

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 24.1.233.02
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 Фроловой Анастасии
Андреевны «Новые анаэробные алкалофильные микроорганизмы из наземных
грязевых вулканов» на соискание ученой степени кандидата биологических наук**

Решение диссертационного совета от 9 декабря 2024 г. № 15 о присуждении **Фроловой Анастасии Андреевны**, гражданке Российской Федерации, ученой степени кандидата биологических наук

Диссертация **Фроловой Анастасии Андреевны «Новые анаэробные алкалофильные микроорганизмы из наземных грязевых вулканов»** по специальности 1.5.11. «Микробиология» принята к защите 03 октября 2024 г. протокол № 9 диссертационным советом 24.1.233.02 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 от 16 марта 2017 г., от 03.06.2021 №561/нк, с учетом изменений в составе Совета в соответствии с приказом Минобрнауки России от 12 октября 2022 года № 1162/нк.

Соискатель Фролова Анастасия Андреевна, 1991 года рождения, гражданка РФ, в 2013 г. окончила Самарский Государственный университет по специальности «Биологическая химия». В период 2014-2018 гг. проходила обучение в очной аспирантуре Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук» (ФИЦ Биотехнологии РАН). С 2017 г. работает младшим научным сотрудником в лаборатории разнообразия и экологии экстремофильных микроорганизмов Института микробиологии С.Н. Виноградского ФИЦ Биотехнологии РАН. Диссертационная работа Фроловой Анастасии Андреевны «Новые анаэробные алкалофильные микроорганизмы из наземных грязевых вулканов» выполнена в лаборатории разнообразия и экологии экстремофильных микроорганизмов Института микробиологии им. С.Н. Виноградского ФИЦ Биотехнологии РАН.

Научный руководитель – Слободкин Александр Игоревич, доктор биологических наук, заведующий лабораторией разнообразия и экологии экстремофильных микроорганизмов Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук».

Официальные оппоненты: доктор биологических наук, Грабович Маргарита Юрьевна, профессор кафедры биохимии и физиологии клетки медико-биологического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Воронежский государственный университет», доктор биологических наук, Степанов Алексей Львович, профессор, заведующий кафедрой биологии почв, факультета почвоведения Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова» дали положительные отзывы.

Ведущая организация – Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Лимнологический институт Сибирского отделения Российской академии наук в своем положительном заключении указала, что диссертационная работа Фроловой А.А. является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение актуальной научной задачи по исследованию микроорганизмов, населяющих наземные грязевые вулканы. Диссертационная работа Фроловой А.А., представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук, полностью удовлетворяет требованиям ВАК Минобрнауки России в соответствии с п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года №842 (в действующей редакции), а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.11. «Микробиология».

Выбор официальных оппонентов обусловлен тем, что они являются признанными специалистами в области микробиологии. Так, доктор биологических наук Грабович Маргарита Юрьевна известна своими работами, связанными с выделением, характеристикой и описанием бесцветных сероокисляющих бактерий. Доктор биологических наук Степанов Алексей Львович является специалистом в области почвенной микробиологии, экологии и охраны окружающей среды. Квалификация оппонентов подтверждается наличием большого числа публикаций в цитируемых российских и зарубежных журналах. Выбор ведущей организации связан с тем, что в учреждении проводятся исследования, направленные на исследование и анализ процессов формирования и функционирования водных экосистем, разнообразия и эволюции водных организмов, механизмов биологического видообразования, а также поисковых и прикладных научных исследований по указанным направлениям, что 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 5 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. **Frolova A.A.**, Merkel A.Yu., Novikov A.A., Bonch-Osmolovskaya E.A., Slobodkin A.I. *Anaerotalea alkaliphila* gen. nov., sp. nov., an alkaliphilic, anaerobic, fermentative bacterium isolated from a terrestrial mud volcano // *Extremophiles*. – 2021. – V. 25. – P. 301–309. doi: 10.1007/s00792-021-01229-w.
2. **Frolova A.A.**, Merkel A.Yu., Kuchierskaya A.A., Bonch-Osmolovskaya E.A., Slobodkin A.I. *Pseudodesulfovibrio alkaliphilus*, sp. nov., an alkaliphilic sulfate-reducing bacterium isolated from a terrestrial mud volcano // *Antonie van Leeuwenhoek*. – 2021. – V. 114. – P. 1387–1397. doi: 10.1007/s10482-021-01608-5.
3. **Фролова А.А.**, Меркель А.Ю., Кевбрин В.В., Копицын Д.С., Слободкин А.И. *Sulfurospirillum tamanensis* sp. nov., факультативно анаэробная алкалифильная бактерия из наземного грязевого вулкана // *Микробиология*. 2023. – Т. 92. – № 1. – С. 14-23. doi: 10.1134/S0026261722602226.
4. **Фролова А.А.**, Меркель А.Ю., Кучиерская А.А., Слободкин А.И. *Desulfobotulus pelophilus* sp. nov., – алкалифильная сульфатвосстанавливающая бактерия из наземного грязевого вулкана // *Микробиология*. – 2023. – Т. 92. – № 4. – С. 358-365. doi: 10.1134/S0026261723600878.
5. **Frolova A.A.**, Merkel A.Yu., Kopitsyn D.S., Slobodkin A.I. *Petrocella pelovolcani* sp. nov., an alkaliphilic anaerobic bacterium isolated from terrestrial mud volcano // *Microbiology (Moscow)*. – 2024. – V. 93. № 4. P. 391-398. doi: 10.1134/S0026261724605803.

