

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д002.247.02 по защите диссертаций на соискание ученой степени доктора наук, на соискание ученой степени кандидата наук на базе Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук» по диссертации Бурганской Екатерины Игоревны «Аноксигенные нитчатые фототрофные бактерии в микробных сообществах минерализованных водных экосистем» на соискание ученой степени кандидата биологических наук.

Решение диссертационного совета от 26 ноября 2020 г. № 11 о присуждении Бурганской Екатерине Игоревне, гражданке Российской Федерации, ученой степени кандидата биологических наук

Диссертация Бурганской Е.И. «Аноксигенные нитчатые фототрофные бактерии в микробных сообществах минерализованных водных экосистем» по специальности – 03.02.03 – Микробиология принята к защите 14 сентября 2020 г. протокол № 10 диссертационным советом Д002.247.02 на базе Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук», 119071, Москва, Ленинский проспект, д.33, стр.2. Совет утвержден Министерством образования и науки Российской Федерации (Минобрнауки России) приказом № 205/нк от 16.03.2017 г.

Соискатель **Бурганская Екатерина Игоревна**, 1989 года рождения, гражданка РФ, в июне 2012 г. окончила ФГБОУ ВПО «Вятский государственный университет» с присвоением квалификации Инженер по специальности «Биотехнология». С 2012 по 2016 гг. проходила обучение в очной аспирантуре Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук». Диссертационную работу соискатель Бурганская Е.И. выполняла в лаборатории молекулярной диагностики (ЦКП «Биоинженерия») Института Биоинженерии и в лаборатории экологии и геохимической деятельности микроорганизмов Института микробиологии им. С.Н. Виноградского ФИЦ Биотехнологии РАН. В настоящий момент соискатель работает младшим научным сотрудником в лаборатории экологии и геохимической деятельности микроорганизмов Института микробиологии им. С.Н. Виноградского ФИЦ Биотехнологии РАН.

Научный руководитель – Горленко Владимир Михайлович, доктор биологических наук, главный научный сотрудник лаборатории экологии и геохимической деятельности микроорганизмов Института микробиологии им. С.Н. Виноградского Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр

«Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук» (ФИЦ Биотехнологии РАН).

Официальные оппоненты:

Щербакова Виктория Артуровна, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник, Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина, ФГБУН «Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических исследований Российской академии наук»;

Намсараев Зоригто Баирович, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник Федерального государственного бюджетного учреждения "Национальный исследовательский центр "Курчатовский институт" (НИЦ "Курчатовский институт"), дали положительные отзывы на диссертацию.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», Биологический факультет – в своем положительном заключении указала, что диссертационная работа полностью удовлетворяет требованиям ВАК, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, соответствует специальности 03.02.03 микробиология, а автор, Бурганская Е.И., заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.03 «Микробиология».

Выбор официальных оппонентов обусловлен тем, что они являются признанными специалистами в области микробиологии и биотехнологии.

Так, доктор биологических наук Щербакова Виктория Артуровна известна своими исследованиями в области физиологии и таксономии бактерий. Кандидат биологических наук Намсараев Зоригто Баирович известен своими работами в области исследования микробных сообществ и чистых культур бактерий Байкала и Антарктиды. Квалификация оппонентов подтверждается наличием большого числа публикаций в цитируемых российских и зарубежных журналах. Выбор ведущей организации связан с тем, что в учреждении проводятся исследования в области таксономии и филогении микроорганизмов, что также подтверждается наличием соответствующих публикаций. Высокая квалификация оппонентов и ведущей организации позволяет объективно оценить научную и практическую ценность диссертационной работы.

Основные результаты диссертационной работы изложены в 6 статьях в рецензируемых научных изданиях, которые удовлетворяют требованиям п.11 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. №842:

1. Burganskaya E.I., Bryantseva I.A., Gaisin V.A., Grouzdev D.S., Rysina M.S., Barkhutova D.D., Baslerov R.V., Gorlenko V.M., Kuznetsov B.B. Benthic phototrophic community from Kiran soda lake, south-eastern Siberia // *Extremophiles*. – 2018. – V. 22. – № 2. – P. 211-220.

2. Burganskaya E.I., Bryantseva I.A., Krutkina M.S., Grouzdev D.S., Gorlenko V.M. Bacterial communities of the microbial mats of Chokrak sulfide springs // Archives of Microbiology. – 2019. – V. 201. – №6. – P. 795-805.

