

“УТВЕРЖДАЮ”

Проректор -

начальник Управления научной политики

организации научных исследований

МГУ имени М.В.Ломоносова

А.А.Федянин

2 июня 2017 г.



### ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

на диссертационную работу Фролова Евгения Николаевича «Сульфатредуцирующие прокариоты кислых термальных источников полуострова Камчатка», представленной на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.03 - микробиология

**Актуальность темы диссертации.** Диссимиляционная сульфатредукция является важным природным процессом, широко распространённым в анаэробных местообитаниях. Несмотря на длительную историю изучения этого процесса, в настоящее время остается невыясненным ряд вопросов, касающихся как экологических границ распространения диссимиляционной сульфатредукции, так и происхождения сульфатредуцирующих прокариот. В частности, остаётся не исследованным вопрос о возможности протекания диссимиляционной сульфатредукции в кислых термальных местообитаниях. В литературе имеются только предположения, что некоторые термоацидофильные археи семейства *Thermoproteaceae*, имеющие в геномах гены диссимиляционной сульфитредуктазы, могут восстанавливать сульфат до сульфида. Однако, экспериментальных подтверждений этого до настоящего времени не было представлено. Исследование способности этой группы термоацидофильных архей к сульфатредукции вызывает особый интерес. Единственными представителями архей, для которых экспериментально показана сульфатредукция, считаются организмы рода *Archaeoglobus*, однако, филогенетический анализ генов, ответственных за этот процесс, показывает, что они имеют бактериальное происхождение. Таким образом, вопрос о наличии архейной сульфатредукции, от ответа на который зависит датировка эволюционного возникновения процесса, остаётся открытым. Диссертация Е.Н. Фролова посвящена исследованию процесса диссимиляционной сульфатредукции в кислых термальных источниках, выявлению микроорганизмов, ответственных за данный процесс, а также изучению способности ряда термоацидофильных архей к сульфатному дыханию.

**Научная новизна работы.** Научная новизна диссертации не вызывает сомнений. В ходе выполнения работы было осуществлено комплексное исследование процесса диссимиляционной сульфатредукции в кислых геотермальных местообитаниях. В

частности, была показана высокая интенсивность сульфатредукции в ряде термальных источников с низким значением pH, а также с использованием молекулярно-биологических методов определен состав микробных сообществ в источниках с высокой активностью сульфатредуцирующих прокариот. Было 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. Были выделены и охарактеризованы новые термоацидофильные сульфатредуцирующие прокариоты. Для коллекционных штаммов термоацидофильных архей исследована способность к диссимиляционной сульфатредукции. Впервые получены экспериментальные доказательства процесса диссимиляционной сульфатредукции у представителей филума *Crenarchaeota*.

**Теоретическая и практическая значимость.** Теоретическая значимость работы обусловлена тем, что данные, полученные в работе, расширяют представления об экологических границах обитания сульфатредуцирующих прокариот. Впервые получены экспериментальные подтверждения осуществления диссимиляционной сульфатредукции архейного типа. Микроорганизмы, выделенные и охарактеризованные в данной работе, могут являться потенциальным источником новых антибиотиков и ферментов, ценных для использования в производствах, требующих повышенных температур и/или низких значений pH среды. Кроме того, новые знания об ацидофильных сульфатредуцирующих прокариотах могут быть полезны в работах, связанных с биоремедиацией таких местообитаний, как карьерные озёра, хвостохранилища рудников, дренажи кислых сточных вод.

**Структура и объём диссертационной работы.** Диссертация изложена на 142 страницах, содержит 237 ссылок на литературные источники, построена по традиционному плану, включает разделы: введение, обзор литературы, объекты и методы исследования, результаты и обсуждение, заключение, выводы, список литературы. Диссертация включает 25 рисунков и 6 таблиц.

Обзор литературы написан хорошим научным языком, он позволяет составить детальное представление о текущем состоянии проблемы, дает достаточно полную информацию о механизме сульфатредукции, разнообразии, эволюции и экологии сульфатредуцирующих прокариот.

В разделе «Материалы и методы» даны сведения, касающиеся экспериментальной части работы, представлено описание объектов исследования и используемых методов. Автор владеет современными методами микробиологии, молекулярной биологии и биоинформатики. Этот раздел свидетельствует о большом объеме и высоком научном



уровне проведенных исследований, а также о высокой квалификации автора диссертационной работы.

В следующем и основном разделе диссертации Е.Н.Фролова представлены оригинальные экспериментальные результаты проведенных исследований. Автором выявлен ряд кислых термальных источников с высокой активностью сульфатредуцирующих прокариот. Для выявленных источников был определен состав микробных сообществ и впервые показано, что в источниках с экстремально термоацидофильными условиями процесс сульфатредукции осуществляют археи, а в источниках с умеренно термоацидофильными условиями за данный процесс отвечают бактерии. Следует отметить, что сульфатредуцирующие прокариоты из кислых термальных источников являются непростым объектом исследования. Так, например, до проведения данной работы был описан только один вид сульфатредуцирующих бактерий, растущих в термоацидофильных условиях – *Thermodesulfobium narugense*. Поэтому важным достижением работы является выделение и описание новых термоацидофильных сульфатредуцирующих микроорганизмов. В частности, выделен в чистую культуру и описан новый вид *Thermodesulfobium acidiphilum*, sp. nov., который, вместе с ранее описанным *Thermodesulfobium narugense*, образует глубокую филогенетическую ветвь на эволюционном древе бактерий. Кроме того, выделена в чистую культуру и отнесена к новому роду и виду термоацидофильная сульфатредуцирующая бактерия '*Desulfothermobacter acidiphilus*', gen. nov., sp. nov. Особый интерес представляют результаты, полученные при работе с коллекционными культурами термоацидофильных архей семейства *Thermoproteaceae*. Автором было показано, что среди исследованных представителей домена *Archaea* только *Candidatus* "V.moutnovskia 768-28" обладает необходимым набором генов диссимиляционной сульфатредукции. Филогенетический анализ ключевых генов сульфатредукции из *Candidatus* "V.moutnovskia 768-28" показал их архейное происхождение. С использованием культурального, радиоизотопного и протеомного методов исследования получены экспериментальные доказательства осуществления процесса диссимиляционной сульфатредукции у *Candidatus* "V.moutnovskia 768-28".

