

ОТЗЫВ

официального оппонента

на диссертационную работу Екатерины Владимировны Сазановой «**ОРГАНИЧЕСКИЕ КИСЛОТЫ ГРИБОВ И ИХ ЭКОЛОГО-ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ**», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям «Физиология и биохимия растений» - 03.01.05 и «Микология» - 03.02.12.

Работа К.В. Сазановой посвящена общебиологической проблеме – регуляции метаболизма. Цель работы – установить основные закономерности образования органических кислот микроскопическими грибами и выявить функциональную роль ацидофикации в различных условиях роста грибов. В качестве объектов исследования использованы 24 вида грибов различного систематического положения, выделенных, в основном, с каменистых субстратов. Особое внимание автора к грибам из этих мест обитания обусловлено их экофизиологическим действием, приводящим к разрушению поверхностей памятников культуры. Основным механизмом разрушения считают выделение органических кислот грибами. Выбор объектов оправдан, так как это дало возможность автору провести скрининг среди грибов и выявить виды с наибольшей способностью к образованию органических кислот, которые и стали основными объектами исследования. **Актуальность** работы не вызывает сомнений, так как определяется высокой теоретической и практической значимостью изучения биосинтеза органических кислот грибами.

Представленная диссертационная работа и автореферат оформлены в соответствии с официальными требованиями «Положения ...». Обзор литературы включает 265 наименований работ в основном последних 15 лет и полностью отражает современные представления о метаболизме органических кислот у грибов (глава 1.1), о роли трофического фактора в образовании кислот грибами (глава 1.2), о роли факторов минерального питания в метаболизме органических кислот у грибов (глава 1.3), о влиянии физических факторов на ацидифицирующую активность грибов (глава 1.4) и об экологическом значении ацидофицирующей деятельности грибов (глава 1.5). Обзор широко анализирует проблему, написан хорошим литературно-научным языком лаконично и логично, что способствует дальнейшему восприятию экспериментального материала.

Работа выполнена на **высоком методическом уровне** с использованием современных микологических, микроскопических и физико-химических методов анализа - газовой хромато-масс-спектрометрии, атомно-адсорбционной спектроскопии и др. В

совокупности используемые методы и подходы не позволяют сомневаться **в достоверности полученных данных.**

Результаты исследований представлены в 4 главах, в которых изучена ацидофицирующая активность микромицетов в ходе онтогенеза (глава 3), влияние трофического фактора на образование органических кислот грибами (глава 4), влияние факторов минерального питания и условий культивирования на рост и образование органических кислот грибами (глава 5) и образование органических кислот грибами при действии стрессовых факторов (глава 6).

Работа является **целостным исследованием**, в результате которого впервые показано, что основной органической кислотой, выделяемой микроскопическими грибами является щавелевая. Эта кислота у активных кислотообразователей является конечным продуктом диссимилиации углеводов и не используется в дальнейшем грибами в качестве источника углерода, обладает токсическим действием и высокой хелатирующей способностью по отношению к металлам, в присутствии ионов кальция образует кристаллы оксалата кальция при любом типе выращивания.

Впервые автором исследованы наслоения на поверхности памятников, которые имеют высокую культурную ценность, и выявлено, что первичные почвы и гипсовые корки содержат ряд органических соединений (моно- и дисахариды, сахароспирты, органические и аминокислоты), которые могут служить источниками углерода и азота для микромицетов. Особенностью гипсовых корок является присутствие больших количеств щавелевой кислоты. Эти данные позволили целенаправленно выбрать соединения для дальнейшего изучения влияния трофического фактора на образование органических кислот грибами.

Автором получены новые данные о биосинтезе органических кислот у *A. niger* и *P. citrinum* в зависимости от концентрации глюкозы в жидкой среде, что показало доминирование щавелевой кислоты и образование органических кислот цикла Кребса только при высоких концентрациях глюкозы. Очень интересным фактом является обнаруженное образование глюконовой кислоты на первых стадиях роста на глюкозе. Установлено, что в стационарной фазе щавелевая кислота доминирует при росте на всех углеводах – моно-, дисахаридах и сахароспиртах. Обнаружено интересное стимулирующее действие ионов кальция на образование щавелевой кислоты.

