

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию Щербаковой Виктории Артуровны «Анаэробные бактерии и археи в многолетнемерзлых отложениях Арктики», представленной на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности «03.02.03 – микробиология»

Изучение микробиологии мерзлотных отложений приобрело новое звучание в связи с возможными процессами глобального потепления и участием микроорганизмов в образовании парниковых газов. Исследование психрофилов и микроорганизмов, адаптированных к условиям местообитаний с холодной температурой, представляет нелегкую задачу, что связано с их низкими скоростями роста. Изучение анаэробов удваивает трудности, в связи со значительно менее эффективным энергетическим метаболизмом по сравнению с аэробами. Даже в постгеномную эру изучение мерзлотных осадков несколько «отстает» от понимания распространения и активности микроорганизмов в экосистемах с более высокой температурой, из-за трудностей, связанных с выделением генетического материала в количествах, достаточных для высокопроизводительного секвенирования. Поэтому, исследование микробиологии анаэробов в мерзлотных отложениях во многих отношениях является новаторским и требует значительных усилий.

Диссертационная работа В.А. Щербаковой традиционно включает: (1) введение, в котором автор формулирует цель и задачи исследования, научную новизну, теоретическое и практическое значение работы, основные защищаемые положения; (2) обзор литературы; (3) описание объектов и методов исследования; (4) результаты исследования, объединенные с обсуждением; и (5) заключение и выводы. Обзор литературы содержит три главы. Глава 1 посвящена характеристике криосферы, как среды обитания микроорганизмов. В Главе 2 автор обсуждает адаптации прокариот к жизни при низкой температуре и в Главе 3 - рассматривает разнообразие и распространение представителей домена архей с акцентом на психрофилах и психроактивных микроорганизмах.

В литературном обзоре автор тщательно анализирует опубликованные данные, включая детализированный исторический экскурс. В этом отношении, диссертация может служить хорошим подспорьем как для преподающих, так, и изучающих микробиологию. Автор поднимает и анализирует вопросы важные для общей экологии микроорганизмов, например об определении понятия «психрофильный микроорганизм». Надо отметить, что в некоторых сводных таблицах, где автор систематизировала литературные данные, отсутствуют ссылки на цитируемые публикации (Таблицы 2,6). В некоторых случаях в тексте цитирования появляются в конце, а не начале параграфа, посвященного изложению фактов того или

инного исследования. В целом, цитирования и список литературы оформлены аккуратно. Мне не удалось найти ссылки на работы, отсутствующие в списке литературы. Используемый в таблице 3 и по тексту в разделе 1.2 термин «жизнеспособные клетки» при описании количества микроорганизмов, учитываемых по росту на средах, не соответствует современным представлениям о разнообразии микроорганизмов. Следовало указать, что речь идет о культивируемых формах. Микроорганизмы могут быть жизнеспособными, но некультивируемыми. Не является недостатком, но хотелось бы чтобы работы Омелянского цитировались не по работам Wagner с соавторами, а включали ссылки на оригинальные работы. Научные труды Омелянского были собраны и вышли в издании Академии наук в 1953 г.

В Главе 4 экспериментальной части, посвященной объектам и методам исследований, автор детально описывает места и методы отбора проб, использованные аналитические методы, методики определения общей численности микроорганизмов и культивируемых форм, выделения чистых культур, а также определение последовательности ДНК и биоинформационный анализ. Автор подробно описывает многие общеизвестные методы, например, такие, как выделение ДНК фенольным методом и в тоже время ограничивается только ссылками на публикацию для специальных методов, как, например, использование радиоактивной метки для контроля возможного загрязнения при отборе проб криопэгов. Техническое замечание – в Таблице 7 не указаны единицы измерения катионов и анионов.

В Главе 5, раздела «Результаты и обсуждение» В.А. Щербакова описывает и обсуждает разнообразие анаэробных прокариот в вечной мерзлоте и криопэгах. Результаты включают определение общей численности клеток, численности клеток, определенной по росту на селективных средах, а также определение присутствия различных групп архей на основе анализа ампликонов гена 16S рРНК и функционального маркера на метаногенез, *mcrA*. Надо отметить, что автором получены важные результаты по обнаружению метаногенных архей в образцах вечной мерзлоты молекулярными методами. Фактически, ей принадлежит приоритет в доказательстве присутствия многих групп архей в вечной мерзлоте.

