

УТВЕРЖДАЮ

Директор ФГБУН Институт
общей и экспериментальной биологии СО РАН

Л.Л. Убугунов



«02» апреля 2024 г.

ОТЗЫВ

ведущей организации на диссертационную работу
Подлесной Галины Владимировны
на тему: «Особенности бактериального круговорота азота
в литоральной зоне озера Байкал»,
представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук
по специальности 1.5.16 - Гидробиология

Актуальность диссертационного исследования. Озеро Байкал является одним из древнейших озер в мире, которое характеризуется уникальными условиями существования организмов и представляет несомненный интерес для исследования. Круговорот азота в озерных экосистемах играет чрезвычайно важную роль в функционировании водоемов и обеспечении качества воды. Диссертационная работа Галины Владимировны Подлесной посвящена изучению численности и разнообразия бактерий, участвующих в круговороте азота в литоральной зоне озера Байкал. Учитывая тот факт, что в прибрежных участках озера в последнее время наблюдается повышенное содержание биогенных веществ в воде, включая органический и минеральный азот, исследование микроорганизмов, осуществляющих их трансформацию, является особенно актуальным и своевременным для фундаментальной науки, а также для практического применения.

Научная новизна работы. Полученные в диссертационной работе результаты обладают неоспоримой новизной и большой научной

значимостью. Впервые с применением молекулярно-генетических методов охарактеризовано таксономическое разнообразие бактерий круговорота азота в различных биотопах литоральной зоны озера Байкал, выявлены основные экологические факторы, влияющие на их распространение. У денитрифицирующих бактерий, выделенных из озера Байкал, впервые выявлены гены, кодирующие ферменты, необходимые для осуществления полного процесса денитрификации, а также гены, ответственные за синтез ферментов диссимиляционного восстановления нитрата до аммония. Впервые на качественно новом уровне охарактеризованы функциональные группы бактерий, осуществляющие цикл азота в планктоне и эпилимне литорали озера Байкал.

Значимость результатов для науки и практики. Рассматриваемая работа вносит существенный вклад в познание роли микроорганизмов цикла азота и их распространения в водных экосистемах. Полученные результаты обладают научной ценностью: значительно расширяют и углубляют современные представления о культивируемых и некультивируемых представителях аммонифицирующих, нитрифицирующих и денитрифицирующих бактерий. Выделены чистые культуры денитрифицирующих бактерий, обладающих биотехнологическим потенциалом. Результаты исследования могут быть использованы в мониторинге экосистемы озера Байкал.

Обоснованность и достоверность научных положений, выводов и заключений. Сделанные автором выводы и заключения обоснованы, соответствуют поставленным целям и задачам, следуют из содержания диссертационной работы. Достоверность результатов, защищаемых положений, выводов и заключений подтверждена большим объемом материала и применением комплекса современных микробиологических, молекулярно-генетических, биоинформационных и статистических методов.

Оценка содержания диссертации, ее завершенность в целом, замечания по оформлению. Диссертация построена по традиционной схеме

и состоит из введения, 5 глав, заключения, выводов и списка литературы. Работа изложена на 137 страницах, содержит 23 рисунка и 9 таблиц. Список литературы репрезентативен, включает 289 источников. Работа логично структурирована, грамотно изложена.

Введение включает описание актуальности темы исследования, цели, задач, научной новизны, теоретической и практической значимости работы, защищаемых положений, сведений о публикациях и апробации работы.

Глава 1 содержит обзор литературы, который систематизирован, достаточно информативен и демонстрирует хорошее владение автором современной литературы по теме диссертации. Дана характеристика основных этапов круговорота азота в природе с участием микроорганизмов: азотфиксации, нитрификации, денитрификации и аммонификации. Приведен анализ методов, применяемых для изучения численности, разнообразия и функциональной активности микроорганизмов, участвующих в превращении азотсодержащих соединений. Обобщена информация о круговороте азота с участием микроорганизмов в водоемах озерного типа в различных регионах и в озере Байкал. Проанализировано распространение и разнообразие азотфиксирующих, аммонифицирующих, нитрифицирующих, денитрифицирующих бактерий в воде и донных отложениях олиго-, мезо- и эвтрофных озер из различных регионов мира и озере Байкал с применением методов культивирования и молекулярных методов.

