

## ОТЗЫВ

на диссертационную работу Мамаевой Елены Васильевны «ИССЛЕДОВАНИЕ ПРИРОДНЫХ МИКРОБНЫХ СООБЩЕСТВ ДОННЫХ ОСАДКОВ ШЕЛЬФА КАРСКОГО МОРЯ, ЕНИСЕЙСКОГО ЗАЛИВА И ГЫДАНСКОЙ ГУБЫ», представленную к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.08 – экология.

### Актуальность темы

В настоящее время в нашей стране, в связи с экономическими перспективами освоения Арктики, развернуты широкомасштабные и разноплановые исследования в этом регионе, поддерживаемые рядом государственных программ. Работа Е.В. Мамаевой посвящена изучению разнообразия природных сообществ микроорганизмов донных осадков шельфа Карского моря, метаболический потенциал которых вносит существенный вклад в равновесие биогеохимических процессов данной экологической системы.

Особый интерес в этом плане представляют исследования молекулярно-генетической структуры природных сообществ микроорганизмов в этом арктическом регионе, которые, как свидетельствуют данные литературы, представленные автором в обзоре, практически не проводились, что и явилось целью исследования. Кроме того, в связи с освоением запасов углеводородов в арктической зоне, внимание автора сосредоточено на выявлении и изучении деструктивной способности полученных изолятов в отношении этих субстратов.

### Достоверность и научная новизна результатов

Объем исследований, включающий число обработанных проб, взятых из районов шельфа Карского моря, Енисейского залива и Гыданской губы (8 станций) в ходе экспедиции, идентификацию большого количества микроорганизмов; анализ филогенетической структуры микробных сообществ и их биохимических свойств, более чем достаточны для объективного анализа результатов. Автором использованы современные методы исследования (экологические, микробиологические, молекулярно-генетические,

биохимические, химические и т.д.), современные методы статистики и обработки материала, что, в комплексе с представлением материалов на международных, российских симпозиумах и конференциях, а также количеством публикаций, а их у автора три в высокорейтинговых рецензируемых журналах, позволяет прийти к заключению о достоверности полученных результатов и обоснованности сделанных выводов. Следует отметить, что большая часть публикаций представлена за первым авторством.

Основные результаты исследований диссертанта являются новыми и оригинальными. Впервые дана подробная характеристика состава природных микробных сообществ донных осадков районов шельфа Карского моря, Енисейского залива и Гыданской губы с помощью высокопроизводительного массового параллельного секвенирования на платформе 454 Roche и секвенирования по Сенгеру фрагментов генов 16S рРНК. Установлены доминирующие представители бактерий и архей, определена деструктивная способность изолированных культивируемых штаммов в отношении углеводов.

### **Значимость результатов для науки и практики**

Теоретическая значимость полученных результатов состоит, прежде всего, в том, что полученные автором данные вносят определенный вклад в развитие микробиологии как науки, поскольку определены виды микроорганизмов, населяющих донные осадки шельфа Карского моря, Енисейского залива и Гыданской губы, экологии – т.к. данная работа дает представление о разнообразии микробных сообществ донных осадков, участвующих в круговороте веществ.

Полученные автором нуклеотидные и аминокислотные последовательности и массивы данных пиросеквенирования могут быть использованы для сравнительного анализа с последовательностями микроорганизмов из других холодноводных экосистем. Особую практическую значимость в работе имеют данные о деградирующих способностях изолятов в отношении углеводов, необходимые при создании препаратов для

биоремедиации среды в районах нефтяных месторождений в условиях Крайнего Севера.

### Оценка содержания диссертации

Рецензируемая работа написана в традиционной форме и состоит из введения, главы обзора литературы, главы с описанием объектов и методов, используемых автором в работе, главы с описанием собственных исследований, заключения, выводов, списка литературы, приложения. Работа изложена на 154 страницах, включая приложения, иллюстрирована 8 таблицами и 17 рисунками. Список литературы включает 300 источников, из которых 219 принадлежат зарубежным авторам.

В главе 1 на 22 страницах рукописного текста автор приводит литературные данные по экологической характеристике исследуемых районов и истории изучения микробных сообществ Карского моря различными методами.

Особое внимание уделено фактам, касающимся изучения состава и разнообразия микробных сообществ холодноводных морей. Кроме того, в обзоре проанализированы современные методы исследования водных микробных сообществ. В целом можно отметить, что обзор достаточно информативен и органично связан с собственными исследованиями автора. В качестве пожелания – можно было бы сделать краткое заключение по главе, позволяющее оценить степень актуальности настоящей работы.

Знакомство со второй главой «Объекты и методы исследования» свидетельствует о большом количестве материала, взятого автором в работу, и о высоком методическом уровне проведенных исследований. Автор владеет современными молекулярно-биологическими методами, грамотно интерпретирует и статистически обрабатывает полученные данные. В качестве объектов исследования выбраны сообщества микроорганизмов донных осадков шельфа Карского моря, Енисейского залива и Гыданской губы.

