

УТВЕРЖДАЮ

Директор

Федерального государственного учреждения

«Федеральный исследовательский центр

«Фундаментальные основы биотехнологии»

Российской академии наук»

д.б.н. В.О. Попов

16 января 2017 г.



ЗАКЛЮЧЕНИЕ

из протокола совместного заседания лабораторий Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук»: Микробиологии болотных систем, Нефтяной микробиологии, Реликтовых микробных сообществ и Гипертермофильных микробных сообществ.

Диссертация «Сульфатредуцирующие прокариоты кислых термальных источников полуострова Камчатка» выполнена Евгением Николаевичем Фроловым в лаборатории Гипертермофильных микробных сообществ в очной аспирантуре ФИЦ Биотехнологии РАН.

Е. Н. Фролов в 2012 году окончил Воронежский государственный университет по специальности «Биология».

Удостоверение о сдаче кандидатских экзаменов №6 выдано 1 декабря 2016 года ФИЦ Биотехнологии РАН.

Научный руководитель – к.б.н. Н.А. Черных (с.н.с. ФИЦ Биотехнологии РАН).

Слушали:

доклад по диссертации м.н.с. Фролова Евгения Николаевича на соискание степени кандидата биологических наук: «Сульфатредуцирующие прокариоты кислых термальных источников полуострова Камчатка».

Рецензенты:

зав. лаб., д.б.н. С.Н. Дедыш, зав. лаб., д.б.н. Т.Н. Назина.

Вопросы задавали:

с.н.с., к.б.н. Е.Н. Деткова, с.н.с., к.б.н. Д.Г. Наумов, с.н.с., к.б.н. В.В. Кевбрин, с.н.с., к.б.н. С.Н. Гаврилов, с.н.с., к.б.н. И.В. Кубланов, зав. лаб., д.б.н. Е.А. Бонч-Осмоловская.

В дискуссии приняли участие:

зав. лаб., д.б.н. С.Н. Дедыш, зав. лаб., д.б.н. Т.Н. Назина, зам. дир., д.б.н. Н.В. Пименов, с.н.с., к.б.н. С.Н. Гаврилов, с.н.с., к.б.н. И.В. Кубланов, с.н.с., к.б.н. Н.А. Черных.

По итогам обсуждения принято следующее заключение.

Диссертационная работа Евгения Николаевича Фролова представляет собой завершённое целостное научное исследование, выполненное на современном методическом уровне и посвящённое выявлению сульфатредуцирующих прокариот кислых термальных источников полуострова Камчатка.

Актуальность проблемы.

Диссимиляционная сульфатредукция - важнейший природный процесс, который широко распространён в анаэробных местообитаниях и осуществляется только прокариотами. В течение длительного времени считалось, что сульфатредуцирующие прокариоты (СРП) предпочитают местообитания с околонейтральным значением рН, а вопрос о протекании данного процесса в ацидофильных условиях оставался дискуссионным. Однако, со временем были получены доказательства осуществления процесса сульфатредукции в местообитаниях с низким значением рН, и более того были выделены и охарактеризованы первые ацидофильные сульфатредуцирующие бактерии. Несмотря на это, сведения по сульфатредукции в местообитаниях с термоацидофильными условиями остаются весьма ограниченными. В литературе приводятся данные по активности СРП только для нескольких кислых термальных источников национального парка Йеллоустон, однако, агенты диссимиляционной сульфатредукции в данных источниках не выявлены. Единственной известной термоацидофильной сульфатредуцирующей бактерией на данный момент является *Thermodesulfobium narugense*, выделенная из термального источника в Японии.

