

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д002.247.02 по защите диссертаций на соискание ученой степени доктора наук, на соискание ученой степени кандидата наук на базе Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук» по диссертации Щербаковой Виктории Артуровны на соискание ученой степени доктора биологических наук.**

Решение диссертационного совета от 17 октября 2018 г. №12 о присуждении **Щербаковой Виктории Артуровне**, гражданке Российской Федерации, ученой степени доктора биологических наук

Диссертация Щербаковой Виктории Артуровны «Анаэробные бактерии и археи в многолетнемерзлых отложениях Арктики» по специальности - 03.02.03. «Микробиология» принята к защите 27 июня 2018 г. протокол № 10 диссертационным советом Д002.247.02 на базе Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук», 119071, Москва, Ленинский проспект, д.33, стр.2. Совет утвержден Министерством образования и науки Российской Федерации (Минобрнауки России) приказом № 205/нк от 16.03.2017 г.

Соискатель Щербакова Виктория Артуровна, 1959 года рождения, гражданка РФ, в 2000 г. защитила кандидатскую диссертацию «Анаэробная биodeградация алкилбензолсульфонатов» по специальности 03.0.2.03 «Микробиология» (диссертационный совет при Институте биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина РАН). Диссертацию «Анаэробные бактерии и археи в многолетнемерзлых отложениях Арктики» соискатель Щербакова В.А. выполняла в лаборатории анаэробных микроорганизмов Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина Российской академии наук (ИБФМ РАН). В настоящее время соискатель работает в должности зав.лабораторией анаэробных микроорганизмов ИБФМ РАН.

Официальные оппоненты:

Карначук Ольга Викторовна, доктор биологических наук, профессор, зав. кафедрой физиологии растений и биотехнологии Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский Томский государственный университет»;

Земская Тамара Ивановна, доктор биологических наук, заведующий лабораторией микробиологии углеводов Федерального государственного бюджетного учреждения науки Лимнологический институт Сибирского отделения Российской академии наук;

Петрова Майя Александровна, доктор биологических наук, заведующий сектором анализа и хранения микроорганизмов Федерального государственного бюджетного учреждения науки

Институт молекулярной генетики Российской академии наук, дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт общей и экспериментальной биологии Сибирского отделения Российской академии наук - в своем положительном заключении указала, что диссертационная работа представляет собой законченную научно-квалификационную работу, которая вносит существенный вклад в познание закономерностей распространения и функционирования микробных сообществ многолетнемерзлых отложений Арктики. Работа соответствует требованиям п.9-14 Положения «О порядке присуждения ученых степеней», утвержденным Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. №842 (ред. От 28.08.2017), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук, а её автор, Щербакова В.А., заслуживает присуждения искомой ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.02.03 Микробиология.

Выбор официальных оппонентов обусловлен тем, что они являются признанными специалистами в области микробиологии. Так, доктор биологических наук Карначук Ольга Викторовна известна своими исследованиями в области физиологии, таксономии бактерий цикла серы, микробного минералообразования. Доктор биологических наук Земская Тамара Ивановна известна своими работами в области исследования микробных сообществ Байкала. Доктор биологических наук Петрова Майя Александровна известна своими работами в области изучения генетических особенностей бактерий из многолетнемерзлых местообитаний. Квалификация оппонентов подтверждается наличием большого числа публикаций в цитируемых российских и зарубежных журналах. Выбор ведущей организации связан с тем, что в учреждении проводятся исследования в области микробной таксономии и филогении, что также подтверждается наличием соответствующих публикаций. Высокая квалификация оппонентов и ведущей организации позволяет объективно оценить научную и практическую ценность диссертационной работы.

