

## ОТЗЫВ

официального оппонента доктора биологических наук Марковой Ю. А.

на диссертацию МИХАЙЛОВА ИВАНА СЕРГЕЕВИЧА

### «АЛЬГО-БАКТЕРИАЛЬНЫЕ СООБЩЕСТВА ЭПИЛИМНИОНА ОЗЕРА БАЙКАЛ»,

представленную на соискание степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.08 – «Экология»

Наши знания о межвидовых взаимодействиях основаны преимущественно на сведениях из наземных мест обитания, а именно взаимодействий микроорганизмов с растениями или млекопитающими. Процессы и механизмы, обеспечивающие взаимодействие про- и эукариот в водной среде изучены значительно хуже. В то же время их понимание имеет первостепенное значение для расшифровки потоков питательных веществ и биогеохимических циклов водоема. В 1972, Bell и Mitchell предложили термин “фикосфера”, чтобы описать область, которая окружает клетки водорослей и представляет собой благоприятную среду для роста и развития микробных ассоциантов. Позже было выяснено, что сотни генов в геноме диатомовых водорослей имеют бактериальное происхождение. Между бактериями и диатомовыми водорослями выявлены специфические и неспецифические взаимодействия. Внеклеточные полимеры, продуцируемые водорослями, могут использоваться для привлечения определенных типов бактерий, а также служить источником углерода для них. Так называемый межвидовой сигналинг позволяет диатомеям привлекать полезные для них микроорганизмы в фикосферу. Такие бактерии могут защищать дитомей от патогенных для них микроорганизмов, продуцировать витамины B12, B1, B7 и синтезировать сидерофоры. Некоторые виды способны метаболизировать токсичные отходы диатомей.

В то же время, взаимодействия между водорослями и бактериями не всегда взаимовыгодны. Это способствует синтезу метаболитов с антимикробной активностью видами диатомей и других водорослей. Такие

метаболиты представляют собой богатейшую и к настоящему дню практически неисследованную базу новых средств перспективных для борьбы с бактериями – возбудителями заболеваний человека.

Работа Михайлова Ивана Сергеевича состоит из Введения, 6 глав, выводов, списка литературы и 4 приложений. Список литературы включает 249 работ, среди которых 186 на иностранных языках. Текст изложен на 156 страницах, содержит 4 таблицы и 41 рисунок.

Во **Введении** (С. 4-7) приведено обоснование актуальности исследования, сформулированы цель и задачи, показана новизна и практическая значимость, представлены основные положения, выносимые на защиту, приводятся сведения об апробации работы и публикациях, структуре диссертации.

Глава 1 **Обзор литературы** (С. 8 – 26), состоит из четырех разделов. В первом разделе - автор перечисляет основные факторы участвующие в регуляции развития альго-бактериальных сообществ и их особенности, характерные для озера Байкал. Раздел 1.2. посвящен характеристике фито- и бактериопланктона в эпилимнионе озера Байкал. Этот раздел описан на основании многолетних исследований, проводимых Лимнологическим институтом. Раздел 1.3. посвящен преимущественно молекулярно-генетическим методам исследования, в первую очередь методу пиросеквенирования. В разделе 1.4. описаны виды и механизмы взаимодействий диатомовых водорослей и гетеротрофных бактерий в водных экосистемах.

Глава 2 **Объекты и методы исследования»** (С. 27-39). Содержит описание точек отбора проб и методов, использованных при проведении исследований. Существенным достоинством данной работы является большое количество как классических, так и современных методов.

Результаты, полученные автором, содержатся в 3 - 6 главах.

**Глава 3 «Среда обитания альго-бактериальных сообществ эпилимниона озера Байкал»** (С. 40-58). В этой главе автор описывает физико-химические условия эпилимниона озера Байкал в период 2011 – 2013 гг: температуру, содержание биогенных элементов и кислорода, которые определяют развитие альго-бактериальных сообществ. Здесь же перечислены виды доминирующие в фитопланктоне озера. В этой главе проведен также анализ общей численности гетеротрофных бактерий и их пространственного распределения в экосистеме Байкала. Проведен анализ зависимости количественного и видового распределения бактерий от состава фитопланктона.

