

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу

Ошурковой Виктории Игоревны

на тему: «Метанобразующие археи из многолетнемерзлых отложений Арктики»

по специальности 03.02.03 - Микробиология

на соискание ученой степени кандидата биологических наук

Актуальность избранной темы. Диссертационная работа Ошурковой Виктории Игоревны посвящена исследованию низкотемпературной экосистемы - тундровой зоне Арктики, являющейся важным источником биогенного метана. Низкотемпературные

экосистемы играют важную роль в формировании климата Земли и баланса парниковых газов в атмосфере. В дополнение к сезонно оттаивающему верхнему слою большое количество метана обнаружено в толщах многолетнемерзлых отложений (ММО), так называемой «вечной мерзлоте», которые никогда не оттаивали после замерзания.

Биогенное происхождение обнаруженного в ММО метана было подтверждено ранее изотопным составом углерода, который был легким (-64 до -99 ‰). Изучение разнообразия и распределения архей, включая метаногенов, в многолетнемерзлых экосистемах началось приблизительно 25 лет назад. Были выделены и описаны новые метаногенные виды родов *Methanosaerina* и *Methanobacterium* в плиоценовой и плейстоценовой вечной мерзлоте, которые ответственны за образование метана в экстремальных условиях. Однако знания о микробном разнообразии все еще остаются крайне ограниченными, поэтому исследование некультивируемого разнообразия архей в ММО и выделение новых микроорганизмов является актуальной задачей. Обнаружение в атмосфере Марса метана привлекло внимание исследователей к метаногенным археям, как модельным объектам. В решении проблем астробиологии вечномерзлые грунты являются уникальной моделью такого внеземного местообитания для живых организмов, а выделенные из ММО микроорганизмы могут быть хорошей моделью для изучения возможной инопланетной жизни.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации. Выводы диссертации сделаны на основании экспериментальных данных, полученных соискателем, и являются полностью обоснованными.

Достоверность и новизну исследования, полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации. Исследования проведены тщательно, получены новые достоверные результаты, которые не вызывают сомнений.

Значимость для науки и практики полученных автором результатов. Впервые исследовано некультивируемое разнообразие архей в многолетнемерзлых отложениях Арктики. Выделены и описаны новый вид метанобразующего археона “*Methanosarcina gilichinskii*” JL01 и его бактериального спутника *Sphaerochaeta associata* GLS2^T (который тоже оказался новым видом рода *Sphaerochaeta*), выделенных из ММО голоценового возраста. Изолятами психротолерантных микроорганизмов представляют большой научный интерес для сравнения их физиологии и геномов с геномами мезофильных и термофильных штаммов, для формирования микробных сообществ, способных к деградации загрязняющих природу веществ в холодном климате, для разработки энергосберегающих технологий обработки сточных вод при низких температурах, а также как источники холдоактивных ферментов.

Впервые проведен МАЛДИ масс-спектрометрический анализ метанобразующих бактерий фонда Всероссийской коллекции микроорганизмов. Показано, что данный метод может использоваться для экспресс-определения таксономической принадлежности новых метанобразующих архей. Созданная база белковых профилей метаногенных архей может использоваться для идентификации новых изолятов. Исследовано влияние перхлоратов, как компонента грунта Марса, на рост и образование метана метаногенными археями, выделенными как из многолетнемерзлых отложений, так и из наземных источников. Метаногены из мерзлоты оказались более устойчивы к действию этих окислителей. Это информация может быть использована в будущем при исследовании Марса.

Конкретные рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации.

Результаты диссертации могут быть использованы для формирования микробных сообществ, способных к деградации загрязняющих природу веществ в холодном климате, как вклад в создание энергосберегающих технологий обработки сточных вод при низких температурах, а также как источники холдоактивных ферментов.

Оценить содержание диссертации, ее завершенность.

Диссертация В.И. Ошурковой изложена на 158 страницах машинописного текста, состоит из введения, 5 глав, заключения и выводов, содержит 28 рисунков и 15 таблиц, 2 приложения с дополнительными таблицами, список литературных сокращений.

Работа хорошо структурирована, логично и ясно изложена.

В обзоре литературы, изложенном на 44 страницах, дана подробная характеристика вечной мерзлоты как экстремального места обитания микроорганизмов, приведены современные сведения о микробном разнообразии в экосистемах многолетнемерзлых отложений, дан список бактерий и архей, выделенных к настоящему времени из экосистем ММО Арктики, и приведена таблица микробной активности чистых культур и сообществ вечной мерзлоты при отрицательных температурах. Очень хорошо написана глава о домене *Archaea*. Описаны эволюция и классификация архей, некультивируемое разнообразие архей в вечной мерзлоте. Отдельно описаны метанобразующие археи, их общая характеристика, современные представления об их филогении, метаболической кооперации с другими микроорганизмами и приведена таблица с перечнем метаногенов из холодных экосистем и их температурные характеристики. Интересен короткий раздел о потенциальной возможности существования психрофильных метаногенов как одной из форм жизни на Марсе. Список литературы содержит 315 ссылок, включая новейшие.

