

ОТЗЫВ

Официального оппонента на диссертацию Эрдынеевой Елены Базыровны «Микробные сообщества щелочных озер пустыни Бадаин Жаран (Китай) и функциональная активность протеолитических бактерий», представленную к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.08 – «Экология»

Актуальность исследований. Содово-соленые озера могут быть удобной моделью для изучения микробной экологии галоалкалофильных бактерий и являются объектом многочисленных исследований. Интерес к изучению экстремальных мест обитания связан с выяснением роли микроорганизмов в функционировании исследованных экосистем, с открытием новых видов микроорганизмов, а также с возможностью использования выделенных ферментов и других метаболитов в биотехнологических производствах (Casamayor, 2013; Parmar et al., 2014; Kumar et al., 2015; Malekabadi et al., 2017; Sorokin et al., 2017; Karray et al., 2018; Kevbrin, 2019). В природных микробных сообществах гидролитические бактерии являются инициаторами процессов деструкции органического вещества. Известно, что в составе органического вещества основным компонентом является белок, разложение которого осуществляется пептидазами протеолитических бактерий. Процесс деструкции белка ферментами имеет важное биологическое значение, поскольку играет регулируемую роль в функционировании, как клетки, так и экосистемы в целом.

Диссертационная работа Эрдынеевой Елены Базыровны посвящена изучению разнообразия микробных сообществ в содово-соленых озерах пустыни Бадаин Жаран (Китай). В этой пустыне расположено более 100 малоизученных, труднодоступных содово-соленых озер, различающихся по минерализации, рН и химическому составу. До настоящего времени исследования по изучению разнообразия микробных сообществ в этих уникальных экосистемах проводились лишь эпизодически (Li et al., 2015; Banda et al., 2019). А оценка метаболического и биотехнологического потенциалов чистых культур алкалофильных и галофильных микроорганизмов, выделенных из данных экосистем, ранее не проводились. Таким образом, тема представленной работы, несомненно, является актуальной.

Диссертационная работа Эрдынеевой Е.Б. построена по традиционному плану и состоит из «Введения», в котором автор формулирует цель и задачи исследования, научную новизну, связь работы с научными программами, теоретической и практической значимостью полученных результатов, приводит основные защищаемые положения; «Обзора литературы»; «Описания объектов и методов исследования»; «Результатов

исследования и их обсуждения»; «Заключения и выводов». В диссертационной работе имеется «Приложение». Работа изложена на 139 страницах и иллюстрирована 22 рисунками и 15 таблицами. Список цитируемых литературных источников включает 238 наименований, из них 222 – на английском языке.

В обзоре литературы (Глава 1) представлены и обобщены сведения о типах содовых озер, об их формировании, в том числе и в пустыне Бадаин Жаран; представлены данные о функциональном разнообразии алкалофильных и галофильных микроорганизмов, рассмотрены механизмы их адаптации к высокой щелочности и солености, а также их применение в промышленности. Автор обсуждает классификацию протеолитических ферментов и их физиологические функции.

В Главе 2 посвященной объектам и методам исследования Эрдынеева Е.Б. использовала широкий спектр современных методов и подходов для решения поставленных задач. Автор описывает станции, координаты отбора проб, исследованные биотопы, физико-химические, гидрохимические, определения внеклеточной протеолитической активности, молекулярно-генетические методы исследования природных микробных сообществ и чистых культур, полученных из содово-соленых озер, а также методы элементного анализа CHN и изучения эколого-физиологических свойств чистых культур. Однако, объекты и методы исследования, представленные в работе, описаны достаточно кратко. Было бы уместнее подробно описать методы молекулярной биологии, учета численности, состав сред, использованный для изучения физиологических свойств чистых культур.

В Главе 3 представлены «Результаты и обсуждение», в которой Елена Базыровна описывает и обсуждает влияние экологических факторов на формирование микробных сообществ и их таксономический состав, полученный при исследовании 7 содово-соленых озер пустыни Бадаин Жаран. Диссертантом были изучены образцы донных осадков, микробных матов, корковой соли и водной толщи, полученные из исследованных озер пустыни Бадаин Жаран. Благодаря применению современного метода статистической обработки данных (методов PCA – анализ основных компонентов) все исследованные озера пустыни Бадаин Жаран были выделены в 4 группы по отношению к ионному составу и физическим параметрам (pH, T).

Таксономический состав проанализированных микробных сообществ по данным высокопроизводительного секвенирования представлен доменами *Bacteria* и *Archaea*. Количество операционных таксономических единиц (ОТЕ) варьировало от 79 до 149 на образец. Интересным оказалось разнообразие микроорганизмов в образце корковой соли, полученной из озера Ундерту, в котором доминировали нуклеотидные

последовательности филума *Euryarchaeota* домена *Archaea*. Показана связь между физико-химическими параметрами и составом проанализированных микробных сообществ. Автор отмечает, что положительную корреляцию на присутствие филумов *Firmicutes* и *Rhodothermaeota*, а также классов α - и δ -*Proteobacteria* оказывали концентрации ионов сульфата и натрия. Показано влияние ионов кальция, магния и карбоната+гидрокарбонатов на распространение α -*Proteobacteria*. Интересно отметить, что распространение архей филума *Euryarchaeota* зависит от концентраций ионов хлора и калия, наибольшее содержание которых зафиксировано в образце корковой соли озера Ундерту. Физические показатели (рН, Т) коррелируют с *Bacteroidetes* и *Cyanobacteria*.