Материалы диссертации были представлены на: 2-ом Российском микробиологическом конгрессе (Саранск, 2019 г.); конференции «Микроорганизмы: Вопросы экологии, физиологии, биотехнологии: Всероссийская конференция с международным участием» (Москва, 2019 г.); XIII Молодежной Школе-конференции с международным участием «Актуальные аспекты современной микробиологии» (Москва, 2022 г.).

В публикациях отражены результаты экспериментальной части в рамках диссертационной работы.

На диссертацию поступили следующие отзывы:

Отзыв официального оппонента доктора биологических наук Грабович М.Ю., (положительный). Отзыв содержит следующие замечания:

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.

Отзыв официального оппонента доктора биологических наук Степанова А.Л., (положительный). Отзыв содержит следующее замечание: «Кроме безусловных достоинств работы, хотелось бы порекомендовать автору в дальнейшей работе не ограничиваться оценкой географической распространенности тех или иных штаммов только при помощи интернет-ресурсов, но и получить экспериментальное подтверждение присутствия организмов в разных биотопах на территории нашей страны. Высказанные соображения не снижают общей, очень высокой оценки работы».

Отзыв ведущей организации - Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Лимнологический институт Сибирского отделения Российской академии наук – отзыв положительный. Некоторые замечания и вопросы:

1. Недостаточная визуализация полученных данных. Указание на фотографиях органелл и структур на ультратонких срезах клеток бактерий давало бы лучшее понимание особенностей строения клетки. Также таблицу 21 можно было бы представить в виде графика.
2. В работе не приведено филогенетическое разнообразие всего микробного сообщества изучаемых грязевых котлов и грифонов. Возможно, это не являлось целью диссертационной работы, но приведение данных сведений в разделе «Обзор литературы» помогло бы читателю лучше ориентироваться в структуре микробных сообществ изучаемых биотопов.
3. Не совсем понятны разногласия в количестве описанных и узаконенных новых видов. Так, на стр.9 диссертации, в разделе «Научная новизна и теоретическая значимость работы» указано: «Описаны и узаконены как новые таксоны 5 новых видов и 1 новый род, анаэробных алкалофильных бактерий», тогда как на стр.10 в разделе «Положения, выносимые на защиту»: «Выделенные микроорганизмы относятся к новым таксонам, представленными одним новым родом и 4 новыми видами, ранее известных родов (отсутствует знак препинания в конце предложения)».

На автореферат поступили положительные отзывы. Отзывы прислали:

1. Перевалова А.А., к.б.н., с.н.с. кафедры микробиологии ФГБОУ ВО Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова. Замечаний нет.
2. Лютова А.А., к.б.н., менеджер проектов Департамента управления проектами, АО «Генериум». Замечаний нет.

3. Мямин В.Е., к.б.н., доцент кафедры микробиологии, биологического факультета Белорусского государственного университета. Замечаний нет.
4. Трубицина Л.И., к.б.н., с.н.с. лаборатории микробной энзимологии Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН - обособленное подразделения Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических исследований Российской академии наук». Замечаний нет.
5. Заюлина К.С., к.б.н., н.с. лаборатории метаболизма экстремофильных прокариот, Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского, Федеральное государственное учреждение «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук». Замечаний нет.
6. Рыжманова Я.В., к.б.н., с.н.с. лаборатории анаэробных микроорганизмов Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН - обособленное подразделения Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических исследований Российской академии наук». Замечаний нет.
7. Сорокин Д.Ю., д.б.н., г.н.с. лаборатории экологии и геохимической деятельности микроорганизмов, Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского, Федеральное государственное учреждение «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук». Замечание: «Поняв, что это такое (прим.: речь идет о способности *Sulfurospirillum tamanensis*, к окислению сульфида до серы с органическими акцепторами электронов имеющих двойную связь), нужно конечно, было придать ему гораздо более серьезное значение, чем это было сделано, по крайней мере, если не в диссертации (а в автореферате это даже не упоминается ни в заключении, ни выводах), то хотя бы в дальнейшем».
8. Бархутова Д.Д., к.б.н., зав. лабораторией микробиологии ФГБНУ Институт общей и экспериментальной биологии СО РАН. Замечаний нет.
9. Сидоренко А.В., к.б.н., доцент, зав. лабораторией «Коллекция микроорганизмов» государственного научного учреждения «Институт микробиологии Национальной академии Беларуси». Замечаний нет.