3. Grouzdev D.S., Burganskaya E.I., Krutkina M.S., Sukhacheva M.V., Gorlenko V.M. Genome sequence of “Candidatus Viridilinea halotolerans” Chok-6, isolated from a saline sulfide-rich spring // Microbiol. Resour. Announc. – 2019. – V. 8. – № 4. – e01614-18.

4. Gaisin V.A., Burganskaya E.I., Grouzdev D.S., Ashikhmin A.A., Kostrikina N.A., Bryantseva I.A., Koziyeva V.V., Gorlenko V.M. ‘Candidatus Viridilinea mediisalina’, a novel phototrophic Chloroflexi bacterium from a Siberian soda lake // FEMS Microbiology Letters. – 2019. – V. 366. – № 5. – fnz043.

5. Горленко В.М., Бурганская Е.И., Брянцева И.А. Фототрофные сообщества высокоминерализованных мезотермальных сульфидных Берикейских источников (Дагестан) // Микробиология. – 2019. – Т. 88. – № 2. – С. 154-164.

6. Бурганская Е.И., Груздев Д.С., Круткина М.С., Горленко В.М. Бактериальные сообщества микробных матов супралиторали Белого моря и литорали отделившихся от моря озер // Микробиология. – 2019. – Т. 88. – № 5. – С. 568-582.

Материалы диссертации доложены и обсуждены на международных и российских конференциях: 5-м Всероссийском симпозиуме с международным участием «Автотрофные микроорганизмы» (Москва, Россия, 2015); 17th International Congress on Photosynthesis Research (Maastricht, The Netherlands, 2016); XI, XII молодежная школа-конференция с международным участием: «Актуальные аспекты современной микробиологии» (Москва, Россия, 2016, 2017); 13th International Conference on Salt Lake Research (Ulan-Ude, Russia, 2017).

В публикациях отражены результаты экспериментальной части в рамках диссертационной работы.

На диссертацию поступили следующие отзывы:

Отзыв официального оппонента доктора биологических наук Щербаковой Виктории Артуровны, (положительный). Отзыв содержит следующие замечания:

- ссылки в тексте на литературные источники должны быть даны в хронологическом порядке;
- в тексте по-разному обозначаются образцы, в которых анализировали состав АФБ, что значительно затрудняет прочтение работы;
- понятие «монокультура», используемое автором диссертации, вводит в заблуждение и производит впечатление жаргонного;
- депонированы ли последовательности генов, полученные в работе, в GenBank?
- название семейств, порядков и более высоких таксонов необходимо писать курсивом. *Candidatus* после первого упоминания следует писать сокращенно *Ca.*;
- подпись к нескольким рисункам «Физиологические особенности», имея в виду морфологию и состав пигментов в клетках, не правомочна: состав пигментов относится к биохимическим особенностям, а морфология клеток совсем не относится к физиологии;
- в подписях к рисункам и в тексте встречается фраза «выделение на селективных средах» или «выросшие на селективных средах». Имеются в виду две среды, прописи которых даны в «Материалах и методах»?
- невалидированным может быть только название вида, а не вид;
- очень скромно охарактеризованы геномы у новых видов кандидатного рода.

Отзыв официального оппонента кандидата биологических наук Намсараева Зоригто Баировича (положительный). Отзыв содержит следующие замечания:

1) В тексте для обозначения объектов исследования используются различные системы терминов такие как "фотосинтетические бактерии", "фототрофные бактерии" или "хлорофототрофные бактерии". Аналогичное разнообразие терминов используется для обозначения "минерализованных водных экосистем", "солонowodных мест обитания", "солонowodных местообитаний". Хотелось бы, чтобы диссертант использовал стандартные термины по всему тексту диссертации.

2) В названиях субъектов федерации слово республика пишется с заглавной, а не строчной буквы. Это замечание относится с названиям "республика Бурятия" и "республика Крым", указанных в тексте диссертации со строчной буквы.

3) Для расчетов концентрации бактериохлорофиллов *a* и *c*, особенно при их совместном присутствии в образце с хлорофиллом *a*, использование сокращенных формул не рекомендуется. В связи с этим использование в диссертации сокращенных формул Takahashi, Ichimura, 1968 для расчетов является не оптимальным.

4) Результаты, стр. 60. "бактерии достигали максимальной численности на глубине 2-3 мм от поверхности воды". Наверное, имеется в виду от поверхности микробного мата?

