

ОТЗЫВ

**официального оппонента на диссертационную работу
Бурганской Екатерины Игоревны «Аноксигенные нитчатые
фототрофные бактерии в микробных сообществах минерализованных
водных экосистем», представленную на соискание ученой степени
кандидата биологических наук по специальности 03.02.03 –
Микробиология**

Представленная диссертация Бурганской Е.И. посвящена изучению аноксигенных нитчатых фототрофных бактерий минерализованных водных экосистем. Аноксигенные нитчатые фототрофные бактерии (АНФБ) филума *Chloroflexi* являются чрезвычайно важной в экологическом и эволюционном плане, но весьма трудной в культивировании группой. В течение длительного времени в данной группе были известны считанные культивируемые представители и даже в настоящее время их общее количество составляет порядка 16 изолятов, включая представителей видов-кандидатов и видов с утерянными типовыми штаммами. В связи с этим необходимо отметить важнейшую роль российских исследователей, в том числе В.М. Горленко, научного руководителя диссертанта, в изучении представителей этой группы, которыми было выделено в культуру и изучено 8 из 16 известных изолятов. Ранее наибольший объем исследований АНФБ приходился на представителей термофильных пресноводных представителей этой группы, тогда как мезофильные и солоноводные представители этой группы были изучены крайне слабо. Работа Бурганской Е.И. посвящена изучению мезофильных представителей АНФБ и в связи с этим представленную работу следует признать несомненно **актуальной**.

Целью исследования было изучение фенотипического и генетического разнообразия аноксигенных нитчатых фототрофных бактерий в микробных сообществах минерализованных водных экосистем разного типа с применением комплекса микробиологических и молекулярно-генетических

методов. Обращает на себя внимание разнообразие применяемых методов. В работе был использован анализ некультивируемого разнообразия с использованием методов высокопроизводительного секвенирования, культивирование аноксигенных фотосинтетических бактерий (АФБ), анализ с помощью флуоресцентной гибридизации *in situ* и просвечивающей электронной микроскопии, секвенирование и анализ геномов монокультур АНФБ.

Диссертационная работа Бурганской Е.И. изложена на 169 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, экспериментальной части, заключения и выводов. Диссертация содержит 41 рисунок, 15 таблиц, приложение с дополнительными таблицами и рисунками, список используемых сокращений. Список цитируемой литературы насчитывает 342 работы, из них 31 – на русском и 311 – на английском языках.

Литературный обзор посвящен общей характеристике АФБ, биоразнообразию АНФБ, морфологии и особенности строения клеток АНФБ, пигментному составу клеток, физиологическим особенностям АНФБ, использованию различных органических и неорганических соединений в качестве доноров электронов, распространению АНФБ в природе и возможному применению АНФБ на практике. Результаты экспериментальных исследований представлены в главах 10–13. Было описано морфологическое, культивируемое и некультивируемое разнообразие различных типов минерализованных экосистем, включающих в себя содовое озеро Киран в Бурятии, озера связанные с Кандалакшским заливом Белого моря, соленых источников побережья озера Чокрак в Крыму, высокоминерализованных гидротерм Дагестана. Несомненным достоинством работы является изучение двух некультивируемых видов-кандидатов представителей потенциального нового таксона родового уровня – ‘*Ca. Viridilinea mediisalina*’ Kir15-3F и ‘*Ca. Viridilinea halotolerans*’ Chok-6. В целом полученные диссертантом сведения весьма существенны для развития

представлений о разнообразии и физиологии АНФБ. Таким образом, работа характеризуется существенной **научной новизной**.

Представленная диссертационная работа имеет **практическое значение** для биотехнологии. Исследованные АНФБ могут иметь практическое значение в бальнеологии, региональной экологии и иметь возможное применение в очистных сооружениях. Полученные в работе результаты могут быть использованы для чтения курсов лекций по микробиологии в высших учебных заведениях, в справочных изданиях по микробиологии.

Следует отметить, что экспериментальные исследования выполнены на высоком научно-методическом уровне, с использованием современных и традиционных методов микробиологии, молекулярной биологии и биоинформатики. Статьи с описанием полученных результатов были опубликованы в журналах Микробиология, Extremophiles, Archives of Microbiology, Microbiology Resource Announcements, FEMS Microbiology Letters. Таким образом, полученные результаты **обоснованы и достоверны**.

Тем не менее, по работе есть **недостатки содержания и оформления** диссертации и автореферата, по которым есть 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", "солонководных мест обитания", "соленоводных 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.

Высказанные замечания не умаляют значимости полученных результатов, не меняют основные выводы, сформулированные в диссертации, не снижают общей высокой оценки работы. Представленные в работе данные хорошо аргументированы и убедительны. Выводы, полученные в результате проведенных исследований, соответствуют задачам, поставленным перед автором диссертации. Автореферат соискателя в полной степени отражает положения, выводы и рекомендации, содержащиеся в диссертации.

Таким образом, диссертационное исследование «Аноксигенные нитчатые фототрофные бактерии в микробных сообществах минерализованных водных экосистем» является законченным научно-исследовательским трудом, выполненным на высоком уровне, соответствует паспорту специальности 03.02.03 - Микробиология по биологическим наукам, соответствует требованиям ВАК, предъявляемым к кандидатским диссертациям,

соответствует п. 9-11 и 13-14 Положения о присуждении ученых степеней, утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. №842, а его автор, Бурганская Екатерина Игоревна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.03 – Микробиология.

Кандидат биологических наук

Намсараев Зоригто Баирович

по специальности 03.02.03 - микробиология,

ведущий научный сотрудник,

Курчатовский комплекс НБИКС-природоподобных технологий

Тел.: +7(499)196-72-75

E-mail: Namsaraev_ZB@nrcki.ru

НИЦ "Курчатовский институт"

123182, Москва, пл. Академика Курчатова, д.1

6 ноября 2020

Подпись Намсараева Зоригто Баировича заверяю:

Заместитель директора

НИЦ «Курчатовский институт»

по научной работе,



П.А. Форш