

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

на диссертационную работу Фроловой Анастасии Андреевны
«Новые анаэробные алкалофильные микроорганизмы из наземных грязевых вулканов», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.11. – Микробиология

Диссертационная работа Фроловой Анастасии Андреевны посвящена комплексной филогенетической и физиолого-биохимической характеристике новых изолятов анаэробных алкалофильных микроорганизмов из наземных грязевых вулканов. Представители этой группы бактерий обладают значительным филогенетическим и метаболическим разнообразием микроорганизмов. Эти организмы распространены в специфических экологических нишах - наземных грязевых вулканах, которые геологически связаны с подземными залежами нефти и природного газа и содержат различные неорганические и органические соединения, которые могут использоваться в качестве доноров и акцепторов электронов в микробном метаболизме. Грязевой вулканизм играет существенную роль в балансе метана в атмосфере. Они представляют интерес и с точки зрения эволюции – велика их роль в генезисе древних осадочных отложений и рудных образований. Очень гибкий метаболизм позволяет этим микроорганизмам доминировать в специфических природных условиях.

Несмотря на то, что анаэробные алкалофильные микроорганизмы из наземных грязевых вулканов обладают значительным биотехнологическим потенциалом, к началу работ соискателя с коллегами оставалось мало изученным биоразнообразие этих организмов.

Все вышеперечисленное свидетельствует об актуальности диссертационного исследования А.А. Фроловой.

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 валидной публикацией и регистрацией новых имен в LPSN листе (List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature): *Anaerotalea alkaliphila* описана как новый вид '*Anaerotalea alkaliphila*' sp. nov. нового рода '*Anaerotalea*'; *Pseudodesulfovibrio alkaliphilus*, '*Sulfurospirillum tamanensis*', '*Desulfobotulus pelophilus*' описаны, как новые виды.

Достоверность исследований подтверждается рациональным выбором используемых методов. Результаты достаточно полно описаны в тексте

диссертации и подробно отражены в сводных таблицах. Материалы диссертации представлены в 5 печатных работах, из которых все индексируются в базах данных Web of Science / Scopus, и 3 тезисах конференций различного уровня.

Научная новизна исследования определяется получением новых данных, существенно расширяющих представление о биоразнообразии бактерий. Выделено и охарактеризовано 5 новых изолятов бактерий, из которых 1 имеет статус нового вида нового рода *Anaerotalea* gen. nov., а 4 имеют статус нового вида *Pseudodesulfovibrio alkaliphilus* sp. nov., '*Sulfurospirillum tamanensis*' sp. nov., '*Desulfobotulus pelophilus*' sp. nov. и '*Petrocella pelovolcani*' sp. nov.

Внесен большой вклад в таксономию не только анаэробных алкалофильных микроорганизмов, но прокариот в целом.

Практическая значимость работы определяется созданием уникальной коллекции штаммов анаэробных алкалофильных микроорганизмов из наземных грязевых вулканов, которые могут служить объектами для исследования особенностей метаболизма с целью поиска термостабильных ферментов для решения биотехнологических задач.

Экстремофильные микроорганизмы, участвующие в глобальных циклах серы, азота и углерода, могут являться потенциальными источниками ферментов, представляющих ценность для использования в производствах с высокими значениями pH среды. Выделенные штаммы могут служить объектами для изучения путей их энергетического и конструктивного метаболизма путем полногеномного секвенирования, транскриптомики и протеомики. Полученные в работе результаты могут быть использованы при написании справочников, учебников, учебно-методических пособий и разработке курсов лекций по микробиологии для студентов высших учебных заведений.

Структура и содержание диссертации. Диссертация А.А. Фроловой построена по общепринятому плану (введение, обзор литературы, объекты и методы исследования, результаты и их обсуждение, заключение, выводы, список литературы), изложена на 207 страницах машинописного текста и включает 22 рисунка и 21 таблицу. Диссертация и автореферат аккуратно оформлены и содержат мало опечаток; автореферат адекватно отражает содержание работы.

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. Очень информативный обзор литературы, состоящий из двух глав, объемом 57 страниц, полностью соответствует теме диссертации, хорошо обосновывает ее актуальность и содержит необходимые сведения об истории, строении, распространении и микробном сообществе грязевых вулканов. Большое внимание уделено достижениям в изучении филогенетического, физиологического

и экологического разнообразия сульфат-, нитратвосстанавливающих алкалофильных микроорганизмов, а также физиологических групп алкалофильных бактерий, участвующих в процессах брожения. Судя по литературному обзору и списку литературы, диссертационная работа А.А. Фроловой выполнялась в условиях серьезной научной конкуренции с сильными зарубежными группами ученых, что само по себе является основанием для оценки темы диссертации как актуальной и имеющей важное научное значение.

Экспериментальной части работы посвящены 73 страницы, т.е. более половины текста диссертации.

В главе 3 «Объекты и методы исследования» приведена достаточно подробная информация о методах микробиологии, биохимии, химии и молекулярной биологии, комплексное использование которых для подробной характеристики новых штаммов анаэробных алкалофильных микроорганизмов из наземных грязевых вулканов позволило автору получить достоверные научные данные, обладающие существенной научной новизной.

Раздел «Результаты и их обсуждение» представлен одной главой, но состоящей из 6 подразделов.

Первые пять разделов посвящены выделению и описанию новых изолятов с использованием полифазного анализа, включающего изучение фенотипических, физиолого-биохимических, генотипических и филогенетических характеристик изолятов. Для всех изолятов получены геномные сиквенсы и проанализированы.