Основные результаты диссертационной работы изложены в 32 статьях в рецензируемых научных изданиях, которые удовлетворяют требованиям п.11 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. №842:

1. **Щербакова В.А.**, Образцова А.Я., Лауринавичюс К.С., Котельникова С.В., Акименко В.К., Навоа М.К., Круз М. Физиологические свойства термофильных метаносарцин, выделенных из активного ила метантенков. Микробиология. 1991. 60(3): 466-471.
2. **Щербакова В.А.**, Лауринавичюс К.С., Образцова А.Я., Акименко В.К. Влияние окислительно-восстановительного потенциала среды на образование метана термофильными метаногенами. Микробиология. 1997. 66(6): 767-772.
3. **Щербакова В.А.**, **Вайнштейн М.Б.** Образование метана сульфатвосстанавливающей бактерией *Desulfosarcina variabilis*. Микробиология. 2000. 69(3): 341-344.
4. Ривкина Е.М., Лауринавичюс К.С., Гиличинский Д.А., **Щербакова В.А.** Метанобразование в вечномёрзлых отложениях. Докл. АН. 2002. 383(6): 830-833.
5. Gilichinsky D., Rivkina E., **Shcherbakova V.**, Laurinavichuis K., Tiedje J. Supercooled water brines within permafrost - an unknown ecological niche for microorganisms. A model for astrobiology. Astrobiology. 2003. 3(2): 331-341.

