

ОТЗЫВ

Официального оппонента на диссертацию на соискание ученой степени кандидата биологических наук Белова Андрея Антоновича на тему: «Филогенетическая и физиологическая характеристика прокариотных сообществ некоторых аридных почв и осадочных пород» по специальности 03.02.03 – «Микробиология»

Изучение таксономического разнообразия прокариотных сообществ различных аридных экосистем и оценка пределов сохранения метаболической активности в стрессовых условиях являются приоритетными направлениями современных микробиологических исследований. Научная проблема, решению которой посвящено диссертационное исследование Белова А.А. - изучение и сравнительный анализ таксономической структуры прокариотных сообществ почв и осадочных пород аридных экосистем; физиологическая характеристика сообществ и штаммов - относится к актуальным направлениям современной микробиологии.

При выполнении работы автором использован широкий спектр традиционных и современных методов микробиологических исследований, включая культивирование микроорганизмов, люминесцентную микроскопию, флуоресцентную гибридизацию *in situ*, а также молекулярно-генетические и физиологические методы. Не вызывает сомнений высокий уровень исполнения исследования, свидетельствующий о необходимой для этого квалификации диссертанта. Все полученные результаты обработаны и подтверждены статистически.

В ходе исследования впервые проведен анализ широкого спектра прокариотных сообществ почв и осадочных пород малоизученных областей аридных экосистем. В работе впервые проведена

микробиологическая характеристика образцов, отобранных на севере Северного острова архипелага Новая Земля. В работе А.А. Белова впервые показано, что большинство представителей сообществ культивируемых бактерий, выделенных из аридных экосистем, проявляют полиэкстремотолерантность к широким диапазонам температур и pH среды, концентрациям различных водорастворимых солей, и присутствию различных клинических антибиотиков, а отдельные штаммы характеризуются множественной антибиотикорустойчивостью. Прокариотное сообщество мерзлой осадочной породы Северного острова архипелага Новая Земля, ранее не описанное в научной литературе, характеризуется высоким разнообразием: *in situ* доминируют представители филума *Proteobacteria*, субдоминантные позиции занимают представители филумов *Actinobacteria* и *Bacteroidetes*; *in vitro* преобладают представители филумов *Actinobacteria* и *Proteobacteria*. Сообщества культивируемых бактерий исследованных образцов почв и осадочных пород аридных экотопов характеризуются высоким биоразнообразием, сходной таксономической структурой с доминированием представителей филумов *Actinobacteria*, *Proteobacteria* и *Firmicutes* и невысокой долей метаболически активных *in situ* прокариот. Во всех исследованных сообществах обнаружены метаболически активные представители всех исследованных филумов и классов прокариот. Однако, структура метаболически активных *in situ* прокариотных комплексов различна: при преобладании представителей филумов *Proteobacteria*, *Actinobacteria* и *Firmicutes*, их доли в сообществах различаются в несколько раз между образцами. Среди архей, во всех исследованных образцах доминировали представители филума *Crenarchaeota*.

Диссертационная работа Белова А.А. имеет практическую значимость: в ходе исследования выделены полиэкстремотолерантные

штаммы аэробных гетеротрофных бактерий, способные сохранять метаболическую активность *in vitro* в широких диапазонах физико-химических условий, которые могут быть использованы в биотехнологических целях. Результаты исследования могут быть использованы также для прогнозирования последствий процессов опустынивания и смены микробных сообществ и их активности в почвах, подвергающихся аридизации и опустыниванию, а также в оттаивающих ввиду изменения климата вечномёрзлых почвах и породах.

Автором собрана уникальная коллекция чистых культур штаммов - полиэкстремофилов – представителей из разных аридных биотопов. Полученные в ходе исследования штаммы бактерий могут быть использованы в модельных экспериментах, направленных на изучение жизнеспособности и/или метаболической активности прокариот при совокупном воздействии стрессовых факторов. Кроме того, такие культуры имеют высокий биотехнологический потенциал, как обладатели уникальных ферментативных систем и продуценты БАВ.

Диссертационная работа А.А. Белова выполнена на высоком теоретическом и современном методическом уровне, хорошо оформлена, содержит большой и новый экспериментальный материал, статистически обработанный и достоверный. Диссертация написана по традиционному плану и включает все необходимые разделы – введение, обзор литературы, объекты и методы исследования, результаты и обсуждение, заключение и выводы. Работа изложена на 181 странице машинописного текста, содержит 28 рисунков и 5 таблиц. Список литературы включает 450 источников, из которых 26 на русском и 424 на иностранных языках.

В главе 1 – **Обзор литературы** дан детальный обзор сообществ микроорганизмов различных малоизученных аридных экосистем, вопросы биоразнообразия прокариот, существующих в аридных условиях, и их физиолого-биохимических механизмов экстремотолерантности. Автор

систематизирует данные разных исследователей по таксономическому разнообразию прокариот в холодных и жарких аридных экосистемах, экстремально засоленных биотопов и др. Обсуждены физико-химические параметры, влияющие на развитие прокариот при росте в различных экстремальных биотопах.

