

## ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу

**Бурганской Екатерины Игоревны**

«АНОКСИГЕННЫЕ НИТЧАТЫЕ ФОТОТРОФНЫЕ БАКТЕРИИ В МИКРОБНЫХ СООБЩЕСТВАХ МИНЕРАЛИЗОВАННЫХ ВОДНЫХ ЭКОСИСТЕМ»,  
представленной на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.03 – микробиология.

Диссертация Екатерины Игоревны Бурганской посвящена исследованию аноксигенных фототрофных бактерий в микробных сообществах малоизученных экосистем – содового озера Киран, приполярных озер Кандалакшского залива Белого моря, холодных и мезотермальных серных источников Крыма и Дагестана.

**Актуальность** работы не вызывает сомнений и обусловлена большим интересом к микроорганизмам-обитателям природных экосистем, характеризующихся уникальными свойствами, а также их адаптации к условиям окружающей среды. Кроме того, внимание к микробным сообществам минерализованных водных систем неуклонно растёт со стороны как отечественных, так и зарубежных исследователей в связи с появлением новых молекулярно-экологических методов изучения некультивируемых организмов. Результаты этих исследований позволяют осуществлять филогенетическую реконструкцию сообществ, обитающих в различных физико-химических условиях и экологической обстановке. Кроме того, новые экстремофильные микроорганизмы из подобных экосистем являются источниками ферментов с уникальными свойствами. Аноксигенные фотосинтезирующие бактерии (АФБ) являются широко распространённой и метаболически разнообразной группой микроорганизмов, которые вносят значительный вклад в формирование энергетических потоков в биосфере. Интерес к исследованию аноксигенных нитчатых фототрофных бактерий (АНФБ) – обитателей необычных экосистем связан, в том числе, с их значением для экологии, в частности, для создания искусственных микробных матов для защиты окружающей среды от вредных выбросов.

Диссертационная работа построена по традиционному плану и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, результатов и их обсуждения, заключения, выводов и списка литературы. Работа изложена на 169 страницах машинописного текста, содержит 41 рисунок, 15 таблиц и 2 приложения. Список цитируемых литературных источников включает 342 наименований.

Во введении автором обоснована актуальность данной работы. Цель и задачи исследования, имеющие несомненное фундаментальное значение, четко определены. Достижение цели, которая заключалась в изучении фенотипического и генетического разнообразия АНФБ в микробных сообществах минерализованных водных экосистем

различного типа, осуществлялось путем решения конкретных задач на каждом этапе исследования.

Обзор литературы, представленный в диссертации, охватывает анализ современных сведений об АНФБ, как важной части группы АФБ для микробных сообществ в природных местах обитания. Подробно проанализированы биоразнообразие и распространение, морфологические особенности строения клеток, пигментный состав, физиология и метаболизм, а также возможности практического применения АНФБ. Однако, было бы логичным привести сведения о молекулярно-экологических методах, используемых для изучения распространения и разнообразия АФБ в природных экосистемах.

В экспериментальной части диссертации (Материалы и методы) описан большой арсенал использованных микробиологических, микроскопических, молекулярно-генетических и аналитических методов. Здесь в качестве замечания, следует отметить, что в этот раздел следовало бы перенести описание районов исследования, включая географическое расположение мест отбора проб, и таким образом разгрузить раздел Результаты, где привести только физико-химическую характеристику проб. Тем не менее, примененные автором методические подходы, полностью отвечают поставленным задачам, а их чрезвычайно широкий спектр делает результаты надежными и воспроизводимыми.

Раздел «Результаты и обсуждение» содержит большой массив данных по подробной характеристике АНФБ, обнаруженных в исследованных минерализованных озерах и источниках, полученных как методами классической микробиологии, так и с привлечением высокопроизводительного секвенирования.

При исследовании микробных матов содового озера Киран было выделено пять культур АНФБ, для всех получен спектральный анализ пигментов и определены последовательности генов 16S рРНК. Данные высокопроизводительного культивирования позволили определить основные группы АНФБ, развивающиеся в условиях щелочного озера. С привлечением литературных данных автору удалось проанализировать как менялся состав фототрофных бактерий в зависимости от физико-химических условий в разные периоды времени.

Исследование микробных матов солевых маршей и литорали озер, имевших связь с Кандалакшским заливом Белого моря привело к обнаружению от 1 до 18% фототрофных бактерий, среди которых почти во всех образцах были обнаружены специфичные для этих природных объектов АНФБ.