В первом разделе четвертой главы диссертации описано **Выделение и описание новой алкалофильной анаэробной бактерии, сбразивающей углеродные соединения *Anaerotalea alkaliphila* gen. nov., sp. nov.** Исследована морфология, культуральные, а также генотипические свойства штамма F-3apT. Установлено его филогенетическое положение и дана сравнительная характеристика с представителями других родов порядка *Clostridiales*. Все это позволило установить таксономический статус штамма F-3apT, *Anaerotalea alkaliphila* gen. nov., sp. nov.

Во втором, третьем, четвертом и пятом разделе четвертой главы описываются новые виды алкалофильных анаэробных бактерий - **сульфатвосстанавливающей бактерии *Pseudodesulfovibrio alkaliphilus* sp. nov.**, алкалофильной галотолерантной **нитратвосстанавливающей бактерии *Sulfurospirillum tamanensis* sp. nov.**, алкалофильной **сульфатвосстанавливающей бактерии *Desulfobotulus pelophilus* sp. nov.** и алкалофильной **анаэробной бактерии, сбразивающей углеродные соединения *Petrocella pelovolcani* sp. nov.**

Шестой раздел четвертой главы посвящен географическому распространению родов микроорганизмов, исследованных в данной работе и их встречаемости в различных местообитаниях.

Диссертация Фроловой А.А. представляет собой классическую добротную работу по микробислогии, выполненную с использованием новых современных подходов.

Как уже отмечалось, сформулированные автором основные научные положения и выводы новы, достоверны и хорошо аргументированы.

Список использованной литературы включает 271 наименование. Примерно две трети использованных источников литературы опубликована после 2000 г., что служит одним из показателей современного уровня работы А.А. Фроловой.

Перечисленные выше результаты содержат несомненные элементы **научной новизны** поскольку все они были получены впервые или примерно одновременно с другими исследованиями. Оригинальность и высокий научный уровень данных результатов подтвержден публикациями в ведущих научных журналах по профилю исследований. Основные результаты исследований А.А. Фроловой полностью опубликованы в 8 научных работах. Среди этих работ 5 статей опубликованы в авторитетных рецензируемых изданиях - в журнале *Extremophiles*, *Antonie van Leeuwenhoek*, *Микробиология*. Результаты диссертационного исследования докладывались на трех научных конференциях и симпозиумах с международным участием, проходивших в Российской Федерации (Саранск, 2019, Москва, 2019; 2022).

Автореферат диссертации полностью соответствует содержанию работы. **Личный вклад** автора, самостоятельно получившего большую часть экспериментальных результатов, четко определен в тексте автореферата и самой работы. В частности, оценивая квалификационный аспект представленной диссертации, следует отметить способности автора к быстрому освоению различных методов и приборов для их реализации.

В заключение хотелось бы высказать ряд **замечаний и пожеланий**:

1. По тексту часто встречается неправильное написание ферментов класса оксидоредуктаз, гидратаз. Например, малатдегидрогеназа, надо писать одним словом, а в тексте написано в два слова: малат и дегидрогеназа и тд по тексту.
2. Верификация геномных данных осуществлялась в основном путем проверки способности бактерий к росту на средах определенного состава. Возможно, в качестве дополнительного подтверждения, стоило бы определить также активность ключевых ферментов основных метаболических путей или уровень экспрессии кодирующих их генов.
3. В диссертации упоминается, что *Sulfurospirillum tamanensis* sp. nov. T05b способен к «малатному дыханию» - использованию сульфида в качестве донора и малата или фумарата в качестве акцептора электронов. Говорится, что при этом имеет место процесс диспропорционирования малата и фумарата. Отличается ли классическое дыхание на малате и фумарате от их

диспропорционирования? Какие задействованы ферментные системы в этих процессах? В диссертации подчеркивается, что способность бактерий к «малатному дыханию» редкий и малоизученный процесс. Возможно, его подробное рассмотрение усилило бы научную значимость работы.

Разумеется, эти недочеты не принципиальны и не умаляют исключительной научно-практической значимости полученных результатов, правомерности основных защищаемых положений и выводов данной диссертационной работы.

Таким образом, диссертационная работа А.А. Фроловой представляет собой законченную научно-исследовательскую работу, которая позволила внести вклад в таксономию и метаболическое разнообразие новых анаэробных алкалофильных микроорганизмы из наземных грязевых вулканов. Содержание диссертации соответствует паспорту специальности 1.5.11. «Микробиология». Вышеизложенное позволяет заключить, что диссертация «**Новые анаэробные алкалофильные микроорганизмы из наземных грязевых вулканов**» по актуальности, научной новизне и научно-практической значимости соответствует критериям, установленным требованиями ВАК п. 9-11, 13, 14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», введенного постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842 (ред. от 25.01.2024), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а сама автор, Фролова Анастасия Андреевна, заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.11. «Микробиология».

Профессор кафедры биохимии и физиологии клетки медико-биологического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Воронежский государственный университет»,
д.б.н, профессор
по специальности «Микробиология»

Маргарита Юрьевна Грабович

Дата составления отзыва – 11.11.2024

Адрес: Россия, 394018 Воронеж, Университетская пл, 1
Тел: +7 (473)220-88-77; e-mail: margarita_grabov@mail.ru



федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Воронежский государственный университет» (ФГБОУ ВО «ВГУ»)	
подпись	<i>Грабович М.Ю.</i>
верю	<i>ру специалист</i>
	должность
	<i>Сивискин 12.11.2024</i>
подпись, расшифровка подписи	