**Глава 4 «Структура и разнообразие сообществ бактерий и одноклеточных эукариот эпилимниона озера Байкал по данным анализа фрагментов 16S рРНК и 18S рРНК»** (С. 59-84). В этой главе описано биоразнообразие бактериальных сообществ и фитопланктона озера Байкал, на основании метода пиросеквенирования. Установлены мажорные и минорные виды составляющие бактериопланктон озера. Автор приходит к заключению, что представители филумов *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Verrucomicrobia* и *Proteobacteria* вносят наибольший вклад в бактериальные сообщества эпилимниона озера Байкал. При сравнении бактериальных сообществ из разных точек отбора проб выяснено, что за исключением четырех сообществ все они группируются вместе, в то время как сообщества одноклеточных эукариот образуют несколько групп. Это позволило автору сделать вывод о сходстве бактериальных сообществ вне зависимости от состава фитопланктона.

**Глава 5 «Численность и разнообразие бактерий, ассоциированных с микроводорослями из озера Байкал»** (С. 84-92). Данная глава посвящена непосредственно взаимодействию между микроводорослями и бактериями. Основываясь на методах эпифлуоресцентной микроскопии проведен анализ альго-бактериальных ассоциаций. Автор утверждает, что динамика фитопланктона коррелирует с численностью прикрепленных бактерий, тогда как такой корреляции со свободноживущими микробными клетками не

наблюдается. На основании этого Михайлов И. С. предполагает, что данный факт подтверждает существование специфических взаимодействий фитопланктона и ассоциированных бактерий. Бактерии, как установлено автором, располагаются непосредственно на поверхности клеток водорослей, в некоторых случаях формируя конгломераты. Здесь же представлен качественный состав бактерий на поверхности клеток диатомей, выращенных в виде моноклональной культуры. Установлено, что в культурах диатомей преимущественно встречаются представители филумов *Proteobacterium*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*.

**Глава 6 «Получение аксеничной культуры диатомей *Synedra acus subsp. radians* и ее миксотрофное культивирование» (С. 93-106).** В данной главе описан протокол получения аксеничной культуры диатомей вида *Synedra acus subsp. radians*, что необходимо для проведения цитологических и полногеномных исследований. На этой культуре изучено действие разных условий культивирования и показано, что при адаптации клеток диатомей происходят биохимические и ультраструктурные изменения.

Диссертация оканчивается 6 выводами.

**Замечания:**

Не выравнены координаты графиков 14 и 15.

На стр. 55 автор указывает что в северной котловине озера Байкал и в Малом Море доминирует вид диатомей *Aulacoseira baicalensis* который может быть причиной высокой численности органотрофных бактерий, при этом данное утверждение ничем не обосновано.

Для получения аксеничной культуры автор использует антибиотик ципрофлоксацин, спектр действия которого грамотрицательные бактерии в период покоя и деления и грамположительные в период деления. При этом устойчивыми к данному антибиотику считаются *Bacteroides* и *Pseudomonas*. Насколько достаточна обработка этим антибиотиком если как отмечает автор представители именно этих филумов преимущественно ассоциированы с диатомеями.

Выводы 2 и 3 являются продолжением вывода 1.

Тем не менее, сделанные замечания не отражаются на общем впечатлении о работе, которая является самостоятельно выполненным научным исследованием. Результаты, полученные соискателем, их анализ и интерпретация не вызывают сомнений. Выводы соответствуют содержанию работы и достаточно обоснованы.

Материалы диссертации опубликованы в 11 работах, из которых 3 из списка, утвержденного ВАК. Результаты исследования представлены на шести научных конференциях различного уровня. Автореферат соответствует содержанию диссертации.

**На основании изложенного можно заключить, что рассматриваемая работа по актуальности, новизне, достоверности полученных результатов, их практической и теоретической значимости соответствует квалификационным требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, и критериям, установленным «Положением о присуждении ученых степеней» (в редакции постановления Правительства РФ № 842 от 24.09.2013), а ее автор, Иван Сергеевич Михайлов, заслуживает присвоения степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.08 - экология.**

Заведующий лабораторией растительно-микробных взаимодействий  
Федерального государственного бюджетного учреждения науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук

Доктор биологических наук по специальности 03.02.03 – микробиология

Маркова Юлия Александровна

664033, Иркутск, ул. Черемшова, 132

Телефон: +7 (3952) 42-67-21; Факс: +7 (3952) 51-07-54

e-mail: juliam06@mail.ru



20.11.2015