

## ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию Слободкиной Галины Борисовны «Новые термофильные анаэробные прокариоты, использующие соединения азота, серы и железа в энергетическом метаболизме», представленной на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности «03.02.03 – микробиология»

Изучение анаэробных термофилов представляет истинно «горячее» направление современной микробиологии. Непрекращающийся интерес к исследованиям в этой области, прежде всего, связан с запросом промышленности на процессы, катализируемые ферментами термофильных микроорганизмов. Использование ДНК-полимеразы *Thermus aquaticus* для оптимизации полимеразной цепной реакции революционизировало современную биологию и медицину и подтолкнуло исследователей на поиски других перспективных ферментов. Анаэробные термофилы были, по всей видимости, первыми обитателями Земли, что связывает их изучение с пониманием ранней эволюции. Несмотря на стремительное развитие методов, основанных на высокопроизводительном секвенировании, чистые культуры, как правильно отмечает автор диссертации, необходимы для верификации геномных данных. Знание композитного генома не заменит экспериментов с чистыми культурами, особенно при изучении биогеохимических преобразований, осуществляемых микроорганизмами. Основной разрыв между имеющейся геномной информацией и наличием чистых культур происходит в таксонах, включающих анаэробных термофилов. Несколько филумов домена Bacteria представлены одним-двумя культивируемыми термофильными изолятами. Поэтому выделение новых термофилов и изучение их геохимической роли чрезвычайно актуально.

Диссертационная работа Г.Б. Слободкиной включает: (1) введение, в котором автор определяет актуальность работы, формулирует цель и задачи исследования, научную новизну, теоретическое и практическое значение и положения, выносимые на защиту. Краткий исторический дискурс удачно дополняет описание актуальности и подтверждает тот факт, что наши знания о микробиологии биогеохимических превращений, осуществляемых термофилами, далеки от совершенства. Главы 1 и 2 диссертационной работы посвящены анализу литературы, разделенному на описание анаэробных термофильных прокариот (Глава 1) и биогеохимических процессов, осуществляемых ими (Глава 2). Г.Б. Слободкина глубоко обсуждает опубликованные исследования, удачно объединяя в логическую схему

описание классических и современных работ. Обращает внимание тот факт, что автор внимательно и бережно цитирует работы Российских классиков микробиологии. Обзор литературы заканчивается обобщением, где автор ставит новые вопросы, требующие решения. Заслуживает внимания вывод о сходстве основных ферментов сульфат- и нитратредукции, о чем знают все, кто работал с геномной информацией, но которому уделяют мало внимания в современной литературе. Микробная биогеохимия термофильных систем – быстро развивающаяся область микробиологии. В отсутствие хороших учебников на русском языке, посвященных современным представлениям о микробных процессах в термальных экосистемах, первые две главы диссертации могут быть хорошим подспорьем для преподавателей и учеников. Призываю автора опубликовать в дальнейшем учебное пособие. Оно будет востребовано.

Замечания по литературному обзору. Вызывает удивление, что автор описывает основные реакции цикла серы, основываясь на Электронном учебном пособии Красноярского университета, авторы Перфилова, Махлаев. Также непонятен и выбор второй цитируемой работы – Геохимическая роль микроорганизмов, Электронное учебное пособие, Нижний Новгород, авторы Речкин, Ладыгина. Классические работы в области цикла серы принадлежат нашему соотечественнику И.И. Волкову. М.В. Иванов на протяжении многих лет возглавлял международную программу «Глобальный биогеохимический цикл серы», в результате которой были собраны и опубликованы материалы по циклу серы, которые до сих пор цитируются международным сообществом как классические. Описание цикла серы в обзоре литературы дается упрощенно. Замечание о том что «сульфиды в кислородной среде неустойчивы и окисляются, в результате чего сера переходит в состав сульфатных соединений» - на уровне школьных учебников. Отсутствует упоминание возможного образования промежуточных соединений серы, тиосульфата, полиотионатов, элементной серы, сульфита, при окислении сульфида до сульфата. Автор ошибочно называет вивианитом карбонат железа, сидерит,  $FeCO_3$  (стр. 84). Это нерастворимое соединение. Возможно, источником ошибки является цитируемый источник – Бабьева, Зенова, Биология почв, Изд-во МГУ, 1983. Еще одна неточность – *Desulfovibrio desulfuricans*, описанный Бейеринком, не является модельным организмом для изучения сульфатредукции. Модельный организм - *Desulfovibrio vulgaris* Hildenborough. *Desulfovibrio sulfodismutans* неверно назван *D. disulfodismutans* (стр. 72). Технические замечания: В литературном обзоре ссылка на Таблицу

3 появляется на 56 странице раньше, чем ссылка на Таблицу 2, сама таблица расположена на странице 100. Это вызывает неудобства при чтении.

В Главе 3 экспериментальной части, посвященной материалам и методам исследований, автор описывает места отбора проб, методы культивирования и выделения чистых культур, физиологические эксперименты, аналитические методы, а также определение последовательности генов 16S рРНК и филогенетический анализ. В Таблицах 4 и 5 в пустых клетках следовало указать, что определение параметров не проводили.

Описание результатов начинается с Главы 4, посвященной выделению и характеристике новых термофильных анаэробов, участвующих в преобразованиях соединений азота. Большим достижением является выделение, характеристика и таксономическое описание первых термофильных планктомицетов. Все валидно описанные ранее представители этого филума были мезофилами. В диссертационной работе отдельно не выделен раздел «Обсуждение результатов», автор анализирует полученные данные совместно с представлением результатов. Две секции Главы 4 посвящены обсуждению распространения и возможной геохимической роли термофильных планктомицетов. Автор провела простое и изящное исследование распространения филоципов, родственных выделенным термофильным бактериям, с использованием инструмента BLAST NCBI.

Из текста диссертации остается неясным, каким образом авторы получали последовательности полноразмерных генов 16S рРНК, для новых видов, например *Tepidibacillus fermentans* 1512 п.н., *Inmirania thermoithiophila* 1521 п.н, если для амплификации была использована пара праймеров 27F-1492R, как указано в материалах и методах.

Глава 5 диссертации посвящена выделению и изучению новых сульфитвосстанавливающих бактерий и Глава 6 –железевосстанавливающих прокариот. Основной акцент в этой части работы сделан на характеристику новых архей и бактерии. Г.Б. Слободкина не только выделила и охарактеризовала и описала колоссальное число новых анаэробных термофилов, но и обнаружила новые биогеохимические процессы, в частности анаэробное окисление элементной серы нитратом с образованием аммония. В этом отношении исследование открывает новые горизонты в области биогеохимии, так как детектированный процесс может быть источником первичной продукции в глубоководных гидротермах.

Работа написана хорошим языком и читается легко и увлекательно. 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, Галина Борисовна Слободкина, 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