В литературе также имеются предположения, что такие термоацидофильные организмы как '*Candidatus V. moutnovskia* 768-28' (Gumerov *et al.*, 2011), *Caldivirga maquilingensis* (Itoh *et al.*, 1999), *Thermoproteus tenax* (Siebers *et al.*, 2011), *Vulcanisaeta souniana* (Itoh *et al.*, 2002) и *Vulcanisaeta distributa* (Itoh *et al.*, 2002), относящиеся к типу *Crenarchaeota* и имеющие в геномах гены диссимиляционной сульфитредуктазы (*dsrAB*), также могут восстанавливать сульфат до сульфида. Однако экспериментальных подтверждений этого до настоящего времени не представлено. Интересно, что представителями архейной сульфатредукции считались организмы рода *Archaeoglobus*, но филогенетический анализ генов, ответственных за этот процесс показал, что данные гены имеют бактериальное происхождение (Klein *et al.*, 2001). Исходя из выше сказанного видно, что вопрос о наличии архейной сульфатредукции остаётся открытым, от ответа на который зависит датировка эволюционного возникновения процесса.

Таким образом, интерес к термоацидофильным СРП обусловлен двумя основными причинами: во-первых, слабая изученность СРП кислых термальных источников, и, во-вторых, нерешённость вопроса существования архейной сульфатредукции.

Конкретное участие автора в получении научных результатов.

Соискатель принимал участие во всех этапах исследования – от постановки задач и проведения экспериментов до обсуждения полученных данных, подготовки их к публикации и представления на конференциях. Соискатель также принимал участие в двух экспедициях на полуостров Камчатка.

Научная новизна.

Впервые осуществлено комплексное исследование процесса диссимиляционной сульфатредукции в кислых геотермальных местообитаниях. С помощью радиоизотопных методов показана высокая интенсивность сульфатредукции в ряде кислых геотермальных источниках, а также с использованием молекулярно-биологических методов определен и проанализирован состав микробных сообществ в источниках с высокой активностью СРП. Впервые показано, что в источниках с экстремально термоацидофильными условиями за процесс сульфатредукции отвечают представители филума *Crenarchaeota*, в то время как в источниках с умеренно термоацидофильными условиями данный процесс осуществляют бактерии.

Выделены и полностью охарактеризованы новые термоацидофильные СРП. Описан новый род '*Desulfothermobacter*', включающий один новый вид – '*Desulfothermobacter acidiphilus*'. Кроме того, описан новый вид *Thermodesulfobium*

acidiphilum sp. nov., который вместе с ранее описанным другими авторами *Th. narugense* образуют глубокую филогенетическую ветвь на эволюционном древе, на основе чего предлагается реклассификация рода *Thermodesulfobium* в таксон более высокого порядка.

Для коллекционных штаммов *V. souniana*, *V. distribute*, *T. tenax* и *C. maquilingensis*, а также для бинарной культуры, состоящей из '*Candidatus V. moutnovskia* 768-28' и *T. izoniensis* штамм 768-20, проведена проверка способности к осуществлению диссимиляционной сульфатредукции, в результате чего показано, что только бинарная культура с '*Candidatus V. moutnovskia* 768-28' способна к сульфатному дыханию. Таким образом, впервые получены экспериментальные доказательства процесса диссимиляционной сульфатредукции у представителей *Crenarchaeota*. На основе данных геномного и протеомного анализов предложена общая схема процесса сульфатного дыхания у '*Candidatus V. moutnovskia* 768-28'. Филогенетический анализ генов *dsrAB* из '*Candidatus V. moutnovskia* 768-28' показал их архейное происхождение.

Практическая значимость работы.

Микроорганизмы, обитающие в экстремальных условиях, могут являться потенциальными источниками новых ферментов, обладающих устойчивостью к низким значениям pH при высоких температурах, и поэтому ценных для использования в производствах, требующих повышенных температур и/или низких значений pH среды. Кроме того, новые знания об ацидофильных СРП могут быть полезны в работах, связанных с биоремедиацией таких местообитаний, как карьерные озёра, хвостохранилища, дренажи кислых сточных вод.

Апробация работы.

Материалы исследований по теме диссертации были представлены в виде стендовых докладов на международных конференциях.

Соискатель имеет 3 экспериментальные статьи по теме диссертации:

1) **Фролов Е.Н.**, Меркель А.Ю., Пименов Н.В., Хващевская А.А., Бонч-Осмоловская Е.А., Черных Н.А. Сульфатредукция и ассимиляция неорганического углерода в кислых термальных источниках полуострова Камчатка // Микробиология. - 2016. - Т. 85. - № 4. - С. 446-457.