Еленой Базыровой также исследованы элементный состав и внеклеточная протеолитическая активность в отобранных нативных образцах. Автором показано, что общее содержание углерода в исследованных природных образцах варьировало от 0,36% до 9,86%, водорода – от 0,01 до 1% и азота от 0,01 до 0,75%. Отмечено, что содержание валового белка в микробных матах, выше по сравнению с корковой солью и донными осадками. Во всех исследуемых образцах обнаружены субтилизин-подобная (GlpAALpNa) и аминокатазная активности (LpNa и FpNa).

Отдельно заслуживает внимание раздел, в котором диссертант исследует разнообразие культивируемых протеолитических бактерий. Приведены морфологические и эколого-физиологические характеристики чистых культур, выделенных из исследованных содово-соленых озер пустыни Бадаин Жаран. Всего в работе было получено 10 чистых культур протеолитических бактерий, идентификацию которых автор проводил по результатам филогенетического анализа. Показано, что все представленные бактерии были отнесены к классам *Bacilli* и γ -*Proteobacteria*. У всех штаммов изучена протеолитическая активность. Установлено, что наибольшая активность была отмечена для 3 штаммов, отнесенных к классу γ -*Proteobacteria*, для которых в дальнейшем были получены лабораторные препараты пептидаз и охарактеризованы их физико-химические свойства.

В целом, диссертационная работа Эрдынеева Е.Б. отличается широким спектром задействованных подходов и новизной полученных данных. Положительным моментом работы является то, что молекулярные методы анализа использованы не только для описания таксономического разнообразия микробных сообществ, но и для выявления их возможных экологических особенностей. Кроме молекулярных методов, в работе использованы и методы выделения чистых культур микроорганизмов. В свою очередь использование микробиологических методов открывает широкие возможности

практического использования полученных чистых культур микроорганизмов, что и подтвердил автор в диссертационной работе.

Представленная диссертационная работа является законченным научным исследованием. Выводы диссертационной работы соответствуют поставленным задачам исследования. Автореферат отражает содержание диссертации. Основные положения диссертационной работы представлены в 4 публикациях, рекомендованных ВАК РФ. Результаты диссертационного исследования докладывались автором на 3 научных российских и международных конференциях.

По представленной диссертационной работе принципиальных замечаний нет. Однако она не лишена некоторых недостатков и при ознакомлении с ней у меня возникли следующие вопросы:

1. Депонированы ли последовательности генов 16S рРНК чистых культур и массивы последовательностей в GenBank? В тексте диссертации и на филогенетических деревьях этих номеров нет.
2. Хотелось бы поподробнее узнать, как именно была учтена численность протеолитических бактерий в нативных образцах. В таблице 7 представлены единицы измерения численности этих бактерий в млн. кл/мл. Как можно интерпретировать эти данные?
3. Несмотря на наличие в диссертационной работе приложения, автор в тексте на него не ссылается.
4. В таблице 6 представлено только 11 станций (образцов), для которых исследовано содержание общего элементного состава, тогда как в таблице 2 станций 12. Проведено ли исследование содержания общего элементного состава на станции Vj-2в, отсутствующей в таблице 6? Тоже самое отмечено и в таблице 3, 8.
5. В таблице 7 представлена станция Vj-03В, отсутствующая в работе.
6. На филогенетическом дереве (рис. 18) два штамма *Halomonas* sp. 7В и 7Р гомологичны друг другу. Они также сходны по морфологическим, физиологическим характеристикам и по способности использовать субстраты. Чем отличаются данные штаммы?

Эти замечания, однако, не принципиальны и не умоляют исключительной значимости полученных результатов, правомерности основных защищаемых положений и выводов данной диссертационной работы.

Таким образом, диссертация Эрдынеевой Елены Базыровны «Микробные сообщества щелочных озер пустыни Бадаин Жаран (Китай) и функциональная активность протеолитических бактерий» представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук, является завершенной научно-классификационной работой. Работа соответствует требованиям ВАК п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 г., а ее автор Эрдынеева Е.В. заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.08 – Экология (биологические науки).

Официальный оппонент:

к.б.н., с.н.с. лаборатории микробиологии углеводов
Федерального государственного бюджетного
учреждения науки Лимнологического института
Сибирского отделения
Российской академии наук (ЛИН СО РАН)
E-mail: lomakina@lin.irk.ru
664033, г. Иркутск, ул. Улан-Баторская, 3; тел. (3952)425415

Ломакина Анна Владимировна

Подпись к.б.н. Ломакиной Анны Владимировны
заверяю Ученый секретарь ЛИН СО РАН, к.б.н.

Максимова Наталья Васильевна

7 февраля 2020 г.

