

## ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу **Кашинской Елены Николаевны** «Разнообразие микробных сообществ желудочно-кишечного тракта рыб различных экологических групп озера Чаны», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.08 – экология

### **Актуальность темы исследования**

Давно известна важная роль микроорганизмов в круговороте элементов и значимость их в существовании различных животных, в том числе рыб. Однако мы очень далеки от понимания функций прокариот в сложнейшем окружающем мире. Искать истину – сложная задача, но именно этим занялась Е.Н. Кашинская. Выбранный ею аспект исследования – разнообразие микробных сообществ желудочно-кишечного тракта – без всяких сомнений очень интересен и актуален. Кишечная микробиота стала неотъемлемым и жизненно важным компонентом пищеварительного тракта многих беспозвоночных и позвоночных животных, оказывающим значительное воздействие на их биологию. Автор стоит на передовой детальных функциональных исследований микробиоты. Вступление написано очень хорошо, убедительно показана значимость работы.

### **Общая характеристика диссертационной работы**

**Структура и объем диссертации.** Диссертация изложена на 157 страницах, имеет традиционную структуру, состоит из введения, 6 глав, заключения и выводов. Работа содержит 18 рисунков, 15 таблиц и список литературы – 201 источник, включая 164 на английском языке.

**Введение.** Во введении автором диссертации достаточно умело показано место собственных исследований в мировой микробиологии (экологии микроорганизмов) и подчеркнута актуальность проблемы. Чётко сформулированы цель и задачи работы, что облегчает дальнейшее прочтение диссертации.

**Глава 1. Обзор литературы.** Автором произведен достаточно полный анализ имеющихся данных. В главе приведена подробная таблица данных о составе микробиоты желудочно-кишечного тракта пресноводных и морских видов рыб с указанием методов ее исследования. Описаны абиотические и биотические факторы, влияющие на структуру кишечной микробиоты рыб. Следовало бы более чётко разграничить данные о микробиоте слизистой и содержимого кишечника. Ведь с пищей в организм рыбы попадают и «случайные»

компоненты (споры грибов, и фрагменты гиф т. д.), которые могут влиять на процессы пищеварения. Значительное внимание уделено занимаемым нишам и функциональному значению отдельных таксономических групп микроорганизмов в кишечнике рыб. Обзор литературы уместно дополнен описанием биологии и экологии изученных видов рыб, а также характеристикой района исследований.

**Глава 2. Объекты и методы исследования.** Очень подробно описаны объекты и методы исследования. Удобна и понятна для восприятия таблица 3, из которой виден значительный объем собранных и обработанных данных. Однако название таблицы «Характеристика объектов исследования» не в полной мере отражает ее содержание. Особо следует отметить детальное описание современных методов, касающихся анализа ДНК выявленных бактерий. Это позволяет оценить результаты и понять, на какой основе сделаны те или иные выводы, высказаны предположения.

**Глава 3. Особенности питания рыб оз. Чаны.** На основе собственных исследований в главе приведены данные о спектре питания изученных видов рыб, определена степень сходства этих спектров у рыб разных экологических групп. Это очень важно, поскольку от спектра питания во многом зависит состав микробных сообществ кишечника рыб. На примере серебряного карася и окуня автором рассмотрены сезонные изменения спектра питания рыб. Было бы целесообразно рассмотреть питание рыб в проточных и стоячих водоемах.

**Глава 4. Сравнительный анализ методических подходов для выявления структуры микробных сообществ пищеварительного тракта (на примере серебряного карася и компонентов окружающей среды).**

Глава содержит очень интересные результаты. Как известно, традиционные методы исследования кишечной микробиоты рыб заключаются в культивировании бактерий на селективных средах. Однако с помощью этих методов более 70% кишечной микробиоты не удастся культивировать и идентифицировать. Для идентификации некультивируемых таксонов в настоящее время широко используются молекулярно-генетические методы, привлеченные Кашинской Е.Н. для решения поставленных в работе задач. В главе описаны результаты исследования микробиоты кишечника серебряного карася и некоторых компонентов окружающей среды, полученные разными методами. Автор убедительно показывает, что при выборе наиболее адекватного метода молекулярных исследований предпочтительнее использовать метагеномное секвенирование (по сравнению с

секвенированием по Сэнгеру и групп-специфичной ПЦР). Видна самостоятельность автора и, снова подчеркну, глубокое осмысление работы. Качество исследования не вызывает сомнения.