В разделе Материалы и методы описаны все методы, использовавшиеся при проведении работы.

Глава Результаты и обсуждение в целом не вызывает вопросов. Хорошо описано создание библиотек клонов генов 16S рРНК и гена *mcrA*. Несомненным научным достижением Виктории Игоревны Ошурковой является выделение из образцов голоценовых многолетнемерзлых отложений Колымской низменности (северо-восток России) сначала бинарной культуры, а затем чистых культур метаносарцины и ее спутника сферохеты.

Тщательно охарактеризованы штамм метаносарцины ее спутника сферохеты, которая не только успешно росла вместе с метаносарциной без внесения дополнительных субстратов, но и стимулировала рост метаносарцины и метанообразование. Но в описании эксперимента о стимулирующем влиянии сферохеты на метанообразование метаносарциной не указана температура, при которой проводили эксперимент. В параграфе 4.3. «Среды и условия культивирования» было написано, что культивирование метаносарцины проводили при 6 и 20°C. Можно догадаться, что совместное культивирование проводили при 20°C или выше, так как сферохета при температуре ниже 20°C не растет. Но нужно было указать точную температуру.

Интересен раздел 5.4. Эксперименты по восстановлению перхлората метаногенными археями были проведены впервые. Показана различная устойчивость метаногенов к перхлорату. Здесь есть замечание. На странице 97 написано «Исключение составил штамм *Methanosarcina mazei* S-6^T, рост которого на среде с перхлоратом натрия был выше, чем на обычной среде». Во-первых, выражение «рост был выше» – неудачное. Особенно по отношению к образованию метана. А во-вторых, на рисунке 22 А (стр.98) видно, что, также как и при росте других штаммов, штамм *Methanosarcina mazei* S-6^T образовывал метана больше в контрольной среде без перхлората. Может быть, это из-за ошибки при обозначении кривых?

Отметить достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации, высказать мнение о научной работе соискателя в целом.

Помимо сделанных небольших замечаний, следует отметить, что в работе кое-где пропущены запятые и встречаются грамматические ошибки, многие из которых можно считать описками. Иногда встречаются неудачные выражения. Высказанные замечания не снижают научной ценности исследования.

Очень цельно выглядит работа по выделению и описанию метаносарцины и сферохеты и их совместному культивированию (выводы 2 и 3). Хочу отметить, что автор проявил излишнюю скромность при формулировании выводов. Исследование влияния перхлоратов на метаногенные археи было проведено впервые (вывод 4) и вполне закономерно этот вывод мог бы начинаться со слов «впервые». То же касается и вывода 5. Впервые мало использующимся еще методом времепролетной МАЛДИ масс-спектрометрии были определены белковые профили клеток 39 видов метанобразующих архей фонда ВКМ, относящихся к 24 видам 6-ти родов. Результаты этой работы показывают принципиальную возможность использования этого метода для экспресс-определения новых представителей метанобразующих архей с точностью до вида.

Заключение о соответствии диссертации критериям, установленным Положением о порядке присуждения ученых степеней.

Тема диссертации Виктории Игоревны Ошурковой полностью соответствует заявленной специальности «03.02.03 – микробиология», представляет собой законченное, оригинальное научное исследование. Выводы, сделанные на основе экспериментальных данных, логичны и вполне соответствуют поставленной цели и задачам исследования, их достоверность не вызывает сомнений. Автореферат полностью отражает содержание

диссертации. Основные материалы диссертации В.И. Ошурковой представлены в научных публикациях, в том числе, в 3 статьях в научных журналах, входящих в перечень ВАК и в базу Web of Science. Основные данные представлены диссидентом на международных и всероссийских конференциях, что подтверждает его личный вклад в выполнение диссертационной работы и подготовку статей.

Считаю, что диссертация Ошурковой Виктории Игоревны на соискание ученой степени кандидата биологических наук является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение задач, имеющих существенное научное значение для микробиологии, а также может найти практическое применение для развития страны, что соответствует требованиям п.7 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», а ее автор заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.03 - микробиология.

Официальный оппонент:

Старший научный сотрудник лаборатории Микробиологии антропогенных мест обитания, Институт Микробиологии им. С.Н. Виноградского, Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской Академии наук, кандидат биологических наук по специальности 03.02.03- Микробиология,

Паршина София Николаевна

14 ноября 2017г.

Данные об оппоненте:

Паршина София Николаевна
Адрес: 119071 Москва, Ленинский пр-т, 33, 2
Телефон: 8 499 1351229, добавочный 713
Тел. мобильный: 8 905 797 60 31
E-mail: sonjaparshina@mail.ru

Подпись Паршиной Софии Николаевны заверяю

Зам. Ученого секретаря ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской Академии наук

Д.б.н.

Тел. 8 499 135 22 20

Email: myssiakina@inmi.ru

Мысякина И.С.