Работа проведена с использованием традиционных методов культивирования, а также современного подхода исследования разнообразия микроорганизмов водных экосистем с помощью пиросеквенирования

(секвенатор нового поколения системы GS FLX Roshe). Для изучения деградирующей способности исследуемых штаммов применялись методы хроматомасс-спектрометрии.

В качестве замечания – следовало подробно описать метод определения биохимической активности штаммов, т.к. просто ссылка дается в случае указания на общеизвестный метод или на методическое руководство, но не на статью. Поэтому неясно, в какой среде изучали ферментативную активность – жидкой или плотной.

В главе «Результаты и обсуждения» две подглавы (3.1. и 3.2) посвящены сравнительному исследованию микробных сообществ из местообитаний, различающихся по компонентному составу поровых вод и уровню минерализации. При этом применение разных методов исследования позволило довольно полно представить таксономическое разнообразие исследуемых микробных сообществ и показать, что структура нуклеотидных последовательностей гена 16S рРНК (около 1300 п.н.) имела высокий процент сходства (99-100 %), на основании данных литературы, с последовательностями бактерий из различных природных экосистем, как морских, так и пресноводных.

Из этого раздела следует еще один важный вывод о том, что таксономическое разнообразие суммарного микробного сообщества донных осадков шельфа Карского моря, Енисейского залива и Гыданской губы определялось изменением уровня минерализации поровых вод.

При выполнении этого раздела работы была предпринята попытка охарактеризовать биохимические свойства исследуемых изолятов (стр. 52). Для того, чтобы сравнивать показатели, необходимо, чтобы они имели значения. Как правило, ферментативную активность в микробиологических методах выражают в мм (диаметр видимого изменения субстрата под воздействием соответствующего фермента вокруг колонии на плотной среде). На основании данных только семи штаммов сложно судить о продукционно-деструкционных процессах в среде. На основании данных, представленных в таблице 3, речь

здесь, очевидно, речь идет не об активности фермента (стр. 52), а о наличии его у данного изолята.

Вторая часть собственных исследований автора посвящена изучению биodeградирующей способности микроорганизмов исследуемых морских сообществ в отношении углеводов.

Эффективность и значимость примененной методики не вызывает никаких сомнений, тем не менее, не совсем понятно, почему взяты именно такие концентрации соли в эксперимент. Возможно более оправдано использование концентраций солей, характерных для данного исследуемого региона (Карское море). Совпадают ли подобранные в эксперименте концентрации соли, оптимальные для нефтеразложения, с соленостью вод в исследуемых регионах? Почему были выбраны такие сочетания бактерий в смеси, это произвольный выбор? (стр. 100, табл. 7).

### **Завершенность работы и обоснованность выводов**

Представленное к рассмотрению диссертационное исследование можно считать завершенным, так как цель исследования достигнута через последовательное решение поставленных задач. Многоплановость охваченных аспектов проблемы, выносимые на защиту положения убедительно подтверждают обоснованность сделанных выводов.

### **Оформление диссертации**

Подробно автор демонстрирует источники и результаты поиска материалов, касающихся исследования микробных сообществ и их метаболических свойств, для выяснения актуальности собственной работы. Проведен поиск и анализ за несколько лет публикаций в ведущих научных изданиях относительно темы всех задач, которые были поставлены автором в работе.

По оформлению диссертации замечаний нет. Текст выверен тщательно, с интересом и легко читается. Соблюдены все правила по оформлению диссертационных работ, в том числе рисунки и табличный материал представлены в соответствии с требованиями. Убедительно представлен

иллюстративный материал. Применены самые современные методы исследования и статистической обработки материала. Поэтому работа оставляет самое благоприятное впечатление.

### Заключение

Значимость полученных результатов для науки и практики состоит, прежде всего, в том, что полученные автором результаты вносят определенный вклад в такие области науки как микробиология (раздел систематики), поскольку описан таксономический состав сообществ донных осадков одного из арктических районов; экология, т.к. исследованы микробные сообщества из разных мест обитания и описаны их биodeградирующие способности; биотехнология, где найдут применение обнаруженные, хранящиеся в банке данных нуклеотидные последовательности.

Диссертационная работа Е. В. Мамаевой представляет самостоятельное, законченное фундаментальное и прикладное исследование, отвечает современным требованиям, предъявляемым п. 9 Положения о присуждении ученых степеней, утвержденного постановлением Правительства РФ № 842 от 24 сентября 2013, а ее автор, безусловно, заслуживает присуждения ей ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.08 – экология.

### **Официальный оппонент:**

Профессор каф. биохимии, микробиологии  
и биотехнологии ШЕН ДВФУ,  
д.б.н., профессор

Бузолева Любовь Степановна

*Подпись Бузолевой Л.С.*  
*Заверено вер. спец. от [подпись]*  
*Саломея М.С.*



Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Дальневосточный федеральный университет»  
Адрес: Россия, 690950, г. Владивосток, ул. Суханова, 8.  
E-mail: buzoleva@mail.ru  
Телефон: +7 (423) 243-34-72