#### **Глава 5. Разнообразие микробиоты желудочно-кишечного тракта некоторых видов рыб разных экологических групп оз. Чаны.**

Следует еще раз отметить, что работа показывает высокий профессионализм исследователя. В главе представлены данные, свидетельствующие, что микробное сообщество в слизистой кишечника у всех исследованных видов рыб достоверно разнообразнее, чем в его содержимом. С привлечением современных статистических методов обработки данных автор убедительно доказывает, что полученные сведения о составе кишечных бактерий у рыб разных экологических групп оз. Чаны свидетельствуют о зависимости разнообразия микробиоты от времени года и типа питания рыб. Кроме того, приведены данные изменений кишечной микробиоты серебряного карася и окуня на разных этапах онтогенеза. Эти сведения хорошо согласуются с данными других авторов, полученными традиционными и молекулярно-генетическими методами на различных видах рыб.

В то же время было бы неплохо, если бы автор провёл анализ микробиоты хотя бы одного вида рыб в проточной и стоячей воде.

#### **Глава 6. Микробные сообщества, ассоциированные с компонентами окружающей среды и объектами питания рыб.**

Хорошо известно, что на формирование кишечного микробного сообщества макроорганизма влияют различные внешние факторы и, в частности, состав окружающей микробиоты. Для исследования формирования микробных сообществ в кишечнике рыб и степени их сходства с микроорганизмами водного биотопа Е.Н. Кашинская логично выбрала микробные сообщества воды, грунта и некоторых объектов питания рыб разных экологических групп. Автором установлены сезонные изменения разнообразия бактерий в некоторых компонентах окружающей рыб среды, в частности, в воде, грунте и тростнике. Для микробиоты, ассоциированной с объектами питания, выявлено меньшее разнообразие бактерий по сравнению с компонентами окружающей среды. Автор приходит к заключению, что в формировании кишечной микробиоты рыб разных экологических групп эстуарной части оз. М. Чаны наибольшую роль играют личинки ручейников и микробиота воды.

Однако следует обратить внимание на недостаточно полный анализ некоторых сборов. Никак нельзя делать выводы при исследовании единичных экземпляров компонентов пищи. Мной при исследовании микобиоты кишечника окуня были выявлены очень существенные различия между микобиотой разных особей окуня из одного озера.

В **Заключении** автор сжато и умело формулирует полученные результаты исследования, которые подтверждают и во многом дополняют сведения о мутуалистических взаимоотношениях между микроорганизмами и их хозяевами-гидробионтами.

Всё это очень четко и аргументировано изложено в **7 выводах**, которые соответствуют поставленной цели и доказывают выносимые на защиту положения.

Результаты работы представлены в 3 статьях, опубликованных в рецензируемых журналах из списка ВАК, еще 3 статьи опубликованы в зарубежных журналах, включенных в системы цитирования Web of Science и Scopus. Кроме того, результаты доложены на 7 научных конференциях различного уровня.

Текст автореферата соответствует содержанию диссертации, в нем отражены основные результаты работы, личный вклад автора, степень новизны и практическая значимость результатов.

#### *Достоинства и недостатки по содержанию и оформлению работы*

Выполненная Е.Н. Кашиной работа заслуживает признания. Она взялась за сложную проблему современной экологии и блестяще справилась с поставленной задачей.

Следует отметить удачное представление фактического материала в виде таблиц и очень наглядных рисунков, а также использование широкого арсенала современных методов статистической обработки данных.

Некоторые замечания, не умаляющие достоинства работы, указаны в тексте отзыва. Также представляется лишним включение в описание объектов щуки, т. к. результатов по ней нет.

**Научная новизна.** В работе использованы современные молекулярно-генетические методы, что позволило получить полные данные о разнообразии кишечной микробиоты 8 пресноводных видов рыб разных экологических групп, обитающих в самом крупном эвтрофном озере Западной Сибири – озере Чаны.

**Теоретическая и практическая значимость.** Работа позволяет более глубоко оценить вклад прокариот в жизненный цикл макроорганизмов и, возможно, открывает дорогу для будущих