6. Rivkina E., Laurinavichius K., McGrath J., Tiedje J., **Shcherbakova V.**, Gilichinsky D. Microbial life in permafrost. *Advan. Space Res.* 2004. 33: 1215-1221.
7. Ривкина Е.М., **Щербакова В.А.**, Лауринавичюс К.С., Холодов А.Л., Гиличинский Д.А. Метанобразование в вечномёрзлых отложениях различного возраста. Эмиссия и сток парниковых газов на территории Северной Евразии (под ред. Н.П. Лаверова). 2004. Пущино. 220-226.
8. Гиличинский Д.А., Ривкина Е.М., **Щербакова В.А.**, Лауринавичюс К.С., Комаров И.А., Волков Н.Г. Криопэги и их обитатели - модель для астробиологии. *Криосфера Земли.* 2003. 7(3): 73-84.
9. **Shcherbakova V.**, Rivkina E., Laurinavichuis K., Pecheritsyna S., Gilichinsky D. Physiological characteristics of bacteria isolated from water brines within permafrost. *Int. J. Astrobiol.* 2004. 3(1): 37-43.
10. Gilichinsky D., Rivkina E., Bakermans C., **Shcherbakova V.**, Petrovskaya L., Ozerskaya S., Ivanushkina N., Kochkina G., Laurinavichuis K., Pecheritsyna S., Fattakhova R., Tiedje J. Biodiversity of cryopegs in permafrost. *FEMS Microbiol. Ecol.* 2005. 53: 117-128.
11. **Shcherbakova V.**, Chyvil'skya N., Rivkina E., Pecheritsyna S., Laurinavichius K., Suzina N., Osipov Yu., Lysenko A., Gilichinsky D., Akimenko V. Novel psychrophilic anaerobic spore-forming bacterium from the overcooled water brine in permafrost: description *Clostridium algoriphilum* sp. nov. *Extremophiles.* 2005. 9: 239-246.
12. Трутко С.М., Дорофеева Л.В., **Щербакова В.А.**, Чувильская Н.А., Лауринавичюс К.С., Бинюков В.И., Островский Д.Н., Хинтц М., Виснер И., Иомаа Х., Акименко В.К. Распространение немевалонатного и мевалонатного пути биосинтеза изопреноидов среди бактерий различных систематических групп. *Микробиология.* 2005. 74(1): 185-190.
13. Gilichinsky D., Wilson G., Friedmann E. I., McKay C. P., Sletten R., Rivkina E., Erokhina L., Ivanushkina N., Kochkina G., **Shcherbakova V.**, Soina V., Spirina E., Vorobyova E., Fyodorov-Davydov D., Hallet B., Ozerskaya S., Sorokovikov V., Laurinavichyus K., Shatilovich A., Chanton J., Ostroumov V., Tiedje J. Microbial populations in antarctic permafrost: implication for astrobiology. *Astrobiology.* 2007. 7(2): 275-311.
14. Ривкина Е.М., Краев Г.Н., Кривушин К.В., Лауринавичюс К.С., Федоров-Давыдов Д.Г., Холодов А.Л., **Щербакова В.А.**, Гиличинский Д.А. Метан в вечномёрзлых отложениях северо-восточного сектора Арктики. *Криосфера Земли.* 2006. 10: 23-41.
15. Rivkina E., **Shcherbakova V.**, Laurinavichius K., Pecheritsyna S., Krivushin K., Kraev G., Gilichinsky D. Biogeochemistry of methane and methanogenic archaea in permafrost. *FEMS Microbial Ecology.* 2007. 61(1): 1-15.
16. Печерицына С.А., **Щербакова В.А.**, Холодов А.Л., Акимов В.Н., Абашина Т.Н., Сузина Н.Е., Ривкина Е.М. Микробиологический анализ криопэгов Варандейского полуострова на побережье Баренцева моря. *Микробиология.* 2007. 76(5): 694-701.
17. Suetin S.V., **Shcherbakova V.A.**, Chuvil'skaya N.A., Rivkina E.M., Suzina N.E., Lysenko A.M., Gilichinsky D.A. *Clostridium tagluense* sp. nov., psychrotolerant anaerobic spore-forming bacterium from Canadian permafrost. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2009. 59: 1421-1426.
18. **Щербакова В.А.**, Чувильская Н.А., Ривкина Е.М., Печерицына С.А., Суетин С.В., Лауринавичюс К.С., Гиличинский Д.А. Новая галотолерантная бактерия из криопэга в вечной мерзлоте: описание *Psychrobacter muriicola* sp. nov. *Микробиология.* 2009. 78(1): 98-105.
19. **Щербакова В.А.**, Кочкина Г.А., Иванушкина Н.Е., Лауринавичюс К.С., Озерская С.М., Акименко В.К. Исследование роста грибов *Geomyces pannorum* в условиях анаэробнозиса. *Микробиология.* 2010. 79(6): 848-851.
20. Krivushin K.V., **Shcherbakova V.A.**, Petrovskaya L.E., Rivkina E.M. *Methanobacterium veterum* sp. nov., from ancient Siberian permafrost. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2010. 60: 455-459.
21. **Shcherbakova V.A.**, Rivkina E.M., Pecheritsyna S.A., Laurinavichius K., Suzina N.E., Gilichinsky D.A. *Methanobacterium arcticum* sp. nov., methanogenic archaeon from Holocene Arctic permafrost. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2011. 61: 144 - 147.
22. Печерицына С.А., Архипова О.В., Сузина Н.Е., Лысанская В.Я., Лауринавичюс К.С., **Щербакова В.А.** Внутриклеточный полисахарид анаэробного психрофила *Clostridium algoriphilum*. *Микробиология.* 2011. 79(1): 1-7.
23. Pecheritsyna S.A., Rivkina E.M., Akimov V.N., **Shcherbakova V.A.** *Desulfovibrio arcticus* sp. nov., a psychrotolerant sulfate-reducing bacterium from a cryopeg. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2012. 62: 33-37.