Глава 2 посвящена описанию объектов и методов исследования. Дана краткая характеристика станций отбора проб. Приведены методы определения численности микроорганизмов, методы выделения и изучения чистых культур бактерий, условия эксперимента по изучению влияния источника азота на образование биопленок гетеротрофными бактериями. Описаны молекулярно-генетические методы, применяемые в работе: выделение ДНК, условия проведения ПЦР, клонирование, определение нуклеотидных последовательностей методом высокопроизводительного

секвенирования, биоинформационный анализ. Представлены физико-химические методы и методы статистической обработки результатов.

Полученные результаты представлены в главах 3, 4 и 5.

Глава 3 посвящена результатам исследования численности аммонифицирующих и денитрифицирующих бактерий в различных экотопах и районах прибрежной зоны озера Байкал за трехлетний период. Показано, что исследуемые группы бактерий повсеместно распространены в прибрежной зоне озера, однако, наибольшая их численность характерна для районов, подверженных антропогенной нагрузке. Также установлено, что численность и распределение бактерий, участвующих в превращениях азотсодержащих соединений в прибрежной зоне озера Байкал, тесно связаны с физико-химическими параметрами среды.

Глава 4 посвящена изучению таксономического состава бактерий, участвующих в круговороте азота в литоральной зоне озера Байкал. С помощью методов культивирования и секвенирования фрагментов маркерных генов, в том числе функциональных, исследовано разнообразие нитрифицирующих и денитрифицирующих бактерий в различных экотопах озера. Несомненным достоинством проделанной работы является создание коллекции чистых культур денитрифицирующих бактерий, обладающих биотехнологическим потенциалом. Секвенирование генома штамма *Pseudomonas veronii* 1СБ показало присутствие генов, кодирующих ферменты, необходимые для осуществления полного процесса денитрификации.

Глава 5 включает результаты эксперимента по определению влияния источника азота на рост бактериальных культур. С помощью культивирования и сканирующей электронной микроскопии показано влияние доступности азота на рост азотфиксирующего штамма *Rhizobium* sp. 2А. Показано, что при переходе культуры к diazотрофному росту происходит увеличение диаметра клеток и продукции полисахарида.

В заключении подводится итог проведенных исследований, перечисляются основные результаты работы. Выводы соответствуют поставленным задачам и полностью обоснованы полученными материалами.

По диссертационной работе имеются замечания:

1. В тексте диссертации не совсем четко сформулировано, какие же особенности круговорота азота выявлены в озере Байкал, отличается ли его протекание в литорали от пелагиали озера Байкал, или от других озер.
2. Для полной характеристики микробного сообщества, осуществляющего цикл азота в Байкале, было бы очень желательно изучить микроорганизмы, осуществляющие важнейшую стадию круговорота азота – азотфиксацию.
3. Можно было бы рекомендовать представить как итог исследования схему круговорота азота в различных эконишах озера Байкал (вода и биопленки), с указанием количественных и качественных характеристик бактериального сообщества, осуществляющего различные звенья цикла азота. Это сделало бы восприятие очень интересных и объёмных результатов более цельным.
4. Информация, представленная в автореферате, существенно бы выиграла, если бы там был представлен раздел «Заключение», имеющийся в диссертации, в котором анализ результатов исследования сформулирован более развернуто и четко.

Вышеизложенные замечания носят рекомендательный характер и ни в коей мере не снижают научной ценности представленной работы. Диссертация вносит существенный вклад в познание закономерностей распространения и функционирования бактериопланктона и эпилимтона в водных экосистемах и его роли в круговороте азота. Работа выполнена на высоком теоретическом и методическом уровне с использованием классических микробиологических и современных молекулярно-генетических методов. Диссертационная работа Г.В. Подлесной является

законченным научным исследованием, имеет высокое качество оформления. Диссертационная работа характеризует Г.В. Подлесную как высококвалифицированного специалиста, владеющего спектром современных методов, способного самостоятельно ставить исследовательские задачи и успешно решать их.