В кратком «Заключении» суммированы основные научные достижения диссертации. Выводы являются достоверными и обоснованными.

**Результаты диссертации могут быть рекомендованы** для использования в исследовательских коллективах, занимающихся изучением микроорганизмов, вовлечённых в круговорот серы на Земле, а также занимающихся проблемами биоремедиации карьерных озёр, хвостохранилищ рудников, дренажей кислых сточных

вод. Полученные результаты могут быть использованы в образовательном процессе при подготовке специалистов в области микробиологии.

**Замечания.** К числу недостатков работы следует отнести, во-первых, неполное описание (причём, без указаний ссылок на публикации), некоторых использованных экспериментальных методов. Например, проверка устойчивости сульфатредуцирующих прокариот к антибиотикам описана одним предложением, из которого недостаточно ясно, какова концентрация антибиотиков в среде (стр. 54). Одним предложением описаны и результаты такой проверки, причём, указана другая, чем в разделе «Материалы и методы», концентрация антибиотиков (стр. 78). Не описан также способ подготовки срезов клеток штамма новой термоацидофильной бактерии для изучения с помощью трансмиссионной электронной микроскопии, и не указана ссылка на один из обычно используемых для этого методов (стр. 55). Результаты исследования ультраструктуры клеток, представленные в диссертационной работе на рис. 3Б (стр. 75) одной не совсем чёткой фотографией, к сожалению, не представляются достаточно убедительными. Однако, справедливости ради, отметим, что современные молекулярно-генетические методы, методы филогенетического анализа, и ряд других, описаны диссертантом с большей тщательностью. К недостаткам работы следует отнести и оформление рисунка 25 на английском языке. Как всегда бывает в подобных работах, имеются опечатки, стилистические и другие погрешности. Так, на стр. 8 вместо «процесса диссимиляционной сульфатредукции у представителей филума *Crenarchaeota*» написано «процесса диссимиляционной сульфатредукции у представителей домена *Archaeota*». Первое предложение раздела Заключение кажется излишним в связи с представленными далее в этом разделе результатами изучения термоацидофильной сульфатредукции для пяти источников национального парка Йеллоустон. Отмеченные недостатки, однако, не влияют на общую положительную оценку диссертационного исследования.

В качестве пожелания можно отметить, что, несмотря на завершённый характер диссертации, работы в этом направлении, по-видимому, будут продолжены. В связи с этим представляется целесообразным дальнейшее изучение метаболизма новых видов термоацидофильных сульфатредуцирующих прокариот. В частности, было бы целесообразно исследовать особенности автотрофной фиксации углекислого газа у представителей рода *Thermodesulfobium*, так как данный род представляет глубокую филогенетическую ветвь на эволюционном древе бактерий.

**Заключение.** В целом, представленная к защите работа выполнена на высоком профессиональном уровне с использованием современных микробиологических и молекулярно-биологических методов. Полученные результаты изложены, в большинстве случаев, подробно, и достаточно корректно интерпретированы. Научные положения и



выводы, сформулированные в диссертации, являются обоснованными, их достоверность и новизна не вызывают сомнений. Диссертация является завершённым исследованием, обладающим несомненной новизной и существенной научной значимостью. Автореферат и публикации соискателя полностью отражают содержание диссертационной работы. Основные результаты опубликованы в рецензируемых научных журналах, в том числе в отечественном журнале «Микробиология», входящем в список ВАК, а также в международных журналах «IJSEM» и «Extremophiles». Кроме того, результаты представлены в материалах четырёх международных конференций.

Диссертационная работа Фролова Евгения Николаевича «Сульфатредуцирующие прокариоты кислых термальных источников полуострова Камчатка», представленная на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.03 – микробиология, является законченным научным исследованием, которое по содержанию, актуальности темы, уровню выполнения поставленных задач, степени обоснованности выносимых на защиту положений и выводов полностью удовлетворяет требованиям «Положения о присуждении научных степеней» п. 9, утверждённого постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. №842, и соответствует всем требованиям ВАК, предъявляемым к кандидатским диссертациям. Содержание диссертации соответствует специальности 03.02.03 – микробиология и профилю диссертационного совета Д002.247.02 на базе Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук».

Автор диссертации Фролов Е.Н. заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.03 – микробиология.

Отзыв заслушан и одобрен 30 мая 2017 года на заседании кафедры микробиологии МГУ (протокол \_6\_); основное направление научно-исследовательской работы кафедры соответствует тематике диссертации.

Доктор биологических наук, профессор,  
Заведующий кафедрой микробиологии  
Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова  
119234, Россия, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12,  
Биологический факультет МГУ.  
Тел.: +7 (495) 939-27-63  
E-mail: [anetrusov@mail.ru](mailto:anetrusov@mail.ru)

  
Александр Иванович Нетрусов

