

Отзыв

на автореферат диссертации Ошурковой Виктории Игоревны «Метанобразующие археи из многолетнемерзлых отложений Арктики», представленной на соискание степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.03. – Микробиология

Низкотемпературные экосистемы играют важную роль в формировании климата Земли и, в частности, в функционировании биогеохимического цикла метана. В последние годы активизировались исследования процессов образования и окисления метана в холодных экосистемах, однако сведения о филогенетическом и метаболическом разнообразии метаногенных архей, участвующих в этих процессах в многолетнемерзлых отложениях, в настоящее время отрывочны и не позволяют достоверно оценить вклад таких экстремально холодных и широко распространённых экосистем в эмиссию биогенного метана в атмосферу. В связи с этим, диссертационная работа В.И. Ошурковой, посвящённая исследованию состава архейных микробных сообществ многолетнемерзлых отложений Арктики и описанию новой метаногенной археи, входящей в состав оного из таких сообществ, представляет несомненный научный интерес и соответствует одной из актуальных проблем современной микробиологии.

В результате работы Ошурковой В.И. установлены наиболее распространённые филотипы метаногенных архей в нескольких различных образцах многолетнемерзлых отложений Арктики, определён состав бинарной метаногенной культуры, ранее выделенной из одного из таких образцов, выделены в чистую культуру новые виды психроактивных метаногенных архей *Methanosarcina gilichinskii* и их бактериальных органотрофных спутников *Sphaerochaeta associata*, изучены метаболизм этих организмов и влияние бактериального спутника на метаногенную активность *M. gilichinskii*, исследовано влияние перхлоратов на активность новой метаногенной археи, методом МАЛДИ-времяпролетной масс-спектрометрии

впервые определены белковые профили нового штамма и нескольких коллекционных штаммов метаногенных архей, что позволило выявить новые перспективные белковые маркеры для видовой идентификации представителей родов *Methanobacterium* и *Methanosarcina*. Работа выполнена с применением широкого спектра современных микробиологических и молекулярно-биологических методов, достоверность полученных результатов не вызывает сомнений, однако имеется ряд замечаний в отношении обсуждения полученных результатов и оформления текста автореферата.

В первую очередь, хотелось бы отметить недостаточность приведённых данных для корректного утверждения о влиянии бактерий *S. associata* и перхлоратов на рост метаногенных архей. Из приведённых данных возможно только сделать вывод о влиянии этих факторов на интенсивность метаногенеза, корреляция которой с приростом биомассы у различных метаногенов может варьировать. Следовало бы ограничиться описанием влияния этих факторов на процесс метаногенеза или привести данные по изменению концентрации биомассы метаногенов. В большей степени это замечание относится к экспериментам с перхлоратом, который в условиях описанного эксперимента (в присутствии ацетата) может становиться ключевым акцептором электронов и обеспечивать рост исследуемых архей, сопряжённый с окислением ацетата и конкурирующий с процессом метаногенеза. Таким образом, ингибиование ацетокластического метаногенеза в присутствии внешнего акцептора электронов совершенно не означает ингибиование роста микроорганизма. Для подобного утверждения необходимо приводить данные об изменении концентрации биомассы в присутствии перхлоратов.

Также, некорректно утверждение автора о возможности использования перхлоратов в качестве акцепторов электронов для окисления метана только на основании данных о снижении концентрации перхлората в культуре. Для

утверждения об использовании акцептора электронов в энергетическом метаболизме необходимо привести данные о корреляции потребления перхлората с приростом биомассы микроорганизма. Соответственно, недостаточно данных и для предположения о связи потребления перхлоратов с окислением метана – для этого необходимы данные о динамике потребления метана перхлорат-восстанавливающей культурой и о динамике её роста в этих условиях.

Из прочих замечаний по тексту хотелось бы отметить следующее.

1. При описании задач исследования предпочтительнее использовать термин «разнообразие некультивируемых архей» вместо «некультивируемого разнообразия». Не вполне ясно, почему задачей исследования при достаточно широкой заявленной теме стало выделение именно одной метаногенной археи и её бактериального спутника. Очевидно, что задачей являлась характеристика ранее полученной перспективной бинарной культуры, которая была успешно проведена автором. Именно это следовало бы указать в качестве одной из задач исследования. Также, желательно конкретизировать задачу по изучению «особенностей роста» метаногенов как астробиологических моделей. В работе было изучено только одно конкретное свойство, имеющее отношение к проблемам астробиологии – метаболическая роль перхлоратов у психроактивной археи.

2. Некорректно предположение о способности обнаруженных филотипов, относящихся к классу(!) *Thermoplasmata*, к метаногенезу на основании наличия одного только гена *mcrA* у отдельных представителей этого класса. Представители этого обширного класса разнообразны метаболически, а наличие гена *mcrA* является необходимым, но недостаточным условием для метаногенной активности микроорганизма.

3. Не вполне понятно использование окраски по Грамму в качестве одной из характеристик нового штамма архей.

4. Не понятно утверждение об усложнении молекулярной идентификации организмов из-за их анаэробного культивирования. В

настоящее время описано широкое разнообразие анаэробных микроорганизмов, молекулярная идентификация которых является рутинной микробиологической практикой. Это утверждение отвлекает от действительно важного результата работы – адаптации метода МАЛДИ-идентификации к метаногенным археям.

5. Имеются отдельные стилистические ошибки, мешающие восприятию текста. «Объектами исследования была...» - из автореферата очевидно, что не только бинарная культура, но и архейные сообщества мерзлоты были объектами исследований, это в соответствующем разделе не указано. «Свидетельства о возможном использовании... в качестве акцептора электронов» - не понятно, что имеется в виду, стимуляция роста, потребление акцептора, образование продуктов его восстановления? «Температурах, соответствующих каждому штамму» - имеются в виду температуры, соответствующие оптимуму роста? «О скорости роста... судили... по образованию метана» - скорости роста и метаногенеза могут существенно отличаться, их корреляция в автореферате не приведена. «Концентрацию перхлоратов определяли на хроматографе...» - важно не название хроматографа, а тип хроматографии и, хотя бы, тип носителя для разделения целевых веществ. «Амплификация генов» - лучше использовать термин «амплификация ДНК», как далее в тексте автореферата.

Указанные замечания, тем не менее, не влияют на достоверность приведённых данных, на соответствие полученных результатов и выводов заявленным целям и задачам исследования, а также на научную значимость работы.

Таким образом, данная диссертационная работа по теоретическому уровню, объему проведенных исследований, научной новизне и практической значимости отвечает критериям, сформулированным в п. 9 раздела II «Положения о присуждении ученых степеней» от 24 сентября 2013 г № 842, а автор диссертации, Ошуркова Виктория Игоревна, заслуживает

присуждения искомой ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.03 — микробиология.

Старший научный сотрудник

Федерального государственного учреждения Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук

кандидат биологических наук

Гаврилов Сергей Николаевич

адрес: 119071 Российская Федерация, г. Москва,
Ленинский проспект, дом 33, строение 2, <http://fbras.ru>
тел. +7 (499) 135-44-58,
e-mail: sngavrilov@gmail.com

14.11.2017 г.

Решение руки Гаврилова С.Н.
заявлено: 16/11/2017 (Сударухеноков Г.Г.)
(секретарь)
16.11.2017

