

## ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию Лукиной Анастасии Петровны на тему «Выделение новых сульфидогенов из подземных водоносных горизонтов», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.11 – «Микробиология»

**Актуальность исследования.** Микроорганизмы глубинной биосферы - это уникальный объект исследования. Связано это с особенностями их местообитания и сложностью извлечения. Глубинные микробные сообщества могут автономно существовать в течение сотен миллионов лет и предположительно имеют низкие скорости метаболизма и очень длительное время генерации от сотен до тысяч лет, представлены организмами с различными типами метаболизма.

Из-за сложности извлечения и культивирования прокариот глубинной биосферы в современных исследованиях доминируют технологии высокопроизводительного секвенирования, метагеномных и биоинформатических методов.

С развитием молекулярной биологии роль классической микробиологии стала нивелироваться. Выделение чистых культур стало не столь необходимым для изучения метаболического потенциала и филогении прокариот. Многие исследователи довольствуются геномным сиквенсом и экологическими наблюдениями в природе. Однако совершенно ясно, что без чистых культур прокариот невозможно с полной уверенностью говорить о метаболизме, таксономии и физиологии. Именно наличие чистых культур позволяет выявить роль тех или иных прокариот в круговороте веществ в природе, в биотехнологических процессах, эволюции живых систем и т.д.

Все это и определяет актуальность работы Лукиной Анастасии Петровны, касающейся выделения и изучения новых термофильных сульфидогенов из районов подземных водоносных горизонтов Западной Сибири.

Для достижения поставленной цели были выдвинуты четыре задачи, включающие в себя круг работ по выделению микроорганизмов глубинной биосферы из различных местообитаний в накопительные и чистые культуры, способных к диссимиляционному восстановлению сульфата, а также по изучению фенотипических и генотипических свойств изолятов.

Цель и задачи, безусловно, отвечают запросам современной науки и биотехнологии.

**Обоснованность и достоверность полученных результатов.** В ходе выполнения диссертации выполнен значительный объем работы по выделению и культивированию прокариот.

В результате получен разноплановый фактический материал, который был систематизирован и изложен в доступной форме. При этом прослеживается внутренняя логика исследования – от выделения, идентификации и филогенетического анализа прокариот до исследования особенностей метаболизма новых изолятов.

Обоснованность полученных результатов подтверждена регистрацией новых таксонов в LPSN листе (List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature): спирохета описана как новый вид '*Longinema margulisiae*' sp. nov. нового рода '*Longinema*' и нового семейства '*Longinemataceae*'.

**Достоверность исследований** подтверждается рациональным выбором используемых методов. Результаты достаточно полно описаны в тексте диссертации и подробно отражены в сводных таблицах. Материалы диссертации представлены в 17 печатных работах, из которых

6 экспериментальных статей; индексируемых в базах данных Web of Science / Scopus и 11 тезисах конференций различного уровня.

**Научная новизна исследования** определяется получением новых данных, существенно расширяющих представление о биоразнообразии бактерий. Выделено и охарактеризовано 6 новых изолятов бактерий, из которых 3 имеют статус нового вида рода (*Thermodesulfovibrio* sp., *Thermoanaerosceptrum* sp. и *Desulfallas* sp.), а 1 имеет статус нового вида (*'Longinema margulisiae'* sp. nov.), нового рода (*'Longinema'*) и нового семейства (*'Longinemataceae'*).

Впервые получена чистая культура ранее некультивируемого *'Candidatus Desulforudis audaxviator'*. Впервые показана способность к диссимиляционной сульфатредукции у представителя рода *Thermoanaerosceptrum*.

Внесен большой вклад в таксономию не только термофильных прокариот, но прокариот в целом.

**Практическая значимость работы** определяется созданием уникальной коллекции штаммов термофильных анаэробных прокариот, которые могут служить объектами для исследования особенностей метаболизма с целью поиска термостабильных ферментов для решения биотехнологических задач.

Применены геномный и метагеномный подходы для культивирования и выделения в чистую культуру минорных компонентов микробного сообщества подземных водоносных горизонтов, а также показана возможность разработки, оптимизации среды и условий культивирования для термофильных бактерий глубинных водоносных горизонтов на основе геномных данных.

**Структура и содержание диссертации.** Диссертационная работа Лукиной А.П. изложена на 114 страницах, включая 7 таблиц и 23 рисунка, и списка литературы из 148 наименований. Диссертация построена по традиционному плану - состоит из введения, основной части, включающей 3 главы, заключения и выводов.

Во **«Введении»** автор описывает существующую научную проблему, актуализирует цель исследования и задачи, обосновывает необходимость выполнения исследований, формулирует основные положения, выносимые на защиту.

В **«Обзоре литературы»** автором цитируются работы из изучаемой области исследования. Обзор состоит из 1 главы. Глава посвящена рассмотрению и анализу различных подходов к культивированию «некультивируемых» микроорганизмов, характеристике и особенностям микроорганизмов подземной биосферы, в частности особое внимание было уделено сульфидогенам подземной биосферы и геохимической роли сульфатредуцирующих бактерий в глубинных подземных местообитаниях. В главе рассматривается биология термофильных анаэробных прокариот – истории их изучения, таксономии, физиологии, экологии и особенностям метаболизма.

Во 2-ой главе **«Материалы и методы исследования»** описаны объекты и методы исследования, используемые в работе. Эти методы адекватны поставленным задачам и включают современные микробиологические, молекулярно-биологические, аналитические, физико-химические методы и биоинформатические способы обработки данных.

**Результаты исследования** изложены в 3-ей главе. Изложение результатов автором проводится последовательно с отражением поставленных задач и сопровождается обсуждением полученных результатов.

В первой части этой главе Лукина А.П. описывает физико-химические характеристика проб воды с учетом таких показателей, как местоположение, происхождение водовмещающих пород, в частности, Мезозойского, Докембрийского и Кайнозойского отложений, глубина,