24. Krivushin K.V., Rivkina E.M., Pecheritsina S.A., **Scherbakova V.A.** Methanogens in Permafrost. Paleontological journal. 2012. 46(9): 1070-1071.
25. Kondakova A.N., Novototskaya-Vlasova K.A., Drutskaya M.S., Senchenkova S.N., **Shcherbakova V.A.**, Shashkov A. S., Gilichinsky D.A., Nedospasov S.A., Knirel Y.A. Structure of the O-polysaccharide chain of the lipopolysaccharide of *Psychrobacter muricolla* 2pS<sup>T</sup> isolated from overcooled water brines within permafrost. Carbohydrate Research. 2012. 349: 78-81.
26. Kondakova A.N., Novototskaya-Vlasova K.A., Shashkov A.S., Drutskaya M.S., Senchenkova S.N., **Shcherbakova V.A.**, Gilichinsky D.A., Nedospasov S.A., Knirel Y.A. Structure of an acidic polysaccharide isolated from *Psychrobacter maritimus* 3pS containing bacillosamine derivative. Carbohydrate Research. 2012. 359: 7-10.
27. Kondakova A., Novototskaya-Vlasova K., Arbatsky N., Drutskaya M., **Shcherbakova V.**, Shashkov A., Gilichinsky D., Nedospasov S., Knirel Y. Structure of the O specific Polysaccharide from the lipopolysaccharide of *Psychrobacter cryohalolentis* K5<sup>T</sup> containing a newly identified amino sugar, 2,3,4 triacetamido-2,3,4 trideoxy-L arabinose. Journal of Natural Products. 2012. 75: 2236-2240.
28. **Shcherbakova V.**, Chuvilskaya N., Rivkina E., Demidov N., Uchaeva V., Suetin S., Suzina N., and Gilichinsky D. *Celerinatantimonas yamalensis* sp. nov., a cold-adapted diazotrophic bacterium from a cold permafrost brine. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 2013. 63: 4421-4427.
29. **Shcherbakova V.**, Oshurkova V., Yoshimura Y.: The effects of perchlorates on the permafrost methanogens: implication for autotrophic life on Mars. Microorganism. 2015. 3(3): 518-534.
30. Troshina O., Oshurkova V., Suzina N., Machulin A., Ariskina E., Vinokurova N., Kopitsyn D., Novikov A., **Shcherbakova V.** *Sphaerochaeta associata* sp. nov., a spherical spirochaete isolated from cultures of *Methanosarcina mazei* JL01. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 2015. 65: 4315-4322.
31. Buongiorno J., Bird J., Krivushin K., Oshurkova V., **Shcherbakova V.**, Rivkina E., Karen Lloyd K., and Vishnivetskaya T. Draft genome sequence of antarctic methanogen enriched from dry valley permafrost. Genome Announcements. 2016. 4(6): e01362-16.
32. **Shcherbakova V.**, Yoshimura Y., Ryzhmanova Y., Taguchi Y., Segawa T., Oshurkova V., & Rivkina E. Archaeal communities of Arctic methane-containing permafrost. FEMS Microbiology Ecology. 2016. 92 (10): fiw135.

Материалы диссертации были представлены на 26 российских и международных конференциях:

1. Международной конференции «Консервация и трансформация вещества и энергии в криосфере Земли» 1-5 июня 2001, Пушино;
2. Международной конференции “Astrobiology Expeditions 2002”, St. Petersburg. March 22-24, 2002;
3. International Workshop “Water in the Upper Martian Surface”. April 17-19. 2002, Potsdam, Germany;
4. International Workshop on Exo-Astrobiology. Madrid, Spain 18-20 November 2003;
5. International Conference on Arctic Microbiology, March 23-25, 2004, Rovaniemi, Finland;
6. Международная конференция Микробное разнообразие: состояние, стратегия сохранения, биологический потенциал. ”ICOMID-2005” 20-25 сентября 2005, Пермь, Россия;
7. 2<sup>nd</sup> European Conference on Permafrost, Potsdam, Germany, 2005;
8. The 9<sup>th</sup> Symposium on Aquatic Microbial Ecology, Helsinki, 2005; Всероссийских Молодежных школах-конференциях «Актуальные аспекты современной микробиологии» (Москва, 2005, 2006);
9. International Conference on Alpine and Polar Microbiology, Austria, Innsbruck, March 27-31, 2006;
10. Annual meeting of Japanese Society for Biogeographical Sciences in Space (JSBSS), Sendai, Japan, September 17-18, 2010;
11. EANA meeting, September 6-8, 2010, Pushchino, Russia;
12. Astrobiology Science Conference Evolution and Life: Surviving Catastrophes and Extremes on Earth and beyond. April, 26-29, 2010, League City, Texas, USA;
13. AGU Fall Meeting, San Francisco, 15-19 December 2014, USA;
14. 2nd International Ice-Binding Protein Conference, August 4-7, 2014, Sapporo, Japan;
15. 7-ой, 8-ой, 9-ой, 12-й, 13-й, 19-ой и 21-ой Пушинских конференциях молодых ученых «Биология-наука 21-го века» (2003, 2004, 2005, 2009, 2012, 2013, 2015 и 2017);
16. The 5<sup>th</sup> и 7<sup>th</sup> FEMS Congress of European Microbiologists – 2013, 2017;
17. На международных конгрессах “Extremophiles 2014” (Санкт-Петербург, Россия) и “Extremophiles 2016” (Киото, Япония);

