

Отзыв официального оппонента

на диссертационную работу *Шмаревой (Порошиной) Марии Николаевны* «Новые аэробные метилотрофные бактерии из солёных биотопов», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.03 – Микробиология

Диссертационная работа Шмаревой (Порошиной) Марии Николаевны посвящена выделению, физиолого-биохимической характеристике и идентификации новых аэробных метилотрофных бактерий из соленых биотопов России и Турции, а также определению наличия в них запасных веществ и осмопротекторов.

Метилотрофные бактерии представляют собой таксономически гетерогенную группу бактерий. Аэробные галофильные и галотолерантные метиловобактерии обнаруживаются в морской воде, содовых озерах, засоленных почвах. Они образуют устойчивые метилотрофные сообщества, разлагая токсичные C1-соединения, поставляя другим элементам сообщества свои экзометаболиты и получая взамен факторы роста. Целенаправленный поиск метиловобактерий в экстремальных и умеренно экстремальных местах обитания важны для оценки роли этих бактерий в различных природных и техногенных эконивах, выявления их разнообразия. Метилотрофные бактерии являются перспективными продуцентами полигидроксиалканатов и осмопротекторов. Выделение новых видов актуально с точки зрения поиска новых продуцентов указанных веществ. Таким образом, очевидно, что выделение, характеристика и идентификация новых видов является актуальной задачей, и **актуальность работы Шмаревой (Порошиной) не подлежит сомнению.**

Целью данной работы являлось выделение и характеристика метиловобактерий из солёных природных и техногенных биотопов России и Турции. Для достижения указанной цели были поставлены следующие задачи:

1. Выделить чистые культуры метиловобактерий из солёных биотопов разных мест;
2. изучить цитофизиологию и хемотаксономические признаки изолятов;
3. провести энзимологический анализ путей C1-метаболизма новых штаммов;
4. идентифицировать выделенные штаммы методами полифазной таксономии;
5. определить осмопротекторы и запасные вещества галофильных и галотолерантных метиловобактерий.

Научная новизна.

В результате проведенных исследований описан новый род и вид галотолерантных

метилобактерий *Methylobrevis pamukkalensis*, новый род умеренно галофильных метилобактерий *Methyloligella*, включающий два вида: *Methyloligella halotolerans* и *Methyloligella solikamskensis*. Описаны три новых галотолерантных вида: *Methylopila oligotropha*, *Ancylobacter defluvii* и *Paracoccus communis*. Кроме того, три изолята идентифицированы как представители известных видов. Полученные данные расширяют представление о биоразнообразии аэробных галофильных/толерантных метилобактерий из техногенных и природных биотопов, а также раскрывают перспективы их применения в качестве объектов биотехнологии.

Практическая значимость.

В результате работ Шмаревой (Порошиной) человечество обогатилось знаниями о двух новых родах метилотрофных бактерий, что, безусловно, является практически важным результатом. Более того, некоторые из новых изолятов накапливают при росте практически важные (значимые? –М.Н) количества полигидроксиалканатов и эктоин, что может явиться основой для оптимизации синтеза этих соединений для создания технологического регламента и дальнейшего производства.

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, экспериментальной части, диагнозов новых таксонов, заключения, выводов и списка цитированной литературы.

Во **введении** изложена актуальность работы, общее состояние разрабатываемой проблемы, представлены цель и задачи исследований, а также представлены общие данные о диссертации.

Литературный обзор разбит на три главы. В первой главе приводится описание метилотрофных бактерий, начиная от таксономического их положения, проходя через описание разных путей ассимиляции метанола и завершая связью между метаболизмом метанола и центральным метаболизмом бактерий.

Вторая глава посвящена полигидроксибутирату (ПГБ). Описаны группы бактерий, способные к накоплению значительных количеств ПГБ, метаболические пути, приводящие к синтезу ПГБ. Особое внимание уделено метилотрофам-продуцентам ПГБ. Описаны также свойства ПГБ и его практическая значимость.

Третья глава включает в себя необходимые данные для понимания важности осмоадаптации, описание осмопротекторов, их роли в адаптации клеток к изменениям окружающей среды, а также описанию осмопротекторов, обнаруженных у метилотрофных бактерий.