Особо хочется выделить раздел о влиянии стрессорных факторов на синтез органических кислот. Автором были изучены как природные воздействия (ультрафиолет, действие ионов цинка и меди), так и искусственные стрессоры – биоциды – метацид и метатин. В действии этих стрессорных факторов была выявлена общая закономерность – стимуляция образования щавелевой кислоты, что свидетельствует об адаптивной роли кислотообразования у микромицетов. Эти результаты представляют ценность для разработки методов борьбы с микодеструкцией, что, определяет **практическую значимость** работы. Большой заслугой автора является создание коллекции микромицетов с активным кислотообразованием для испытания на микодеструкцию строительных материалов и эффективности действия биоцидов, что позволило провести опытные испытания, результатом которых были два акта внедрения.

Перечисленные результаты следует считать приоритетными, что и составляет безусловную новизну и глубину исследования.

Таким образом, работа К.В. Сазановой является законченным исследованием с высокой фундаментальной и практической значимостью. Выводы хорошо обоснованы и экспериментально подтверждены. Основные результаты работы полностью представлены научной общественности в 42 работах, в том числе в 9 экспериментальных статьях в рецензируемых журналах из списка ВАК, а также в устных и постерных сообщениях на конференциях. **Содержание автореферата полностью соответствует основным положениям диссертации.**

Нужно отметить огромный экспериментальный материал, что говорит об исследовательском таланте и увлеченности автора. Представленная работа выше среднего уровня кандидатских диссертаций.

Принципиальных замечаний к диссертационной работе у меня нет, но, как и в каждой диссертации, в рецензируемой работе можно отметить некоторые недочеты:

1. В диссертации отсутствует название раздела «Результаты и обсуждение». В методической части работы не описаны способы постановки опытов с поверхностной культурой (как сеяли, использовали ли целлофановую подложку, как собирали биомассу).
2. Автор ошибочно использует термин лаг-фаза в тексте диссертации и выводе 2. Вместо него нужно было использовать термин логарифмическая (лог-фаза) или

трофофаза., что относится к активной фазе роста. Лаг-фаза наблюдается в самом начале роста культуры и характеризуется задержкой ростовых процессов. Поэтому, кстати, не стоит начинать кривую роста с нулевой отметки.

3. Общим замечанием к работе является отсутствие микологического описания роста или развития культуры при исследовании влияния различных факторов на биосинтез органических кислот. Поскольку большинство используемых автором модельных штаммов относятся к активно спорулирующим, то не учитывать этот фактор тоже нельзя. Т.е. о росте можно говорить только при использовании глубинной культуры, а в случае поверхностной культуры нужно говорить о развитии, так как фаза активной споруляции уже не может считаться ростовой. В этом случае «биомасса мицелия» представляет собой мицелий с конидиеносцами и конидиями, что важно учесть, например на рис 33, где выращивание проводилось в течение 30 суток. И рисунки 7 и 8, иллюстрирующие особенности конидиеобразования, правильнее подписать «конидиеносцы с конидиями», а не «конидиеносцы».
4. В разделе о влиянии источников азота на биосинтез органических кислот не использовали никаких органических источников азота, хотя в первичных отложениях были обнаружены различные аминокислоты.
5. Из данных рис. 6 нельзя сделать вывод о том, что «интенсивность образования и выделения кислот грибами практически не зависит от географического положения места, откуда был выделен штамм, и снижается в процессе их хранения в субкультуре *in vitro*», так как недостаточно вариантов из различных годов выделения.
6. Нужно отметить, что в работе присутствует небольшое количество опечаток и необоснованной англоязычной терминологии типа «продуцирование», «секретирование», «глицерол» и др.

Перечисленные недочеты не имеют принципиального характера и не умаляют значения работы, их можно отнести к рабочим моментам экспериментальных исследований.

Работа К.В. Сазановой по актуальности проблемы, новизне полученных данных, практической значимости и высокому методическому уровню соответствует требованиям пункта 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» РФ и является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение задачи, имеющей существенное значение для развития исследований в области регуляции метаболизма, а автор заслуживает присуждения ему искомой ученой степени кандидата биологических наук по специальностям «Физиология и биохимия растений» - 03.01.05 и «Микология» - 03.02.12.

И. о. зав. лаборатории «Экспериментальной микологии» Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института микробиологии им. С.Н. Виноградского РАН,
доктор биологических наук

/В.М.Терёшина/

Проспект 60-летия Октября, 7/2,
Москва, 117312
ФГБУН Институт микробиологии
им. С.Н. Виноградского РАН
Тел: +7(499)135-75-42
E-Mail: v.m.tereshina@inbox.ru

СОБСТВЕННОРУЧНАЯ ПОДПИСЬ
ТОВ. В. М. Терёшиной
УДОСТВЕРЯЕТСЯ.
Подпись В.М.Терёшина 13.01.2015

