

ОТЗЫВ

на диссертационную работу ФРОЛОВА Евгения Николаевича «Сульфатредуцирующие прокариоты кислых термальных источников полуострова Камчатка», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.03 — микробиология

Диссертационная работа Евгения Николаевича Фролова посвящена исследованию крайне интересной и специфичной физиологической группы прокариотных организмов – анаэробных термофилов, способных к сульфатредукции в условиях повышенной кислотности местообитаний. Сульфатредуцирующие бактерии исследуются уже более века, термофильные – более полувека, сульфатредуцирующие археи – в течение последних десятилетий, однако, их распространенность и активность в термальных источниках до сих пор была мало известна и оставляла обширный простор для изучения биоразнообразия в этих специфических экосистемах. Особый интерес представляет поиск форм, не образующих споры, которые были бы способны восстанавливать сульфат до сероводорода в кислых условиях: особенности таких микроорганизмов представляют не только новый материал для микробиологии, но и могут быть использованы в практических целях для связывания и удаления тяжелых и токсичных металлов из кислых растворов биогенным сероводородом. Отдельным важным вопросом микробиологии является получение новых данных по филогении сульфатредуцирующих прокариот, так как у архей к сульфатному дыханию способны только представители рода *Archaeoglobus*, а филогенетический анализ генов, ответственных за этот процесс, показывает, что они имеют бактериальное происхождение. Таким образом, исследование термофильных ацидофильных или ацидотолерантных сульфатредукторов и их разнообразия в микробных сообществах горячих источников, проведенное диссертантом, относится к фундаментальным проблемам, что определяет ценность проведенного исследования для общей микробиологии, актуальность и важность выполненной работы. Задачи, сформулированные в диссертации, соответствуют цели исследований, вполне конкретны и логичны в последовательности их решений.

Оформление диссертации соответствует установленным требованиям, она состоит из введения, обзора литературы, описания использованных материалов и примененных методов, результатов исследования и их обсуждения, заключения, выводов, списка использованной литературы и приложений. В целом диссертация содержит 142 страницы, которые включают помимо текста 25 рисунков и 6 таблиц. Список литературы насчитывает 237 ссылок, из них русскоязычных – 5.

Во введении диссертантом представлена общая характеристика поставленной при выполнении диссертационной работы проблемы, обоснована актуальность,

сформулированы цели и задачи исследования.

Обзор литературы информативен, основан на большом количестве источников, в том числе новейших. Обзор написан сжато, емко, дает прекрасное представление о разнообразии и филогении сульфатредуцирующих прокариот, позволяющее понять и оценить закономерности формирования процесса сульфатредукции. Полно изложены основные сведения о механизме сульфатредукции, разнообразии и эволюции сульфатредуцирующих прокариот. Обзор демонстрирует прекрасную осведомленность автора обо всех последних находках в исследуемой им области и хорошо обрисовывает «белые пятна» в знаниях о биологии и экологии сульфатредуцирующих прокариот кислых и термальных местообитаний. Приятно отметить, что обзор литературы не только постулирует известные положения, но и отмечает дискуссионные моменты (например, окончание раздела 1.2 и раздел 1.3).

Материалы и методы исследования описаны в достаточно объеме. Диссертант владеет современными методами микробиологии, молекулярной биологии и биоинформатики, что обеспечивает высокий уровень проведенных исследований и достоверность полученных результатов. Широта спектра методов, примененных Е.Н. Фроловым в ходе выполнения диссертационной работы, свидетельствует о высокой квалификационной подготовке диссертанта.

Результаты исследования и их обсуждение изложены в 9 разделах третьей главы диссертационной работы. В ходе изучения сульфатредуцирующих прокариот кислых термальных источников Е.Н. Фролов использовал методически различные подходы, однако, все полученные им результаты логически связаны в единую концепцию и хорошо согласуются между собой. Диссертант представляет полученные результаты исследования по схеме «обнаружение и измерение процесса в природе – выделение и изучение ответственного за процесс микроорганизма – подтверждение процесса на чистой культуре», но в этой диссертационной работе классическая микробиологическая триада существенно дополнена разделом изучения конкретного механизма сульфатредукции и его обеспечения, связанного с филогенией изолятов.

Радиоизотопным методом определена скорость сульфатредукции в пробах термальных местообитаний с кислым рН и ее изменения при внесении дополнительных субстратов. Анализы интенсивности естественной сульфатредукции дополнены измерениями изменений процесса при внесении дополнительных субстратов. Молекулярно-биологическими методами определён состав микробных сообществ исследованных термальных биотопов. Диссертанту удалось показать, что в источниках с экстремально термоацидофильными условиями процесс сульфатредукции был

обеспечен археями – представители филума *Crenarchaeota*, а в источниках с умеренно термоацидофильными условиями – бактериями. Е.Н. Фроловым успешно выделены и охарактеризованы чистые культуры новых термоацидофильных сульфатредуцирующих прокариот – *Thermodesulfobium acidiphilum* sp. nov. и '*Desulfothermobacter acidiphilus*' gen. nov., sp. nov. Далее диссертант исследовал способность к диссимиляционной сульфатредукции у ряда коллекционных штаммов термоацидофильных архей, относящихся к семейству *Thermoproteaceae*. Диссертантом установлено, что среди исследованных им прокариот только бинарная культура, включающая '*Candidatus Vulcanisaeta moutnovskia* 768-28', оказалась способной к сульфатному дыханию, тогда как у *V. souniana*, *V. distribute*, *T. tenax* и *C. maquilingsensis* способность к диссимиляционной сульфатредукции отсутствовала. Филогенетический анализ ключевых генов сульфатредукции из '*Candidatus V. moutnovskia* 768-28' показал их архейное происхождение. Таким образом, представленные Е.Н. Фроловым результаты содержат новые сведения, принципиально важны и значимы: они позволяют значительно расширить представления о филогении сульфатредуцирующих архей и бактерий, содержат открытия и описания новых таксонов, описывают организмы, способные жить в кислых условиях при повышенных температурах и быть использованы в промышленных процессах.