18. 6-й Международной конференции «Polar and Alpine Microbiology», Ческе-Будеевице, Чехия, 2015.

В публикациях отражены результаты экспериментальной части в рамках диссертационной работы.

### **На диссертацию поступили следующие отзывы:**

**Отзыв официального оппонента доктора биологических наук Карначук Ольги Викторовны** (профессор, зав. кафедрой физиологии растений и биотехнологии Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский Томский государственный университет»). Отзыв положительный. Есть замечания:

1. В обзоре литературы – «Надо отметить, что в некоторых сводных таблицах, где автор систематизировала литературные данные, отсутствуют ссылки на цитируемые публикации (Таблицы 2, 6). В некоторых случаях в тексте цитирования появляются в конце, а не в начале параграфа...»
2. Используемый в таблице 3 и по тексту в разделе 1.2 термин «жизнеспособные клетки» при описании количества микроорганизмов, учитываемых по росту на средах, не соответствует современным представлениям о разнообразии микроорганизмов. Следовало указать, что речь идет о культивируемых формах. Микроорганизмы могут быть жизнеспособными, но некультивируемыми. Не является недостатком, но хотелось бы, чтобы работы Омелянского цитировались не по работам Wagner с соавторами, а включали ссылки на оригинальные работы. Научные труды Омелянского были собраны и вышли в издании Академии наук в 1953 г.
3. В Главе 4 – техническое замечание – в таблице 7 не указаны единицы измерения катионов и анионов.
4. В Главе 5 автор уделяет излишнее внимание обсуждению численности микроорганизмов различных физиологических групп, определенное по росту на селективных средах. Эта информация не дает понимания ни разнообразия, ни возможной активности микробных процессов. При описании результатов, также как и методов, автор не конкретизирует, что под «жизнеспособными» клетками она понимает культивируемые формы. Заключение об отсутствии сульфатредукторов в исследованных образцах имеет некоторую степень вероятности, так как был использован ограниченный набор праймеров на ген *dsrAB*, не покрывающих все известное на настоящий момент разнообразие. Техническое замечание – в таблице 14 не достаёт нумерации исследованных проб, на которую автор даёт ссылку в таблице 15.
5. Глава 7 – на рисунке 12 в легенде отсутствует обозначение некоторых структур клетки, обозначенных стрелками на микрофотографии. С моей точки зрения неправомерно характеризовать клеточную стенку архей (штаммы МК3, МК4, стр. 154) как «грамположительного типа»
6. Глава 8 – особенности метаболизма метаногенов – На мой взгляд, предположения о возможности использования перхлоратов в качестве акцепторов электронов метаногенов несколько преждевременны. Демонстрация того факта, что происходит снижение содержания по сравнению с контролем, недостаточно. Особенно, учитывая тот факт, что автор не приводит статистической обработки данных в этих экспериментах.

**Отзыв официального оппонента доктора биологических наук Земской Тамары Ивановны**, (заведующий лабораторией микробиологии углеводов Федерального государственного бюджетного учреждения науки Лимнологический институт Сибирского отделения Российской академии наук). Отзыв положительный. Есть замечания:

1. К Главе Результаты – «небольшое количество исследованных клонов может исказить реальную картину о структуре и разнообразии архей в конкретных сообществах. Учитывая появление новых данных о разнообразии структур функциональных генов, требуется также использовать