В целом Литературный обзор производит очень благоприятное впечатление. Автором найдена грань между необходимой детализацией приводимых данных и краткостью изложения материала. Возможно, именно в этом разделе было бы целесообразно описать и полигидроксивалериат, но и предложенная автором структура описания своих и литературных данных также вполне оправданна.

Автор подробно описывает применяемые материалы и методы. Из этой главы можно сделать вывод, что в процессе работы применялся широкий спектр современных методов, используемых в выделении, характеристике и идентификации новых штаммов, а автор не только хорошо в них ориентируется, но и с пониманием применяет их.

В главе **Результаты** автор приводит полученные данные по морфологии, культуральным, физиолого-биохимическим и хемотаксономическим свойствам выделенных бактерий.

Приведены результаты энзимологического и филогенетического анализа. Прделана большая работа по характеристике изолятов, из которой однозначно вытекает вывод об обнаружении трех изолятов, принадлежащих двум новым родам, обнаружении четырех новых видов метилотрофных бактерий, что само по себе является выдающимся результатом. С использованием стандартного для неазотфиксирующих штаммов подхода (лимитирование азотом) автор показывает возможности новых бактерий в синтезе ПГБ и ПГБВ. Отдельные виды могли накапливать до 39% ПГБ от веса сухой биомассы, что уже близко к практически важным значениям. Нарботаны образцы ПГБ, и их свойства охарактеризованы. Обнаружено, что по сравнению с уже изученным штаммом *Methylobacterium extorquens* штамм нового рода *Methyloligella halotolerans* синтезировал ПГБ с более высокой молекулярной массой, что может представлять определенный практический интерес. Показано также, что с увеличением концентрации соли в клетках всех выделенных бактерий содержание эктоина возрастало и достигало в некоторых из них 13-18% от веса сухой биомассы.

В конце данной главы автор приводит формулы (диагнозы) новых таксонов.

Полученные данные указывают на слабую изученность биоразнообразия метиловых бактерий солёных биотопов и необходимость проведения дальнейшего исследования этих экониш.

В **Заключении** автор подводит итог и анализирует полученные результаты.

Полученные результаты представляются **достоверными**.

Выводы диссертации логично вытекают из полученных результатов.

Все результаты работы **опубликованы** в шести публикациях и представлены на ряде конференций. Автореферат и публикации полностью отражают содержание диссертации.

Диссертация хорошо проиллюстрирована, изложена четко и логично. Схемы, таблицы, рисунки занимают на ее страницах соответствующее место, согласующееся с излагаемым текстом. Особенно приятно порадовало качество исполнения снимков с помощью оптического микроскопа.

Имеются некоторые **замечания**.

- При использовании сокращений автор неоправданно использует одну букву при сокращении названия рода. Это вводит читателя в некоторое замешательство. По-видимому, более оправданным в данном случае, когда многие названия родов начинаются с буквы М, применять стандартное трехбуквенное сокращение.

- В диссертации в явном виде не указан вклад автора в проведенные исследования.

В целом диссертация представляет собой пример исследования, требующего от автора умений и навыков в области классической микробиологии, глубокого знания биохимических особенностей изучаемых бактерий, а также информационных подходов при определении филогенетических связей выделенных бактерий с уже известными.

Диссертационная работа Шмаревой (Порошиной) Марии Николаевны представляет собой **завершенную** научно-исследовательскую работу на актуальную тему. Полученные результаты вносят вклад в понимание распространенности и разнообразия метилотрофных бактерий.

Таким образом, диссертационная работа М.Н. Шмаревой (Порошиной) по своей актуальности, научной новизне и практической значимости соответствует требованиям "Положения о порядке присуждения ученых степеней", утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор достойна присуждения искомой степени по специальности 03.02.03 - Микробиология."

4 февраля 2016 г.
Доктор биологических
наук,

Цыганков Анатолий Анатольевич

Цыганков Анатолий Анатольевич:

Место работы: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт фундаментальных проблем биологии Российской академии наук
web-сайт организации: www.ibbp.psn.ru

Должность: заместитель директора ИФПБ РАН

Адрес: 142290, Институтская, 2, г. Пушкино Московской обл.

e-mail: ttt-00@mail.ru

тел.: +7 (4967) 73-18-68