Соответствие автореферата основным положениям диссертации.

Содержание автореферата полностью отражает основные положения диссертации.

Подтверждения опубликованных основных результатов исследования в научной печати. Содержание диссертации в достаточной мере отражено в 5 научных публикациях в высокорейтинговых рецензируемых журналах и 5 тезисах докладов, представленных на международных и всероссийских конференциях.

Заключение о соответствии диссертации критериям, установленным о порядке присуждения научных степеней.

Диссертационная работа Подлесной Галины Владимировны на тему: «Особенности бактериального круговорота азота в литоральной зоне озера Байкал», по актуальности, новизне и значимости в полной мере отвечает требованиям, изложенным в п. 9 «Положения о порядке присуждении ученых степеней», утвержденного правительством Российской Федерации 24 сентября 2013 г., предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности по специальности 1.5.16 – Гидробиология.

Отзыв на диссертацию Г.В. Подлесной обсужден и одобрен на заседании лаборатории микробиологии ФГБУН Институт общей и экспериментальной биологии СО РАН (Протокол № 3 от 29.03.2024 г.).

Сведения об организации: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт общей и экспериментальной биологии Сибирского отделения Российской академии наук» (ИОЭБ СО РАН). Адрес: 670047, Республика Бурятия, г. Улан-Удэ, ул. Сахьяновой, 6.
Тел. (3012)43-42-41, факс (3012)43-30-34, e-mail: ioeb@biol.bscnet.ru.

Заведующий лабораторией
микробиологии
ИОЭБ СО РАН,
кандидат биологических наук

Бархутова Дарима Дондоковна

Старший научный сотрудник
лаборатории микробиологии
ИОЭБ СО РАН,
кандидат биологических наук
E-mail: ioeb@biol.bscnet.ru

Дагурова Ольга Павловна

Подпись сотрудников Бархутовой Даримы Дондоковны и Дагуровой Ольги Павловны удостоверяю:

Ведущий специалист по кадрам

Д.А. Очирова

29.03.2024 г.



СВЕДЕНИЯ О ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

по диссертации Подлесной Галины Владимировны

«Особенности бактериального круговорота азота в литоральной зоне озера Байкал»,
представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по
специальности 1.5.16. – гидробиология.

Полное наименование организации в соответствии с Уставом	Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт общей и экспериментальной биологии Сибирского отделения Российской академии наук
Сокращенное наименование организации в соответствии с Уставом	ИОЭБ СО РАН
Руководитель организации	Убугунов Леонид Лазаревич, доктор биологических наук, профессор, заслуженный деятель науки Российской Федерации и Республики Бурятия
Почтовый индекс, адрес организации	670047, г. Улан-Удэ, ул. Сахьяновой, д.6
Телефон	8(3012)434211
Адрес электронной почты	ioeb@biol.bscnet.ru
Веб-сайт	http://igeb.ru
Сведения о составителях отзыва	Бархутова Дарима Дондоковна, к.б.н., ведущий научный сотрудник, зав. лабораторией микробиологии, Дагурова Ольга Павловна, к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории микробиологии Телефон: 8(3012)434902
Список основных публикаций по теме диссертации в рецензируемых научных изданиях за последние 5 лет (не более 15):	
1. Лаврентьева Е.В., Банзаракцаева Т.Г., Раднагуруева А.А., Бурюхаев С.П., Дамбаев В.Б., Батурина О.А., Козырева Л.П., Бархутова Д.Д. Микробное сообщество термального озера Умхей (Байкальская рифтовая зона) в зоне разгрузки подземных вод // Сибирский экологический журнал. 2019. Т. 26. № 6. С. 715-726.	
2. Karlyshev A.V., Kudryashova E.B., Ariskina E.V., Abidueva E.Y., Lavrentyeva E.V., Barkhutova D.D. Whole-genome sequencing of Xanthomonadaceae strain ALG18-2.2, isolated from the Saline Lake Gudzhirganskoe in the Republic of Buryatia, Russia // Microbiology Resource Announcements. 2019. Т. 8. № 46. С. e01112-19.	
3. Лаврентьева Е.В., Эрдынеева Е.Б., Банзаракцаева Т. Г., Коцюрбенко О.Р., Батурина О.А., Хахинов В.В., Козырева Л.П. Разнообразие прокариот в биотопах соленого щелочного озера Гуджирганское (Баргузинская долина, Бурятия) // Микробиология. - 2020. - Т.89. - N 3. - С.356–36.	
4. Зайцева С.В., Абидуева Е.Ю., Зайцева К.В., Сун Ч.-Х. Особенности микробного состава содовых озер Белозерской группы (Республика Бурятия). // Биология внутренних вод. - 2021.- № 4. - С.343-352. DOI: 10.1134/S1995082921040131	