- более широкий набор праймеров для характеристики сообществ, особенно при изучении уникальных экосистем. Исследование разных субъединиц гена *mcg* позволило бы детектировать в сообществах более широкий спектр метаногенных и метанотрофных архей. К сожалению, диссертант не представила филогенетического древа для всех последовательностей архей для фрагментов генов 16S рРНК и *mcrA*, а ограничилась только филогенетическим анализом для нескольких филотипов.
2. На мой взгляд, недостаточно доказуемо предположение автора о том, что количество генов у прокариотического организма, полученных в результате горизонтального переноса генов, зависит от возраста ММО, из которой выделен этот микроорганизм.
  3. К сожалению, в работе отсутствует общая таблица и карта, где были бы обозначены все исследованные объекты. Из текста не ясно, образцы вечной мерзлоты Арктики и криопэги Колымской низменности отобраны в одной и той же координате или в разных. Таблица 7 содержит информацию только о криопэгах, и поиск данных о других образцах ММО затруднен. Немножко запутывают обозначения образцов, оно на разных страницах разное - У1 и У3 на стр. 92, тогда как на стр. 117 маркировка дана иная (У1 и У3).
  4. Хотелось бы уточнить, через какой период времени после отбора проводились конкретные исследования образцов и, каким образом образцы сохранялись до начала проведения лабораторных исследований.
  5. По моему мнению, нельзя исключить постоянную миграцию микроорганизмов из рассолов в грунты за счет диффузии отдельных ионов и наличие обратного процесса при распреснении. В этом плане были бы очень полезны данные о химических параметрах в ММО, а не только для криопэгов.
  6. Хотелось бы отметить некое различие в исследовании разных объектов, например, в криопэгах п-ва Варандей исследовались аэробные бактерии, а проводились ли аналогичные исследования в криопэгах п-ва Ямал и Колымской низменности – данные не приведены, что затрудняет сравнительный анализ исследованных сообществ. Интересно мнение диссертанта относительно спорных бактерий, в частности представителей рода *Clostridium*. Может быть, они в исследованных средах физиологически неактивны и сохраняются длительное время в виде спор?
  7. Не ясно, почему диссертант использовал при определении общей численности микроорганизмов в качестве красителя эритрозин, хотя предыдущие исследования проводились с помощью красителя ДАФИ, который позволяет более корректно идентифицировать микроорганизмы.
  8. Не является ли сложность выделения сульфатредуцирующих бактерий из криопэга 2У (стр. 95) следствием использования ограниченного спектра использованных праймеров, не позволяющих детектировать эндемичные виды этих бактерий?
  9. Также в работе встречаются стилистические и орфографические погрешности.

**Отзыв официального оппонента** доктора биологических наук Петровой Майи Александровны (заведующая сектором анализа и хранения микроорганизмов Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт молекулярной генетики Российской академии наук). Отзыв положительный. Есть замечания:

На мой взгляд, в работе не хватает подведения основного итога этой работы, какого-то глобального вывода. Хотелось бы знать, что, по мнению диссертанта, является самым важным и интересным результатом работы. Еще один вопрос неизбежно возникает в связи с заключением, что «возраст ВМ, из которой выделяли метаногенов, может объяснять различие в количестве генов, полученных в результате горизонтального переноса». Поскольку далее данная мысль никак не поясняется, то остается совершенно неясным, что имеется в виду. Также остается непонятным, что же является причиной стимулирующего действия бактерии-спутника на рост метаносарцины. Автор задается таким вопросом, но потом детально описывает все преимущества, которые бактериальный спутник получает за счет метаносарцины, тогда как четкого ответа на свой собственный вопрос так и не дает.

**Отзыв Ведущей организации** Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт общей и экспериментальной биологии СО РАН. Отзыв положительный, есть замечания:

1. Описание и характеристики всех образцов можно было бы представить в сводной таблице, что улучшило бы восприятие материала.
2. При описании объектов исследования в таблице 6 (стр. 69) не указаны значения окислительно-восстановительного потенциала воды. Эти данные необходимы для более полного описания условий среды обитания микроорганизмов, особенно анаэробных групп.
3. В подглаве 4.3.2. «Состав сред, получение накопительных и чистых культур» (стр. 72-76) не везде указана температура культивирования.
4. В подглаве 6.5 «Описание бактерии спутника *Methanosarcina* sp.», в тексте было бы удобнее использовать один термин: либо *Methanosarcina* sp. JL01 (стр. 137, 142) или *M. mazei* JL01 (стр. 143).
5. В тексте диссертационной работы и автореферата имеются опечатки, в частности в диссертации (стр. 1 – п.4.3.2, стр. 48 – 11 строка, стр. 63 – последняя строка).