На мой взгляд, в Главе 5 автор уделяет излишнее внимание обсуждению численности микроорганизмов различных физиологических групп, определенное по росту на селективных средах. Эта информация не дает понимания ни разнообразия, ни возможной активности микробных процессов. При описании результатов, также как и методов, автор не конкретизирует, что под «жизнеспособными» клетками она понимает культивируемые формы. Заключение об отсутствии сульфатредукторов в исследованных образцах имеет некоторую степень вероятности, так как был использован ограниченный набор праймеров на ген *dsrAB*, не покрывающих

все известное на настоящий момент разнообразие. Техническое замечание – в Таблице 14 не достаёт нумерации исследованных проб, на которую автор даёт ссылку в Таблице 15.

В.А. Щербаковой проведена большая работа по выделению новых психрофильных и психроактивных анаэробов. Описанию их выделения и характеристике посвящена Глава 6. Описания новых организмов проведены тщательно и сопровождаются хорошим анализом ультратонкого строения клеток. Автором не просто выделены новые психрофильные/психроактивные прокариоты, но и изучена их способность осуществлять важные биогеохимические процессы, такие как азотфиксация, сульфатредукция и метаногенез. Наряду с описанием одиннадцати новых видов психрофильных и психроактивных прокариот, определены и проанализированы последовательности геномов некоторых из них. Анализ геномов психрофилов позволил определить ферменты, имеющие потенциал для практического использования в биотехнологиях.

Отличительным моментом диссертационной работы является «широкий» взгляд на анаэробных прокариот вечной мерзлоты. Автор не только детально изучила разнообразие и описала новые виды, но и исследовала адаптационные механизмы к низкой температуре (Глава 7) и возможную биогеохимическую роль. Интересные и важные для понимания экологии микроорганизмов проведенные автором исследования ассоциаций спирохеты и метаногенных прокариот. Убедительна демонстрация факта, что штаммы одного вида имеют разные оптимумы температуры и рН. Большое значение для экологии микроорганизмов в целом имеют результаты, свидетельствующие о том, что температурный оптимум зависит от солёности среды. Техническое замечание: На рисунке 12 в легенде отсутствует обозначение некоторых структур клетки, обозначенных стрелками на микрофотографии. С моей точки зрения неправомерно характеризовать клеточную стенку археи (штаммы МК3, МК4, стр. 154) как «грамположительного типа».

Глава 8 диссертационной работы посвящена изучению особенностей метаболизма метаногенов как объектов для изучения проблем астробиологии. На мой взгляд, предположения о возможности использования перхлоратов в качестве акцепторов электронов метаногенов несколько преждевременны. Демонстрация того факта, что происходит снижение содержания по сравнению с контролем, недостаточно. Особенно, учитывая тот факт, что автор не приводит статистической обработки данных в этих экспериментах. Снижение концентрации перхлоратов может происходить за счёт химических реакций, которые клетки метаногенов могут катализировать. Эта проблема требует дальнейшего изучения.

Диссертационная работа В.А. Щербаковой является глубоким и детальным исследованием проясняющим разнообразие и активность анаэробных прокариот в мерзлотных отложениях. Исследование также открывает новые задачи и горизонты в области экологии микроорганизмов и астробиологии. Выводы диссертации соответствуют поставленным задачам исследования. Автореферат отражает содержание диссертации.

Диссертация полностью соответствует требованиям п. 9 Раздела II «Положения о порядке присуждения ученых степеней» (Постановление правительства Российской Федерации № 842 от 24 ноября 2013 года) и паспорту специальности 03.02.03., предъявляемым к докторским диссертациям, а ее автор, Виктория Артуровна Щербакова, заслуживает присуждения степени доктора биологических наук по специальности 03.02.03 – микробиология.

Зав. Кафедрой физиологии растений и биотехнологии
Томского государственного университета,
доктор биологических наук, профессор

О.В. Карначук

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Томский государственный университет»,
634050, г. Томск, пр. Ленина, 36.

Тел 8(3822)529765

olga.karnachuk@green.tsu.ru



начальника Управления делами
М.Б. Удалова