Все отзывы положительные.

Вопросы задавали: д.б.н. Турова Т.П., д.б.н. Дедыш С.Н., д.б.н. Горленко В.М., д.б.н. Равин Н.В., д.б.н. Назина Т.Н., д.б.н. Щербакова В.А., к.б.н. Кочеткова Т.В. (ФИЦ Биотехнологии РАН), д.б.н. Пименов Н.В.

В дискуссии приняли участие: д.б.н. Щербакова В.А., д.б.н. Назина Т.Н., д.б.н. Пименов Н.В.

Диссертационный совет отмечает, что диссертация Фроловой А.А., посвященная изучению анаэробных алкалофильных микроорганизмов из наземных грязевых вулканов, является завершенной научно-квалификационной работой.

Теоретическая значимость исследования обусловлена тем, что впервые из наземных грязевых вулканов были выделены и описаны анаэробные алкалофильные микроорганизмы различных таксономических рангов (5 новых видов и один новый род). Новые изоляты являются представителями различных физиологических групп: сульфатредуцирующих бактерий (*Pseudodesulfovibrio alkaliphilus* и *Desulfobotulus pelophilus*), микроорганизмов, сбразивающих органические соединения (*Anaerotalea alkaliphila* и *Petrocella pelovolcania*), а также нитратвосстанавливающих микроорганизмов (*Sulfurospirillum tamanensis*). Результаты работы представляют новую информацию о биологическом разнообразии анаэробных прокариот, участвующих в метаболизме серы, азота и углерода: их филогении и особенностях метаболизма.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что экстремофильные микроорганизмы, выделенные в ходе выполнения работы, способны к трансформациям соединений серы, азота и углерода и являются потенциальными источниками ферментов для использования в производствах с высокими значениями рН среды. Полученные в работе новые микроорганизмы открывают возможности дальнейших, более детальных исследований путей энергетического и конструктивного метаболизма алкалофильных анаэробов с помощью полногеномного секвенирования, транскриптомики и протеомики.

Оценка достоверности результатов исследования выявила, что полученные результаты являются воспроизводимыми и достоверными, а выводы – обоснованными. При выполнении диссертационной работы был применен комплекс микробиологических, молекулярно-биологических и аналитических подходов. В исследовании были использованы современные методы анализа геномных последовательностей, позволяющие наиболее полно оценить функциональный потенциал исследуемых микроорганизмов.

По теме диссертации было опубликовано 8 научных работ, отражающих основные результаты работы, в том числе 5 статей в изданиях, индексируемых в Web of Science и/или Scopus, а также 3 тезиса докладов на научных конференциях. Автореферат полностью отражает основные научные результаты диссертации.

Личный вклад соискателя состоит в непосредственном участии во всех этапах работы, включая планирование и постановку экспериментов, обработку и анализ данных, апробацию основных положений работы на различных конференциях, подготовку публикаций по теме работы.

Заключение.

Диссертация Фроловой Анастасии Андреевны «Новые анаэробные алкалофильные микроорганизмы из наземных грязевых вулканов» является законченной научно-квалификационной работой, внесшей большой вклад в изучение микробного разнообразия наземных грязевых вулканов.

Диссертационная работа Фроловой А.А. соответствует п. 5 «Физиология и метаболизм микроорганизмов, в том числе физиология и физико-химические параметры роста микроорганизмов» и п. 17 «Экстремофильные микроорганизмы, в том числе термофильные, галофильные, ацидофильные и алкалофильные микроорганизмы» паспорта специальности 1.5.11. «Микробиология», отрасль науки – Биологические науки.

Работа соответствует профилю Диссертационного совета 24.1.233.02 и требованиям ВАК, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук в соответствии с п. 9-11, 13-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. №842 (с изменениями и дополнениями в редакции № 62 от 25.01.2024).

На заседании 9 декабря 2024 г. Диссертационный совет 24.1.233.02 принял решение присудить **Фроловой Анастасии Андреевне** ученой степень кандидата биологических наук по специальности 1.5.11. «Микробиология».

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 15 чел., из них 9 докторов наук по специальности рассматриваемой диссертации, участвовавших в заседании, из 21 человека, входящего в состав совета, проголосовали «за» присуждение ученой степени – 15, «против» – 0, недействительных бюллетеней – 0.

Председатель диссертационного
совета 24.1.233.02
ФИЦ Биотехнологии РАН,
доктор биологических наук



Н.В. Пименов

Ученый секретарь диссертационного
совета 24.1.233.02
ФИЦ Биотехнологии РАН,
доктор биологических наук

Т.В. Хижняк

9 декабря 2024 г.