**На автореферат поступили положительные отзывы. Отзывы прислали:**

1. Д.б.н., и.о. заместителя директора, в.н.с. Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт фундаментальных проблем биологии РАН Васильева Л.Г.
  2. Д.б.н, г.н.с. лаборатории микробиологии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН Дзюбан А.Н.
  3. Д.б.н., г.н.с. лаборатории микробиологии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН Копылов А.И. и к.б.н., с.н.с. Романенко А.В.
  4. Д.м.н., профессор кафедры микробиологии и вирусологии ФГБОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России Ефимов Б.А.
  5. К.б.н., ученый секретарь Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт природных ресурсов, экологии и криологии СО РАН Матюгина Е.Б.
  6. Д.б.н., в.н.с. лаборатории механизмов природного и искусственного гипобиоза Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт биофизики клетки РАН Накипова О.В.
  7. Д.б.н., в.н.с., зав. лабораторией микробиологии среды обитания и противомикробной защиты Федерального государственного бюджетного учреждения науки Государственного научного центра РФ – Институт медико-биологических проблем РАН Новикова Н.Д.
  8. Д.б.н, профессор кафедры биохимии и физиологии клетки медико-биологического факультета Воронежского государственного университета Грабович М.Ю.
  9. Д.б.н., в.н.с. лаборатории биологии плазмид ФГБУН ИБФМ РАН Филонов А.Е.
- Все отзывы положительные. Замечаний в поступивших отзывах нет.

**В дискуссии приняли участие** д.б.н. Бонч-Осмоловская Е.А., к.г.-м.н. Ривкина Е.М. (ФГБУН Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН), д.б.н. Летаров А.В., д.б.н. Назина Т.Н., д.б.н. Жилина (ФИЦ Биотехнологии РАН), д.б.н. Пименов Н.В.

**Диссертационный совет отмечает, что** диссертация Щербаковой В.А. является законченной научно-квалификационной работой, посвященной изучению распространения, разнообразия и свойств культивируемых и некультивируемых анаэробных прокариот в многолетнемерзлых отложениях Арктики. По совокупности представленных результатов диссертационная работа может быть классифицирована как существенное научное достижение в области микробиологии, что соответствует п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней».

**Теоретическая значимость исследования** обоснована тем, что впервые исследована распространенность, численность и состав анаэробных прокариотных микроорганизмов в вечной мерзлоте Арктики. Автором дана микробиологическая характеристика рассолов в вечной мерзлоте (криопэггов) и проведена оценка численности анаэробных бактерий различных физиологических групп. Полученные результаты по составу микробных сообществ, населяющих криопэги и способных проявлять метаболическую активность при отрицательных температурах, имеют мировую новизну.

Выделены и описаны чистые культуры адаптированных к холоду анаэробных и факультативно-анаэробных бактерий, представляющих новые виды родов *Clostridium*, *Desulfovibrio*, *Psychrobacter*, и *Celerinatantimonas*. Для всех бактерий, выделенных из криопэггов, был характерен рост при отрицательной температуре, сопровождавшийся значительными изменениями в физиологии и биохимическом составе клеток.

Получены приоритетные данные о разнообразии некультивируемых архей в вечной мерзлоте Арктики различного возраста. Выделены и охарактеризованы новые виды метанобразующих архей рода *Methanobacterium*, их таксономическая обособленность подтверждена сравнением фенотипических характеристик и геномных последовательностей. Из мерзлых грунтов голоценового возраста получена бинарная культура, из которой выделен новый штамм *Methanosarcina mazei* JL01, отличающийся от типового штамма вида уникальными свойствами, и его бактериальный спутник *Sphaerochaeta associata* GLS2<sup>T</sup>.