5) Результаты, подразделы 10.6.3. и 12.6.3 "Физиологические свойства" двух таксонов кандидатов. В тексте описываются условия, в которых не растут монокультуры. Например, "не росла в темноте ни в аэробных, ни в анаэробных условиях. Рост в аэробных условиях не наблюдался". Но в этих разделах не описывается в каких условиях наблюдался рост. По контексту можно догадаться, что рост монокультур, скорее всего происходил в анаэробных условиях на свету, но лучше было бы более четко сформулировать это в тексте подразделов. Также из текста диссертации не вполне ясно, каким образом оценивалось наличие роста монокультур.

6) Результаты, раздел 11.5. Диссертанту желательно более аккуратно делать выводы о географическом распространении таксонов микроорганизмов. Автор упоминает "виды, обнаруженные только в приполярных районах. Среди них пурпурные бактерии *Thiorhodococcus mannitoliphagus*, *Thiocapsa litoralis*, *Thiocapsa bogorovii*". При этом анализ BLAST гена 16S рРНК *Thiocapsa bogorovii* BBS показывает наличие у него близкородственных изолятов с уровнем сходства более 99%, выделенных с побережья Северного моря в Германии, не относящегося к приполярным районам. При этом аналогичный анализ проведенный для *Thiorhodococcus mannitoliphagus* и *Thiocapsa litoralis*, выделенных ранее В.М. Горленко из Белого моря, показал, что представители этих групп на настоящий момент были обнаружены только в этом районе.

7) Результаты, стр. 117. Сравнение видов-кандидатов показал, что значения ANI и dDDH между ними составляют 81.3% и 27.6%. Согласно тексту диссертации, это "ниже критериев отнесения к отдельному виду". Здесь, наверное, имеется опечатка, так как по смыслу должно быть ниже критериев отнесения к одному виду.

8) Результаты, стр. 118, таблица 14. Что имеется в виду под термином "мертвая вода" в описании места обитания *Oscillochloris trichoides*?

9) В разделе Материалы и методы упоминается об измерении сульфида йодометрическим титрованием, но в тексте диссертации нет упоминаний об измерении сульфида в воде во время отбора проб для большинства исследуемых районов (кроме Берикейских источников Дагестана). Особенно интересными эти данные были бы для высокосульфидных Чокракских источников в Крыму, которые по литературным данным содержат (60-220 мг/л сульфида).

10) В тексте вывода 2 упоминается, что "АФБ адаптированы к комплексу условий в конкретных экосистемах: в содовом озере Киран в микробных матах преобладают алкалогалофильные виды, в солевых маршах и литорали озер Кандалакшского залива

Белого моря доминируют нейтрофильные АФБ". Хотелось бы узнать на основании каких методов был сделан этот вывод.

Отзыв ведущей организации Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», Биологический факультет:

1/ На стр. 11 написано «филум Gammaproteobacteria, класс Proteobacteria», а не наоборот. Это очевидная опечатка, в дальнейшем названия классов написаны, как правило, без ошибок, но не всегда единообразно, например, Gammaproteobacteria и γ -proteobacteria и т.п. Следует писать с большой буквы обе части фамилии известной исследовательницы G. Cohen-Bazire, а не только первую часть, как в диссертации (с.12). Встречаются и другие единичные опечатки (с.102) и несогласования (с.27), но их число крайне мало и они не мешают восприятию текста.

2/ Представляется, что раздел «Отношение микроорганизмов к соли» (с.2) более правильно озаглавить «к солености»;

3/ Из контекста неясно различие между используемыми на стр. 5 и 6 терминами «соленоводные» и «солонководные» (водоемы, бактерии), или они являются синонимами.

4/ Наряду с абсолютно правильным написанием и трактовкой термина «сульфурета» (с.103), в отдельных случаях он склоняется с ошибкой (с. 121).

5/ Вместо словосочетания «эра Архея» (с.38) можно посоветовать писать «Архейская эра», «Архейский эон» или просто «Архей», то же в отношении Протерозоя.

Конечно, эти очень незначительные замечания совершенно не снижают прекрасного впечатления от диссертации, которая, как необходимо повторить, выполнена на очень высоком профессиональном уровне.

