

ОТЗЫВ

Официального оппонента на диссертационную работу
Кашкак Елены Сергеевны «Разнообразие микробных сообществ
термальных источников Восточного Саяна», представленную на соискание
ученой степени кандидата биологических наук
по специальности 03.02.08 — экология

Актуальность темы исследования. Диссертация Е.С. Кашкак посвящена изучению микробных сообществ гидротермальных местообитаний Восточного Саяна. Целью исследования было изучение филогенетического и функционального разнообразия сообществ микроорганизмов в воде и микробных матах термальных источников.

Район Восточного Саяна является зоной молодого вулканизма и характеризуется наличием многочисленных термальных источников, связанных с выходом подземных вод. Геотермально нагреваемые подземные воды являются интересным объектом для изучения как экосистемы с уникальными физико-химическими свойствами, поддерживающие разнообразие экстремофильных прокариот.

Актуальность исследования обусловлена, во-первых, необходимостью более полной оценки филогенетического и метаболического биоразнообразия в гидротермах и, во-вторых, потенциальной возможностью идентификации и выделения микроорганизмов с ценными промышленными свойствами. Сообщества прокариот термальных источников могут рассматриваться как аналоги сообществ, распространенных на ранних этапах развития жизни на Земле, и представляют интерес для реконструкции процессов эволюции биосферы.

Научная новизна исследования. Работа характеризуется научной новизной. Ранее выполненные исследования микробных сообществ минеральных источников Восточного Саяна были основаны на классических методах микробиологии. Автором впервые охарактеризовано таксономическое и функциональное разнообразие сообществ прокариот из гидротерм с использованием молекулярно-биологических методов. Выделены в чистые культуры несколько новых бактерий цикла серы: (1) сульфатредуцирующие бактерии (99% сходства последовательности гена 16S рРНК с *Desulfovibrio alcoholivorans*); (2) серуокисляющие бактерии (99-100% сходства с *Thiobacillus*

thioparus). Выделены штаммы аноксигенных фотосинтетиков, в том числе пурпурных несерных, зеленых нитчатых и зеленых серных бактерий. Впервые из исследуемых местообитаний получены накопительные культуры, включающие железоредуцирующих бактерий *Thermincola ferriacetica* и *Calderihabitans maritimus*, и получен консорциум целлюлозолитических микроорганизмов.

Структура и объем работы. Диссертация Е.С. Кашкак изложена на 132 страницах машинописного текста, состоит из введения, трёх глав, заключения и выводов, содержит 36 рисунков и 15 таблиц, список иллюстративного материала. Работа хорошо структурирована, логично и грамотно изложена. Введение включает описание актуальности темы исследования и степени её разработанности, научной новизне, теоретической и практической значимости работы. Во введении также обозначены цель и задачи исследования и приведены основные положения, выносимые на защиту.

Обзор литературы информативен, при его подготовке обработан большой объем литературы, включая классические и современные источники по теме диссертации. Приведена характеристика минеральных источников как местообитания разнообразных сообществ микроорганизмов. Отдельный раздел посвящен методам молекулярной экологии для изучения разнообразия микроорганизмов в природных экосистемах и их применению для оценки биоразнообразия в минеральных источниках. Рассмотрено влияние экологических факторов на формирование микробных сообществ минеральных источников и участие микроорганизмов в биогеохимическом цикле серы.

Экспериментальную часть диссертации открывает глава 2, посвященная описанию объектов и методов исследования. Глава включает описание экосистем минеральных источников Восточного Саяна (по данным литературы) и краткое описание отбора проб. Физико-химические характеристики минеральных источников Хойто-Гол и Жойган были определены в ходе исследования и вынесены в главу 3 (описание результатов).

Полученные результаты представлены в главе 3. В изложении результатов соблюден логический порядок: от характеристики экологических условий в минеральных источниках, описания структуры сообществ микробных матов и воды к выделению и описанию новых культур. Полученные данные представлены в виде таблиц, диаграмм, фотографий клеток и культур. Филогенетическое положение выделенных штаммов показано на дендрограммах. В некоторых случаях был определен элементный состав минеральных отложений и пленок, образованных при культивировании микроорганизмов. Определены спектры поглощения клеток фототрофных бактерий.