Впервые исследовано влияние окислителей (перхлоратов), импульсного УФ-излучения и вакуумирования на рост и метаногенез у метаногенов, выделенных как из многолетнемерзлых отложений, так и из других экосистем. Показано, что метаногены из мерзлоты оказались более устойчивы к действию окислителей. Кроме того, обнаружены свидетельства о возможном использовании перхлорат-аниона в качестве акцептора электронов для окисления метана.



Показано, что влияние УФ-излучения на рост метаногенов зависит от его интенсивности и приводит к цитологическим изменениям в клетках исследованных архей.

**Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что** все выделенные из изученных экосистем микроорганизмы адаптированы к холоду и представляют интерес как компоненты искусственно создаваемых сообществ, способных к биодegradации загрязняющих веществ в холодном климате. Обнаруженный автором антифризный белок *C. tagluense* и наличие высокой липазной активности в исследованных бактериях позволяет рассматривать созданную В.А. Щербаковой коллекцию арктических изолятов как возможный источник для поиска холодоактивных ферментов, имеющих перспективы использования в пищевой промышленности, при очистке сточных вод и в молекулярной биологии. Выделенные и описанные в диссертационной работе В.А. Щербаковой штаммы микроорганизмов помещены в открытые фонды коллекций ВКМ, DSMZ и JCM и доступны для исследований научной общественностью. Секвенированы геномы пяти штаммов психрофильных анаэробных бактерий и архей, три из которых депонированы в NCBI, а два находятся в процессе аннотирования.

**Оценка достоверности результатов исследования выявила,** что данные исследования получены на современном сертифицированном оборудовании, показана воспроизводимость результатов. Диссертационная работа Щербаковой В.А. выполнена с применением комплекса микробиологических, физическо-химических и молекулярно-биологических методов. Анализ и обсуждение полученных результатов проведен с привлечением геологических и геохимических данных, характеризующих исследованные образцы криопэгов и мерзлых отложений.

Материалы диссертации представлены автором в 58 печатных работах: 32 экспериментальных статьях, в том числе в рецензируемых журналах, рекомендуемых ВАК, и в 26 тезисах. Автореферат полностью отражает основные научные результаты диссертации.

**Личный вклад соискателя состоит** в непосредственном участии на всех этапах выполнения диссертационной работы: постановке проблемы, разработке и апробации экспериментальных методов, проведении экспериментов, обработке и обобщении полученных результатов, написании статей, представлении полученных результатов на конференциях.

Диссертация Щербаковой В.А. «Анаэробные бактерии и археи в многолетнемерзлых отложениях Арктики» представляет собой завершённую научно-квалификационную работу, внесшую большой вклад в изучение биоразнообразия и физиологии микроорганизмов арктических местообитаний. Работа соответствует требованиям п.9-14 Положения «О порядке присуждения ученых степеней», утвержденным Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. №842 (ред. От 28.08.2017), предъявляемым к диссертациям на

соискание ученой степени доктора наук, а её автор, Щербакова В.А., заслуживает присуждения искомой ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.02.03 Микробиология.

На заседании 17 октября 2018 г. диссертационный совет принял решение присудить Щербаковой Виктории Артуровне ученую степень доктора биологических наук по специальности 03.02.03 Микробиология.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 16 чел., из них 8 докторов биологических наук по специальности рассматриваемой диссертации, участвовавших в заседании, из 21 человека, входящего в состав совета, проголосовали «за» присуждение ученой степени - 15, «против» - 1, недействительных бюллетеней – нет.

Председатель диссертационного совета Д002.247.02  
ФИЦ Биотехнологии РАН,  
Доктор биологических наук



Пименов Н.В.

Ученый секретарь  
диссертационного совета Д002.247.02  
ФИЦ Биотехнологии РАН,  
Доктор биологических наук

Хижняк Т.В.

«17» октября 2018 г.