На автореферат поступили положительные отзывы. Отзывы прислали:

1. Вайнштейн М.Б., д.б.н., проф., заместитель директора и заведующий лабораторией физиологии микроорганизмов, Институт биохимии и физиологии микроорганизмов имени Г.К. Скрыбина Российской академии наук (ИБФМ РАН) - обособленного подразделения в составе Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пушинский научный центр биологических исследований РАН».
2. Цыганков А.А., д.б.н., зав. лабораторией биотехнологии и физиологии фототрофных организмов, Институт фундаментальных проблем РАН – обособленное подразделение в составе Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пушинский научный центр биологических исследований РАН»
3. Земская Т.И., д.б.н., зав. лабораторией микробиологии углеводов ФГБУН Лимнологический институт СО РАН и Ломакина А.В., к.б.н., с.н.с. лаборатории микробиологии углеводов ФГБУН Лимнологический институт СО РАН
4. Козырева Л.П., ученый секретарь, к.б.н., с.н.с. лаборатории микробиологии ФГБУН Института общей и экспериментальной биологии СО РАН.
 - 1) Что представляли и чем отличались образцы табл. 1?
 - 2) Как проводили статистическую обработку данных?
 - 3) Заключение к п. 2.3 – не соответствует содержанию. Вероятно, данное замечание не возникло бы, если бы была дана более подробная характеристика образцов.

5. Кокрятская Н.М., к.г.-м.н., зав. лабораторией экоаналитических исследований ФГБУН ФИЦ комплексного изучения Арктики имени академика Н.П. Лаверова РАН
6. Rogozin D.Yu., д.б.н., доцент, в.н.с., Институт биофизики СО РАН – обособленное подразделение ФИЦ «Красноярский научный центр СО РАН»
 - а. В качестве небольшого недочета могу отметить, что ни в автореферате, ни в работе я не увидел описания методики определения пигментов с помощью ВЭЖХ, каким образом детектировались каротиноиды?
7. Степанов А.Л., д.б.н., д.б.н., зав. кафедрой биологии почв факультета почвоведения МГУ имени М.В. Ломоносова
8. Самылина О.С., к.б.н., ст.н.с., лаб. реликтовых микробных сообществ, Института микробиологии им. С.Н. Виноградского, ФИЦ Биотехнологии РАН.

А) Местами морфологическая идентификация цианобактерий вызывает вопросы. В частности крупные одноклеточные цианобактерии на рис. 3а, идентифицированные как *Gloeocapsa* sp., определённо относятся к другому роду, наиболее вероятно, *Chroococcus*, о чём говорит морфология слизистых капсул, размер микроколоний и взаимное расположение клеток внутри них. Микроорганизмы на рис. 3б, образующие плотные многоклеточные колонии, идентифицированы как *Synechocystis* sp. Однако представители рода *Synechocystis* – это, как правило, одиночные или двойные свободноживущие клетки. Отсутствие колоний является диагностическим признаком представителей этого рода. Согласно морфологии колоний цианобактерии на данной иллюстрации морфологически ближе к представителям рода *Aphanocapsa*, однако для более уверенного определения требуется анализ морфологии отдельных клеток в составе колоний.

Б) Не совсем понятно, почему при сопоставлении морфологических и филогенетических данных по составу фототрофных бактерий в матах солевых маршей и литорали беломорских озёр самые широко представленные флотипы цианобактерий (близкие к *Planktothricoides raciborskii* и *Coleofasciculus chthonoplastes*) не были выявлены при микроскопировании. Возможно, определённую роль здесь также сыграли огрехи в морфологической идентификации цианобактерий.

В) При описании физиологических свойств культуры ‘*Candidatus Viridilinea halotolerans*’ Chok-6 указаны оптимальные для роста значения рН 7.5-8.5 (слабощелочные), и таким образом, не вполне обоснованной выглядит её характеристика как алкалифильной. Возможно, стоит характеризовать её как умеренно (или слабо) алкалифильную.

Г) После описания выделенных культур АНФБ ‘*Candidatus Viridilinea mediisalina*’ и ‘*Candidatus Viridilinea halotolerans*’ Екатерина Игоревна делает заключение о том, что они являются анаэробами, которые не растут аэробно в лабораторных условиях, и таким образом, занимают экологическую нишу строго анаэробных сульфидофильных фототрофов в природных сообществах. Однако, нигде в автореферате не приводится объяснение (или предположение), как эти организмы приспособлены к существованию в сообществах с доминированием цианобактерий, осуществляющих кислородный фотосинтез. Это было бы важным дополнением к пониманию физиологии АНФБ и их роли в микробных сообществах минерализованных водных экосистем.

Вопросы задавали: д.б.н. Равин Н.В., д.б.н. Пименов Н.В., д.б.н. Летаров А.В., д.б.н. Плакунов В.К., д.б.н. Бонч-Осмоловская Е.А., д.б.н. дедыш С.Н., д.б.н. терешина В.М.