В главе 3 приведены детальные описания методологии, использующейся диссертантом при изучении материалов и объектов исследования, подробно описан весь перечень методик, используемых автором, имеется характеристика образцов и объектов исследования. Автор в работе использовал как классические микробиологические, методы флуоресцентной микроскопии, так и молекулярные методы (анализ нуклеотидных последовательностей участков). Для идентификации обилия и метаболической активности сообщества прокариот применялись методы высокопроизводительного секвенирования, мультисубстратного тестирования, исследовался ряд физиологических параметров. Соискателем для полноты анализа представленных результатов использовались различные методы статистического анализа данных.

Глава 4 - Результаты и обсуждение подразделена на ряд подглав, исходя из задач, поставленных соискателем. В подглавах 4.1 и 4.2 представлен анализ видового разнообразия бактерий разных аридных экотопов, анализ структуры метаболически активных *in situ* прокариотных сообществ. Автор отмечает высокую долю представителей филумов *Proteobacteria* и *Actinobacteria* в метаболически активном сегменте комплексов разных аридных почв. Во всех исследованных сообществах обнаружены метаболически активные представители всех исследованных филумов и классов прокариот. Однако, структура метаболически активных *in situ* прокариотных комплексов различна: при преобладании представителей филумов *Proteobacteria*, *Actinobacteria* и *Firmicutes*, их

доли в сообществах различаются в несколько раз между образцами. Подглава 4.3 посвящена оценке метаболической и ферментативной активности прокариотного сообщества методом мультисубстратного тестирования. Подглава 4.4. включает результаты филогенетическая структуры бактериального комплекса мерзлой осадочной породы архипелага Новая Земля *in situ*, полученные автором впервые, а подглавы 4.5 и 4.6 объединяют результаты по изучению коллекции выделенных культур культивируемых бактерий, оценке их устойчивости к физико-химическим стрессовым факторам и антибиотикоустойчивости.

Выводы и заключение логично формулируются из полученных результатов и отражают основные положения диссертации. По результатам диссертационного исследования опубликованы 22 работы, их них 8 статей в рецензируемых научных изданиях, индексируемых базами данных Web of Science, Scopus, RSCI. Материалы исследований были представлены на 14 российских и международных конференциях и симпозиумах. Опубликованные автором статьи отражают основное содержание диссертационной работы. Автореферат полностью отражает содержание диссертации.

Замечания и вопросы по работе:

Однако, несмотря на бесспорное достоинство данной работы, вносящей значительный вклад в развитие тематики исследования экстремальных экосистем, оценке биоразнообразия прокариот, существующих в аридных условиях, экологической микробиологии, микробной систематики и при общей, несомненно, положительной оценке диссертации Белова А.А. имеются следующие замечания, вопросы и пожелания:

1. Какое количество штаммов культивируемых бактерий отбиралось для каждого образца аридного экотопа при выполнении раздела «4.6

диапазоны устойчивости выделенных штаммов», было ли оно сопоставимым?

Из представленных в работе результатов неясно, на каком основании автор делает в Заключение вывод о том, что «обнаружение антибиотикоустойчивых штаммов (в том числе характеризующихся множественной устойчивостью к антибиотикам) свидетельствует о перспективности их дальнейшего изучения как потенциальных продуцентов новых антибиотиков», а «антибиоткоустойчивые изоляты, в особенности характеризующиеся множественной резистентностью, перспективны к дальнейшему исследованию данного явления, с целью его преодоления в медицинской практике, а также для поиска продуцентов новых веществ-антагонистов». В литературе показаны множественные случаи мультирезистентности и панрезистентности для госпитальных патогенных бактерий, в то время как продуцентов антибиотиков среди них почти нет. Также хотелось бы отметить, что для антибиотикоустойчивых культур было бы интересно включить результаты об их видовом разнообразии, генах, детерминирующих антибиотикорезистентность к используемым клиническим препаратам, и из каких аридных экотопов активно выделялись отобранные по этому признаку культуры.

2. При оценке ферментативной и метаболической активности методом мультисубстратного тестирования хотелось бы оценить вклад культивируемых бактерий, выделенных автором в активность усвоения субстратов. Возможно, в будущих исследованиях стоило бы провести такие опыты на коллекции культур, выделенных автором.

Диссертация отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В.Ломоносова. Содержание работы соответствует паспорту специальности 03.02.03 «Микробиология» по биологическим наукам, а также критериям, определенным пп. 2.1-2.5 положения о присуждении ученых степеней в Московском

государственном университете имени М.В.Ломоносова, а также оформлена, согласно приложениям № 5,6 Положения о диссертационном совете Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова.

Таким образом, соискатель Белов Андрей Антонович заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.03 - «Микробиология».

Официальный оппонент:

доктор биологических наук, доцент,
заместитель директора по научной работе
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт
по изысканию новых антибиотиков имени Г.Ф.
Гаузе»

Садыкова В. С.

Специальность, по которой официальным оппонентом защищена диссертация: 03.02.12 – Микология; 03.01.06 Биотехнология (в том числе бионанотехнологии)

Контактные данные: тел. (499) 255-20 -13 e-mail: sad

Адрес организации: 119021, Москва, ул. Большая Пироговская, д. 11
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков имени Г.Ф. Гаузе»

Отзыв Садыковой В.С. заверяю
Ученый секретарь ФГБНУ «НИИНА», к

140 О.В. Кисиль

