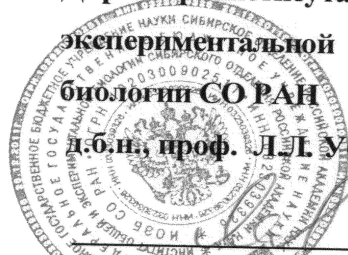


Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт общей и экспериментальной биологии
Сибирского отделения Российской академии наук
 (ИОЭБ СО РАН)
 Сахьяновой М.ул., 6 Улан-Удэ г., 670047
 Тел.: 8(3012)434211, факс 8(3012)433034;
 E-mail: ioeb@biol.bscnet.ru
 ОКПО 03533369 ОГРН 1020300902511
 ИНН/КПП 0323039326/032301001

«Утверждаю»

Директор Института общей и
 экспериментальной
 биологии СО РАН
 д.б.н., проф. Д.Д. Убугунов



11.03.2015 № 15535/ - 01 - 2471/76
 На № _____

«*Убугунов*» 2015 г.

ОТЗЫВ

ведущей организации о научно-практической ценности диссертации
 Колмаковой Олеси Владимировны на тему
 “Определение видового состава планктонных бактерий бассейна реки Енисей
 молекулярно-генетическими методами и экспериментальное исследование их
 биогеохимических функций” на соискание ученой степени
 кандидата биологических наук по специальности 03.02.10 – гидробиология

Актуальность диссертационного исследования. Диссертационная работа О.В. Колмаковой посвящена изучению видового состава пресноводного бактериопланктона бассейна реки Енисей с применением современных молекулярно-биологических методов. Бактериопланктон является важнейшим звеном водных экосистем и играет ведущую роль в круговороте биогенных элементов в водоемах. Однако изучение видового разнообразия и функциональной роли бактериопланктона было затруднительным до появления молекулярно-биологических методов в гидробиологической практике. «Глубокое» разнообразие бактериопланктона, определенное с помощью секвенирования следующего поколения, в водотоках изучено недостаточно, в отличие от бактериопланктона морей и озер. Определение функциональной активности микробного звена водоемов остается весьма актуальной задачей, при этом вклад и значение отдельных видов бактерий в общий

пул активности остается невыясненным. Приведенные в диссертации результаты исследования восполняют эти пробелы в знаниях, чем и определяется актуальность рецензируемой работы.

Новизна исследования полученных результатов. Полученные О.В. Колмаковой результаты обладают научной новизной. Впервые на обширном материале было изучено разнообразие бактериопланктона р. Енисей, проанализирована связь развивающихся на различных участках реки бактериальных сообществ с окружающим ландшафтом. Впервые идентифицированы виды бактерий, специализирующиеся на потреблении отдельных аминокислот. Впервые установлено, что изменение состава сообщества в ответ на добавление аминокислот носит сезонный характер и происходит только летом.

Значимость результатов для науки и практики. Теоретическая и практическая значимость О.В. Колмаковой диссертации не вызывает сомнений. Рассматриваемая работа вносит существенный вклад в познание современного состояния водных экосистем. Полученные результаты обладают большой научной ценностью: они значительно расширяют базу данных о разнообразии и филогенетической принадлежности микроорганизмов планктона крупных водотоков и могут использоваться для комплексного экологического мониторинга реки Енисей при определении вклада ее экосистемы в глобальные потоки углерода в биосфере. Установленная сезонная динамика изменений в составе бактериопланктона на добавление аминокислот имеет большое значение для оценки способности водоемов к самоочищению. Полученные результаты имеют значение для оценки пространственно-временной изменчивости биологических сообществ водоемов и прогнозирования изменений водных экосистем при воздействии природных и антропогенных факторов.

Обоснованность и достоверность научных положений, выводов и заключений. Сделанные автором выводы обоснованны, соответствуют поставленной цели и задачам, следуют из содержания диссертационной работы. Достоверность результатов подтверждена большим объемом материала и рациональным выбором комплекса применяемых молекулярно-генетических методов: параллельным секвенированием следующего поколения на платформе MiSeq, денатурирующим градиентным гель-электрофорезом с последующим клонированием, биоинформационным анализом данных с применением различных сервисов.

Структура и содержание работы. Диссертация О.В. Колмаковой построена по традиционной схеме и состоит из введения, четырех глав, заключения, выводов и списка использованной литературы. Работа изложена на 120 страницах, в число которых входят

основной текст, 9 таблиц, 14 рисунков, список литературы (146 ссылок, в том числе 132 на зарубежные работы).

Глава 1 диссертации представляет собой обзор литературы, дающий краткое описание современных молекулярно-биологических методов исследования природных микробных сообществ. Приводится характеристика метода высокопроизводительного секвенирования. Автор анализирует и систематизирует современные методы определения видоспецифичных биогеохимических функций бактериопланктона, обсуждает их достоинства и недостатки, обосновывает наилучший выбор методов для решения поставленных автором задач. Обзор демонстрирует отличное знание автором современных молекулярных методов анализа и различных аспектов их применения для изучения сообществ водоемов. Обзор представляет интерес как отдельное научное исследование справочного характера.

Глава 2 включает описание объектов и методов исследования. Дана краткая характеристика реки Енисей и водохранилища Бугач. Приведена карта-схема точек отбора проб р. Енисей. Приведены методы определения общей численности микроорганизмов, методы выделения ДНК, условия амплификации фрагмента гена 16S рРНК. Описано определение нуклеотидных последовательностей методом секвенирования следующего поколения с последующим биоинформационным анализом. Дано подробное описание лабораторных микрэкосистем с добавками аминокислот, схема последующего отбора и обработки проб – определение концентрации аминокислот, применение денатурирующего градиентного гель-электрофореза с последующим клонированием и филогенетическим анализом полученных нуклеотидных последовательностей.