В дискуссии приняли участие: д.б.н. Саввичев А.С., д.б.н. Летаров А.В., д.б.н. Плакунов В.К., д.б.н. Пименов Н.В.

Диссертационный совет отмечает, что диссертация Бурганской Е.И., посвященная изучению аноксигенных нитчатых фототрофных бактерий, является завершенной научной работой. Впервые с применением комплексного подхода, включающего микробиологические и молекулярные методы, исследованы сообщества микробных матов содового озера Киран, солевых маршей и литоральных зон озер, имевших связь с Кандалакшским заливом Белого моря, а также сульфидных соленых холодных Чокракских источников и теплых источников Дагестана.

Установлено, что АНФБ являются типичным компонентом бентосных фототрофных сообществ соленоводных водоемов с признаками «сульфурета» и занимают экологическую нишу строго анаэробных сульфидофильных фототрофов, конкурируя с пурпурными и зелеными серобактериями. В содовом озере Киран в микробных матах преобладают алкалогалофильные виды, в солевых маршах и литорали озер Кандалакшского залива Белого моря доминируют нейтрофильные АФБ. Микробные маты холодных и мезотермальных соленых серных источников по видовому составу АФБ близки к фототрофным сообществам, существующим в морских или гиперсоленых лагунах.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, в работе было существенно расширено представление о филогенетическом разнообразии АНФБ и других фототрофных бактерий в солоноводных местообитаниях типа сульфурета различного происхождения. Исследование новых солоноводных местообитаний дало возможность Е.И. Бурганской выделить мезофильные АНФБ новых видов. Выполнено полногеномное секвенирование и дано описание двух новых мезофильных АНФБ: ‘*Candidatus Viridilinea mediisalina*’ и ‘*Candidatus Viridilinea halotolerans*’.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что фототрофные бактерии в сульфидсодержащих экосистемах являются главным барьером на пути распространения сероводорода в атмосферу. Исследование условий формирования и структуры микробных матов солоноводных и содовых местообитаний имеет практическое значение в бальнеологии, региональной экологии и возможном применении в очистных сооружениях искусственных микробных матов, функционирующих в высокоминерализованных и щелочных средах.

Оценка достоверности результатов исследования выявила, что полученные результаты являются воспроизводимыми и достоверными, а выводы и положения обоснованными. При выполнении диссертационной работы был использован комплекс микробиологических и биохимических методов; полученные экспериментальные данные были статистически обработаны.

По теме диссертационной работы опубликовано 6 статей в изданиях, удовлетворяющих требованиям п.13 "Положения о присуждении ученых степеней", утвержденного Правительством РФ от 24.09.2013 г. №842, и перечню рецензируемых журналов ВАК РФ. Результаты работы представлены в виде устных и стендовых докладов на 6 научных конференциях и конгрессах.

Автореферат полностью отражает основные научные результаты диссертации.

Личный вклад соискателя состоит в непосредственном участии в выполнении всех этапов работы, включая планирование и постановку экспериментов, анализ и статистическую обработку экспериментальных данных, апробацию основных положений работы на различных конференциях, подготовку публикаций по теме работы.

Диссертация Бурганской Е.И. «Аноксигенные нитчатые фототрофные бактерии в микробных сообществах минерализованных водных экосистем» представляет собой завершённую научно квалификационную работу, внесшую большой вклад в изучение видового разнообразия аноксигенных нитчатых фототрофных бактерий. Работа соответствует профилю Диссовета Д002.247.02 и требованиям ВАК, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук в соответствии с п.9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. №842.

На заседании 26 ноября 2020 г. Диссертационный совет принял решение присудить Бурганской Екатерине Игоревне ученую степень кандидата биологических наук по специальности 03.02.03 – Микробиология.

При проведении открытого голосования диссертационный совет в количестве 16 чел., из них 9 докторов наук по специальности рассматриваемой диссертации, участвовавших в заседании, из 21 человека, входящего в состав совета, проголосовали «за» присуждение ученой степени – 16, «против» - 0.

Председатель диссертационного совета Д002.247.02
ФИЦ Биотехнологии РАН,
Доктор биологических наук



Н.В. Пименов

Ученый секретарь
диссертационного совета Д002.247.02
ФИЦ Биотехнологии РАН,
Доктор биологических наук

Т.В. Хижняк

26 ноября 2020 г.