2) **Frolov E.N.**, Kublanov I.V., Toshchakov S.V., Samarov N. I., Novikov A.A., Lebedinsky A.V., Bonch-Osmolovskaya E.A., Chernyh N.A. *Thermodesulfobium acidiphilum* sp. nov., a new thermoacidophilic sulfate-reducing chemoautotrophic bacterium from a Kamchatkan thermal site // IJSEM. accepted (DOI: 10.1099/ijsem.0.001745).

3) Merkel A. Yu., Dubin A. V., Pimenov N.V., Rusanov I.I., Slobodkin A.I., Slobodkina G.B., Tarnovetckii I. Yu., Frolov E.N., Perevalova A.A., Bonch-Osmolovskaya E.A. Lithoautotrophic Microbial Communities in Kamchatka Hot Springs // Extremophiles. accepted (DOI: 10.1007/s00792-016-0903-1).

В результате обсуждения участники совместного заседания пришли к выводу о том, что диссертация Фролова Е.Н. «Сульфатредуцирующие прокариоты кислых термальных источников полуострова Камчатка» отвечает всем требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям, и рекомендуется к защите на соискание учёной степени кандидата наук по специальности микробиология 03.02.03. Заключение принято на совместном заседании лабораторий Микробиологии болотных систем, Нефтяной микробиологии, Реликтовых микробных сообществ и Гипертермофильных микробных сообществ.

Рекомендовали – отредактировать выводы.

Присутствовало на заседании 35 человек. Результаты голосования: «за» - 35 чел., «против» - 0 чел., «воздержалось» - 0 чел., протокол № 17 от «8» декабря 2016 г.

Присутствовали:

Зав. лаб., д.б.н. Е.А. Бонч-Осмоловская, зав. лаб., д.б.н. С.Н. Дедыш, зав. лаб., д.б.н. Т.Н. Назина, зам. дир., д.б.н. Н.В. Пименов, г.н.с., д.б.н., В.К. Плакунов, с.н.с., к.г-м.н. И.А. Борзенков, с.н.с., к.б.н. А.Е. Иванова, н.с., к.б.н. Т.Л. Бабич, н.с., к.б.н. Д.Ш. Соколова, и.о.н.с., к.б.н. М.В. Журина, м.н.с. С.В. Мартьянов, инж-исслед. А.В. Ганессен, с.н.с., к.б.н. С.Э. Белова, и.о.н.с., к.б.н. Е.М. Семёнова, с.н.с., к.б.н. Д.Г. Наумов, м.н.с. И.Ю. Ошкин, м.н.с. А.А. Иванова, с.н.с., к.б.н. В.В. Кевбрин, с.н.с., к.б.н. Е.Н. Деткова, с.н.с., к.б.н. О.С. Самылина, с.н.с., к.б.н. А.Ю. Каллистова, н.с., к.б.н. Ю.Ю. Берестовская, н.с., к.б.н. Ю.В. Болтянская, с.н.с., к.б.н. Н.А. Черных, в.н.с., д.б.н. А.И. Сlobodкин, с.н.с., к.б.н. Г.Б. Сlobodкина, н.с., к.б.н. М.И. Прокофьева, с.н.с., к.б.н. С.Н. Гаврилов, с.н.с., к.б.н. И.В. Кубланов, с.н.с., к.б.н. А.А. Перевалова, н.с., к.б.н. Т.В. Кочеткова, м.н.с. И.М. Елизаров, м.н.с. К.С. Заюлина, и.о.м.н.с. А.Г. Ельченинов, м.н.с. А.А. Никитина.

Рецензенты

зав. лаб., д.б.н.



С.Н. Дедыш

зав. лаб., д.б.н.



Т.Н. Назина

Секретарь заседания

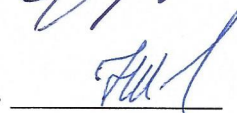
аспирант, м.н.с.



К.С. Заюлина

Председатель заседания

зам. дир., д.б.н.



Н.В. Пименов

Дата:

8.12.2016