Полученные экспериментальные и теоретические результаты резюмированы в разделе «Заключение» и представлены в шести выводах, полностью соответствующих поставленным задачам и цели исследования. В ходе выполнения диссертационной работы на основании наличия бактериальной и архейной ветвей генов сульфатредукции Е.Н. Фролов рассматривает возможность появления сульфатного дыхания ещё в раннем Архее у предположительного общего предшественника бактерий и архей (LUCA – last universal common ancestor). Данное предположение крайне интересно и прекрасно согласуется с имеющимися в мировой литературе геологическими данными по биологическому фракционированию стабильных изотопов серы в породе возрастом около 3,5 миллиардов лет.

Таким образом, представленная диссертационная работа Е.Н. Фролова связана с решением задач в области фундаментальных научных исследований и важна, прежде всего, для понимания закономерностей эволюции прокариот. Полученные диссертантом результаты крайне интересны и значимы в рамках этой проблемы. При этом диссертация представляет несомненную ценность и значение не только для фундаментальной микробиологии, включая микробную экологию и филогению, но и для отдельных областей микробиологии: разнообразия прокариот термальных и кислых биотопов,

условий и механизмов сульфатредукции, прикладного использования сульфатредукции. Дополнительным успешным и новым результатом работы является описание новых видов и рода.

Диссертация изложена четким и ясным языком и не вызывает вопросов по излагаемым методам, результатам и их трактовке. В качестве замечания к изложению: желательно привести мнение автора о возможных причинах, в связи с которыми внесение дополнительных субстратов в пробы источника Орешек не только не повысило интенсивность сульфатредукции, но снизило ее по сравнению с контрольной – в отличие от других исследованных термальных источников (стр. 72-73). Имеющиеся в тексте мелкие технические погрешности (пропуск буквы в названии главы на стр. 3, пропуск запятой на стр. 47 и т.п.) не снижают высокой ценности представленной диссертационной работы и не влияют на ее общую положительную оценку.

Диссертация Фролова Евгения Николаевича «Сульфатредуцирующие прокариоты кислых термальных источников полуострова Камчатка», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.03 – Микробиология, представляет законченное, оригинальное научное исследование, выполненное автором лично. Диссертация является завершенной научно-квалификационной работой, которая вносит ценный вклад в современную микробиологию. Она написана хорошим литературным языком, прекрасно оформлена и иллюстрирована. Выводы сделанные на основе экспериментальных данных диссертанта логичны и вполне соответствуют поставленной цели и задачам исследования, их достоверность не вызывает сомнений. Автореферат полностью отражает содержание диссертации. Основные материалы диссертации Е.Н. Фролова адекватно представлены в научных публикациях, в том числе в 3 статьях в научных журналах, входящих в перечень ВАК и в базу Web of Science. Ключевые данные представлены диссертантом также на международных и всероссийских конференциях, что подтверждает его личный вклад в выполнение всего объема диссертационного исследования, в получении всего массива экспериментальных результатов и в подготовку статей по теме.

Диссертационная работа Е.Н. Фролова производит исключительно благоприятное впечатление своим фундаментальным характером, широким спектром задействованных методов и подходов, тщательностью выполненных поисковых работ и анализа, а также новизной полученных результатов. Диссертация, несомненно, должна быть квалифицирована как законченное научное исследование, в котором соискатель решены все поставленные задачи. По своей актуальности, научной новизне и значимости полученных результатов диссертация «Сульфатредуцирующие прокариоты кислых

термальных источников полуострова Камчатка», представленная на соискание учёной степени кандидата биологических наук, является самостоятельной, законченной научно-квалификационной работой и полностью отвечает требованиям п. 9-14 Положения «О порядке присуждения учёных степеней» (Постановление Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 года с изменением Постановления Правительства РФ от 21 апреля 2016 года № 335), предъявляемым к диссертациям на соискание учёной степени кандидата наук, а ее автор Фролов Евгений Николаевич достоин присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.03 – микробиология.

Официальный оппонент  Вайнштейн Михаил Борисович
доктор биологических наук (специальность - 03.02.03 микробиология), профессор
(микробиология и биотехнология)

заведующий лабораторией физиологии микроорганизмов
Федерального государственного бюджетного учреждения науки
«Институт биохимии и физиологии микроорганизмов имени Г.К. Скрыбина
Российской академии наук»

Почтовый адрес: 142290, Россия, г. Пущино, пр-т Науки, 5

E-mail: vain@ibpm.pushchino.ru

Тел.: 8 (4967) 73-26-77

Подпись Вайнштейна Михаила Борисовича заверяю

Учёный секретарь ИБФМ РАН, д.б.н.



Т.А. Решетилова

«05» июня 2017 г.