Достоверность полученных результатов, степень обоснованности результатов и выводов. Е.С. Кашкак получены новые данные о структуре микробных сообществ в минеральных источниках Восточного Саяна. Для характеристики сообществ были применены денатурирующий градиентный гель-электрофорез (ДГГЭ) и метагеномный анализ с универсальными праймерами на основные филумы доменов Bacteria и Archaea. Экспериментальная работа по культивированию основных групп прокариот из воды и бактериальных матов позволила подтвердить результаты молекулярно-биологического скрининга и детально исследовать физиолого-биохимические характеристики нескольких изолятов. Выводы, сделанные по результатам исследования, полностью обоснованы.

Материалы диссертационной работы опубликованы в 11 печатных работах, 4 из них – в журналах, включенных в список ВАК («Микробиология», «Геология и геофизика» и др.). Результаты представлены на международных конференциях и конгрессах. Количество публикаций соответствует требованиям ВАК для кандидатских диссертаций.

Однако имеется ряд **замечаний** по диссертации, а именно:

1. Считаю излишним включение в обзор литературы главы «Микроорганизмы и их роль в природе» (глава 1.1). Очевидно, что эту тему невозможно раскрыть в 17 строках текста.
2. Цитирование учебников при составлении обзора литературы и руководств к практическим занятиям для студентов в главе «Объекты и методы исследования» не соответствует уровню кандидатской диссертации. Например, при описании метода определения содержания сульфидов дана ссылка на Практикум по микробиологии вместо ссылки на оригинальную статью (с. 49).
3. Встречаются неточности в ссылках на источники. Так, автор, ссылаясь на классические работы Герарда Майзера в области применения ДГГЭ, неправильно пишет его фамилию в англоязычной транскрипции как «Muuzizer» вместо «Muuzer».
4. Недостаточно подробно описаны методы, использованные для гидрохимического анализа (сс. 48-49) и методы изучения физиолого-биохимических свойств микроорганизмов (с. 54).
5. К сожалению, не всегда удачны формулировки, в особенности по отношению к биогеохимической роли микроорганизмов. Например, выражение «сообщество с выраженным серным циклом» звучит как вульгаризм. Вероятно, автор имеет в виду сообщество с преобладанием

типов энергетического метаболизма, основанных на использовании соединений серы. Третье защищаемое положение диссертации содержит фразу «В сульфидсодержащих гидротермах Хойто-Гол цикл серы выражен повсеместно», что также некорректно.

6. Выделенные штаммы сульфатредуцирующих бактерий не могут быть с уверенностью отнесены к виду *Desulfovibrio alcoholivorans*, т.к. последовательности гена 16S рРНК не идентичны, гомология составляет 99%. Это не исключает принадлежности изолятов к новому виду *Desulfovibrio*.

Высказанные замечания не умаляют достоинств работы и не снижают её научного качества.

Заключение. Диссертация «Разнообразие микробных сообществ термальных источников Восточного Саяна» содержит новые научные результаты и свидетельствует о личном вкладе автора в науку. Диссертация представляет собой научно-квалификационную работу, в которой содержится решение задачи, имеющей значение для развития микробиологии и касающейся оценки биоразнообразия и выделения новых экстремофильных прокариот, и соответствует требованиям, изложенным в действующем «Положении о присуждении ученых степеней». Считаю, что автор диссертации, Кашкак Елена Сергеевна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.08 — экология.

Официальный оппонент,
зав. кафедрой физиологии растений
и биотехнологии ТГУ,
доктор биологических наук,
профессор

Ольга Викторовна Карначук

«03» ноября 2016 г.

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Томский государственный университет»
634050, г. Томск, проспект Ленина, 36, тел./факс (3822)52397-65
e-mail: olga.karnachuk@green.tsu.ru