Микробные маты холодных соленых источников побережья озера Чокрак (Крымский полуостров) по данным высокопроизводительного секвенирования содержали от 7 до 64 % фототрофных бактерий, однако АНФБ были обнаружены лишь в двух образцах. В целом, были выделены пять культур АФБ, оказались представителями известных видов, за исключением АНФБ штамм Chok-6. Этот штамм был подробно изучен и описан в виде нового таксона АНФБ. Автором показано, что геномная последовательность новой бактерии содержит все необходимые гены для биосинтеза бактериохлорофиллов *a*, *d* и *c*, в том числе отсутствующие у *Oscillochloris trichoides acsF* и отсутствующие у представителей рода *Chloroflexus bchQ* и *bchR*. В геноме также присутствуют гены фиксации азота *nifHBDK*, но *nifEN* и *nifV* отсутствуют. Интересным оказалось, что подобный кластер генов присутствует у представителей родов *Roseiflexus* и *Oscillochloris*.

Исследование микробных матов теплых высокоминерализованных Берикейских источников в Дагестане привело к выделению зеленой серобактерии (штамм Dg19), пурпурных серобактерий (штаммы Dg9-1 и Dg9-2), и несерной пурпурной бактерии (штамм Dg9-4). Исследованные штаммы зеленых серных бактерий и преобладающие виды пурпурных серных бактерий оказались галотолерантными видами и приспособлены к жизни в гиперсоленых Берикейских источниках в мезотермальных условиях с нейтральным рН.

Таким образом, автор убедительно показала, что АНФБ являются типичным компонентом бентосных фототрофных сообществ минерализованных водоемов с признаками «сульфурета» и занимают экологическую нишу строго анаэробных сульфидофильных фототрофов, где конкурируют с пурпурными и зелеными серобактериями.

Данные высокопроизводительного секвенирования позволили обнаружить в Чокракских источниках двух АНФБ: одна бактерия находилась в кластере с экстремально галофильной нитчатой зеленой бактерией '*Ca. Chlorothrix halophila*', другая - выделенная из холодного источника с умеренной соленостью была идентифицирована как новый вид рода *Viridilinea* – '*Ca. Viridilinea halotolerans*'.

Проведенные исследования природных образцов и выделенных культур филума *Chloroflexi* расширили представления об экологии и биоразнообразии АНФБ в микробных матах и биопленках соленых водоемов разного типа.

Уникальный опыт и практические навыки, полученные в ходе выполнения настоящей работы, могут быть использованы в планировании и осуществлении будущих микробиологических исследований АНФБ в соленых и щелочных водоемах различной географической локализации.

Оценивая полученные Е.И. Бурганской результаты, следует отметить большой объем выполненной работы, что свидетельствует о ее трудолюбии и настойчивости. Большим успехом стало обнаружение новых АНФБ в исследованных водных системах, в том числе, описание в рамках филума *Chloroflexi* нового рода 'Viridilinea' и двух новых видов нитчатых бактерий: '*Candidatus Viridilinea mediisalina*' и '*Ca. V. halotolerans*'.

По теме диссертации опубликовано 6 статей в международных реферируемых журналах. Результаты, полученные в ходе выполнения работы, неоднократно представлялись на российских и международных конференциях.

Тем не менее, наряду с общим высоким качеством, работа не лишена некоторых недочетов и вызывает некоторые вопросы:

- 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 «выделенные 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.

Высказанные замечания не умаляют значимости полученных результатов, не меняют основные выводы, сформулированные в диссертации, и 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 отражает содержание диссертации.

Таким образом, можно заключить, что представленная диссертация, несомненно, является законченной научно-квалификационной работой, в которой решаются задачи, имеющие большое значение для развития представлений о распространении и биоразнообразии АНФБ. Высокий экспериментальный и теоретический уровень диссертационной работы, разнообразие используемых подходов, уникальность и новизна полученных результатов, позволяют с полным основанием заключить, что диссертация, посвященная оценке разнообразия и распространения аноксигенных нитчатых фототрофных бактерий в микробных сообществах природных минерализованных водных систем соответствует требованиям п. 9 Раздела II «Положения о порядке присуждения ученых степеней» (Постановление правительства Российской Федерации № 842 от 24 ноября 2013 года) и паспорту специальности 03.02.03, а ее автор – Екатерина Игоревна Бурганская, безусловно, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.03 – «микробиология».

Ведущий научный сотрудник  
Института биохимии и физиологии  
микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина,  
ФГБУН «Федеральный исследовательский центр  
«Пушкинский научный центр биологических  
исследований Российской академии наук»,  
доктор биологических наук



Щербакова В.А.

Адрес: 142290, г. Пущино, Московской обл.,  
Проспект Науки, 5  
Тел 8 916 567 50 19, e-mail: vshakola@gmail.com

10 ноября 2020 года



Министерство науки и высшего образования Российской Федерации  
Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина  
Российской академии наук - обособленное подразделение  
Федерального государственного бюджетного учреждения науки  
«Федеральный исследовательский центр  
«Пушкинский научный центр биологических исследований  
Российской академии наук»

Подпись    
Заведующий канцелярией 