Высокое относительное содержание фосфатидных кислот было выявлено как для трёх термофилов, так и для двух алкалофилов при росте в оптимальных условиях, что показывает значение этого фосфолипида для алкало- и термофилии. В ответах экстремофилов на разнообразные стрессорные воздействия не было обнаружено общей закономерности. Так, в ответ на осмотический и холодовой шоки у алкалофила *S. tronii* состав мембранных липидов изменялся незначительно, а при тепловом шоке снижалась доля фосфатидных кислот. Для термофила *R. miehei* были характерны существенные колебания в составе мембранных липидов при всех изученных стрессорных воздействиях. У трёх термофильных грибов, подвергнутых действию теплового шока была установлена одинаковая закономерность в изменении мембранных липидов: увеличение долей

фосфатидных кислот и стеринов, и уменьшение долей фосфатидилэтаноламинов и фосфатидилхолинов.

Изучение повышения степени ненасыщенности мембранных липидов показало, что этот механизм участвовал в адаптации к холодовому шоку у всех изученных микромицетов. В условиях теплового шока ожидаемого снижения степени ненасыщенности фосфолипидов не было обнаружено ни у одного из грибов. Для осмотического шока было характерно повышение этого показателя только для *A. niger*, тогда как у экстремофилов он не изменялся.

Сравнение механизмов адаптации у экстремофилов и *A. niger* показало, что экстремофильные грибы, имея мощную трегалозную защиту, в меньшей степени используют механизмы изменения состава мембранных липидов и их жирных кислот.

Полученные автором данные о высоком уровне трегалозы и доли ФК у трёх термофильных грибов свидетельствуют в пользу гипотезы о том, что в процессе эволюции термофильные грибы приобрели способность использовать для жизни при повышенной температуре механизмы адаптации к тепловому шоку, имеющиеся у мезофильных грибов. Представляется, что данная работа развивает в определенной степени эту гипотезу. Однако было установлено, что, в отличие от мезофилов, у термофилов не возникало приобретенной термоустойчивости после обработки тепловым шоком, что свидетельствует о разных адаптационных стратегиях, которые используются мицелиальными грибами разных экофизиологических групп.

Работа написана грамотным научным языком, текст хорошо иллюстрирован. Методы, с помощью которых были получены результаты, современны и адекватны для решения поставленных задач. Полученные выводы соответствуют цели и задачам диссертации.

К незначительным замечаниям, которые ни коем образом не снижают общего впечатления от работы, следует отнести небольшое количество пунктуационных опечаток, а также ошибочное причисление глицерина к сахарам в самом начале раздела «Результаты и их обсуждение», однако, потом автор исправляется, разводя эти понятия. В работе также не прописаны методы определения биомассы грибов, однако известные для этого метода тривиальны, и возможно, не требуют акцентации внимания.

Работа полностью соответствует требованиям ВАК, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук. Диссертация соответствует специальности 03.02.03 – микробиология, а ее автор – Елена алексеевна Януцевич, несомненно заслуживает присуждения искомой степени. Содержание автореферата полностью соответствует содержанию диссертации.

Отзыв обсужден и принят на заседании кафедры микробиологии биологического факультета МГУ 17 февраля 2020 г., протокол № 2.

Доцент каф. микробиологии,
К.б.н.

 /А.А. Осмоловский/

Зав. кафедрой микробиологии,
Д.б.н., член-корр. РАН

 /Е.А. Бонч-Осмоловская/