Глава 3 «Биоразнообразие и численность планктона р. Енисей» содержит экспериментальный материал и его анализ, направленный на решение первой задачи диссертации. В результате изучен состав бактериопланктона р. Енисей, включающий 3022 ОТЕ, на протяжении 1800 км, охарактеризовано его разнообразие, определены доминирующие в сообществе филумы – Proteobacteria, Actinobacteria, Bacteroidetes и Verrucomicrobia. По результатам кластеризации бактериальных сообществ, полученной с помощью многомерного анализа степени сходства (MDS), выделено три участка реки с сообществами, различающимися по видовому составу и природным ландшафтам – верхний участок реки (горная тайга), средний участок реки (равнинная тайга), нижний участок реки (лесотундра и тундра). Показано, что среднее течение реки характеризовалось большим разнообразием и увеличением доли цианобактерий в сообществе.

Глава 4 «Экспериментальное изучение потребления аминокислот бактериопланктоном эвтрофного водохранилища» содержит экспериментальный материал и его анализ, направленный на решение второй и третьей задач диссертации. Выявлены виды бактерий в сообществе, потребляющие лизин и глицин, являющиеся специализированными к утилизации узкого спектра аминокислот. На основе изучения бактериальных сообществ, развивающихся в лабораторных микроэкосистемах, установлено изменение состава сообщества на добавление аминокислот – увеличивалась численность видов, потребляющих аминокислоты. Это было справедливо для сообществ, отобранных в середине лета, тогда как в другие сезоны изменений в составе бактерий не наблюдалось. Автор делает заключение, что самоочищающая способность водоемов может существенно варьировать в зависимости от сезона.

Замечания и недостатки диссертационной работы:

1. Самое главное замечание – недостаточность и некоторая однобокость литературного обзора. Литературный обзор посвящен современным молекулярно-биологическим методам исследования, однако совершенно отсутствует информация по структуре и функциональным характеристикам бактериопланктона водоемов, в частности речных экосистем. Также отсутствуют сведения о биогеохимических функциях бактериопланктона, в том числе видоспецифичных. Изложенные недостатки затрудняют восприятие материала и мешают в полной мере оценить полученные результаты. Обзор литературы также существенно бы выиграл от включения в него схематичного рисунка применяемых в работе методов.
2. Диссертация приобрела бы большую стройность, если бы поставленные задачи были применены к одному географическому объекту. В р. Енисей определено «глубокое» разнообразие бактериопланктона, а эксперименты по потреблению аминокислот проведены для бактериопланктона эвтрофного водохранилища Бугач. Из текста диссертации неясно, почему был выбран такой объект, существенно отличающийся по своим гидробиологическим характеристикам от р. Енисей.
3. Характеристика исследованных водоемов была бы более полной, если литературные краткие гидрохимические сведения, приведенные в главе 2, были расширены. В связи с этим вызывает сожаление, что исключительно интересные полученные данные не обсуждены в связи с гидробиологической характеристикой водоемов.

4. Не очень понятно, почему высокая скорость верхнего течения потока является фактором, способствующим развитию биопленок (с. 72).
5. В автореферате не представлены названия тезисов докладов, с которыми диссертант выступала на международных и российских конференциях.
6. В тексте диссертации и автореферата имеются небольшие опечатки и стилистические ошибки, в частности в автореферате (с. 19, список публикаций, п. 4) в списке авторов пропущена фамилия диссертанта О.В. Колмаковой. В работе используются не очень удачные термины, например «нестерильное культивирование» (с. 100), «индикаторные таксоны» (с. 65).

Вышеизложенные замечания ни в коей мере не умаляют уровня и значимости исследования. Диссертация вносит существенный вклад в познание закономерностей распространения и функционирования бактериопланктона пресноводных экосистем. Работа выполнена на высоком теоретическом и методическом уровне с использованием современных молекулярно-генетических методов. Диссертационная работа О.В. Колмаковой является законченным научным исследованием, имеет высокое качество оформления. Диссертационная работа характеризует О.В. Колмакову 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.

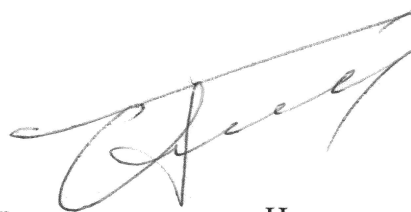
Подтверждения опубликованных основных результатов исследования в научной печати. Содержание работы в достаточной мере отражено в 5 научных публикациях – 3 из них опубликованы в Сибирском экологическом журнале, 1 работа опубликована в журнале FEMS Microbiology Ecology, имеющим высокий импакт-фактор.

Заключение о соответствии диссертации критериям, установленным о порядке присуждения научных степеней. Диссертационная работа О.В. Колмаковой по актуальности, новизне и практической значимости в полной мере отвечает требованиям, изложенным в п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного правительством Российской Федерации 24 сентября 2013 г., предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор О.В. Колмакова заслуживает присвоения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.10 – гидробиология.

Отзыв на диссертацию О.В. Колмаковой обсужден на заседании лаборатории микробиологии Института общей и экспериментальной биологии СО РАН, протокол заседания № 21 от 10 марта 2015 г.

Сведения об организации: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт общей и экспериментальной биологии Сибирского отделения Российской Академии Наук». Адрес: г. Улан-Удэ, ул. Сахьяновой, 6. Тел. (3012) 43-42-11, факс (3012) 43-30-34, e-mail: ioeb@biol.bscnet.ru.

Заведующий лабораторией
микробиологии ИОЭБ СО РАН,
Доктор биологических наук, профессор



Намсараев Баир Бадмабазарович

Старший научный сотрудник
Кандидат биологических наук



Дагурова Ольга Павловна