5. Лаврентьева Е.В., Эрдынеева Е.Б., Дунаевский Я.Е., Болтянская Ю.В., Кевбрин В.В. Внеклеточные высокостабильные щелочные пептидазы алкалофильных бактерий *Alkalicaulis satelles* и *Aliidiomarina* sp., перспектива их применения в составе детергентов // Прикладная биохимия и микробиология. - 2021. - Т. 57. - № 6. - С. 563-570.
6. Борисова Н.Г., Аненхонов О.А., Зайцева С.В., Старков А.И., Дагурова О.П., Убугунов Л.Л. Концептуальные схемы влияния изменений уровня озера Байкал на биоту прибрежных экосистем//География и природные ресурсы. - 2022. – N 5.- С. 133 - 142. DOI: 10.15372/GIPR20220514
7. Stom D.I., Topchy I.A., Zhdanova G.O., Tolstoy M.Y., Chesnokova A.N., Kupchinsky A.B., Barkhutova D.D., Zaitseva S.V., Ponamoreva O.N., Alferov S.V., Bulaev A.G. Microorganisms of Microbial Mats from an Alkaline Hot Spring of Baikal Rift Zone as Bioagents in a Biofuel Cell // Geomicrobiology Journal. 2022.
8. Lavrentyeva E., Banzaraktsaeva T., Dambaev V., Buyantueva L., Valova E., Ivanov V., Plotnikov A. Taxonomic diversity and functional potential of microbial communities in salt lakes Gudzhirganskoe and Nukhe-Nur (Barguzin depression, Baikal Rift Zone)//Bio. Comm. – 2023. - Vol. 68, No 2. P. 86–96. DOI: /10.21638/spbu03.2023.203
9. Abidueva E.Yu., Kudryashova E.B., Ariskina E.V., Liu Sh.-W., Sun Ch.-H., Karlyshev A.V. Alkalihalobacterium limicola gen. nov., sp. nov., an alkaliphilic bacterium isolated from an alkaline, saline lake of Buryatia in Russia. Microbiology. – 2023. - Vol. 92, No. 1. P.11-20. DOI:10.1134/S0026261722602548
10. Yang Q., Guo P., Abidueva E. Yu., Lavrentyeva E.V., Lisevich I.M., Osterman I.A., Sergiev P.V., Liu S., Xue C., Sun C. A pilot survey on antimicrobial activity and diversity of soil-derived actinobacteria from different depths in Gudzhirganskoe Saline Lake in Eastern Siberia//Journal of Oceanology and Limnology. – 2023. - Vol. 41, No. 4. P. 1307-1320. DOI:10.1007/s00343-022-2127-9

Ведущая организация подтверждает, что соискатель не является ее сотрудником и не имеет научных работ по теме диссертации, подготовленных на базе ведущей организации или в соавторстве с ее сотрудниками.

Директор Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт общей и экспериментальной биологии Сибирского отделения Российской академии наук д.б.н., профессор



L. L. Ubugunov
Л.Л. Убугунов