

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

на диссертацию на соискание ученой степени

кандидата геолого-минералогических наук Чербуниной Марии Юрьевны на тему: «Особенности содержания метана и микроорганизмов в мерзлых отложениях Центральной Якутии» по специальности 1.6.7. – «Инженерная геология, мерзлотоведение и грунтоведение»

Тема научного исследования М.Ю. Чербуниной несомненно **актуальна** и важна. Это обусловлено, прежде всего, малой изученностью содержания метана и состава микробных сообществ в мерзлых отложениях. Их знание необходимо для уточнения вклада этих факторов в глобальные биогеохимические циклы, для понимания закономерностей образования вечномерзлых пород и современных процессов в них. Тема важна с фундаментальной и с практической точки зрения, в частности, учитывая широко обсуждаемые сегодня вопросы потепления климата и ожидаемых последствий таяния льдов.

Характеристика диссертационной работы М.Ю. Чербуниной формально выглядит следующим образом. Диссертация состоит из введения, 6 глав, выводов и 4 приложений; работа изложена на 182 страницах текста, содержит 60 рисунков, 7 таблиц и список литературы из 327 названий, из них 175 на английском языке.

В основе работы лежит объемный полевой материал, полученный при непосредственном участии автора. Автором был применен широкий набор современных научных методов, в том числе, молекулярно-биологических.

Во введении обоснована актуальность темы, сформулирована научная новизна работы, её цели, задачи, защищаемые положения. *Целью работы* было выявление закономерностей распределения метана и микробных сообществ в верхних горизонтах мёрзлых пород, наиболее подверженных деструкции при потеплении климата, а также установление принципиальной возможности использования этих параметров как индикаторов условий

формирования мерзлых отложений. Автором логично сформулированы задачи: 1. Выполнить описание разрезов и скважин в различных районах Центральной Якутии, отобрать образцы пород и льда для изучения. 2. Установить закономерности распределения метана и его генезис для различных типов мерзлых отложений. 3. Установить закономерности изменения состава микробных сообществ и возможность применения этих данных для восстановления истории формирования мерзлых отложений.

Первая глава представляет собой обширный, хорошо написанный литературный обзор. Отмечено, что многолетнемерзлые породы содержат большое количество микроорганизмов, которые, видимо, представляют собой преимущественно реликтовые организмы, и их возраст в целом соответствует возрасту мерзлых отложений. Автор обосновывает применение молекулярно-биологических методов, позволяющих получать состав практически всего микробного сообщества, в качестве нового и перспективного инструмента для изучения генезиса и условий формирования мерзлых отложений. *Во второй главе* дана подробная геологическая характеристика района исследований. *В третьей главе* описаны многочисленные методы полевых и лабораторных исследований, в частности, современные молекулярно-биологические методы, используемые для выделения ДНК и определения состава микробных сообществ. *В четвертой главе* представлены результаты изучения пород и подземного льда, стабильных изотопов воды в подземных льдах. Для Мамонтовой горы и обнажения Сырдах приведены датировки и результаты изотопного анализа подземных льдов с интерпретацией их генезиса. Дана история геокриологического развития территории. *В пятой главе* представлены особенности распределения метана в верхних горизонтах мерзлых пород различного возраста и генезиса. Подробнее вопросы генезиса метана рассмотрены в следующей, *шестой главе*. В ней внимание уделено связи состава микробных сообществ и условий накопления и промерзания изучаемых отложений, приведены результаты определения состава

микробных сообществ обнажений Мамонтова гора и оз. Сырдах, проанализирована возможность применения полученных данных для уточнения генезиса метана. Автор выдвигает ряд гипотез о связи состава палеомикробного сообщества и условий накопления и промерзания изучаемых отложений. Эти гипотезы проверяются с использованием современных статистических методов.

В результате работы автором сформулировано *три развернутых общих вывода*. В первом констатировано наличие проведенного комплексного исследования мерзлых отложений в обнажениях и скважинах различных районов Центральной Якутии. Во втором выводе раскрыты и подробно описаны особенности распределения метана в верхних горизонтах мерзлых отложений. Третий вывод связан с установлением принципиальной возможности использования данных о составе микробных сообществ для изучения генезиса, истории формирования и промерзания отложений. Выяснено, что сравнение состава микробного сообщества позволяет выявлять отложения, различные по возрасту и условиям промерзания. Установлено, что сходный состав сообщества микроорганизмов для подземного льда и вмещающих отложений свидетельствует об их сингенетическом происхождении; напротив, при эпигенетическом происхождении констатированы значительные различия. Отмечено, что совместный анализ изотопно-гидрохимического состава подземного льда и микробных сообществ позволяет установить соответствие между происхождением воды и составом сообщества, выявить сообщества микроорганизмов, характерные для разных горизонтов мерзлых отложений.

Выводы обоснованы, они полностью соответствуют поставленным задачам и логично следуют из результатов, представленных в диссертации.

Достоверность полученных результатов обусловлена большим количеством полученного фактического материала и их разносторонним анализом; использованием современных стандартных методов и высокоточного оборудования, статистической обработкой полученных

данных. Результаты успешно апробированы, опубликованы в рецензируемых научных изданиях геологического и микробиологического профиля и доложены на 17 отечественных и международных конференциях. **Новизна работы** несомненна: исследование открывает возможность применения данных по составу микробного сообщества мерзлых отложений как одного из факторов при изучении истории их формирования.

Защищаемые положения диссертации хорошо аргументированы и подкреплены большим количеством аналитических данных. Работа прекрасно иллюстрирована. По сути она не вызывает серьезных возражений. Автореферат в полной мере отражает содержание диссертации.

Материалы диссертации изложены в 9 статьях, 4 из которых – в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных Положением МГУ о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В. Ломоносова по специальности. Материалы диссертационного исследования достаточно полно отражены в публикациях автора.

Переходя к менее формальному обсуждению диссертации, хотелось бы акцентировать внимание на ее микробиологическую составляющую.

Первое исследование микроорганизмов вечной мерзлоты было проведено в 1911 г. выдающимся отечественным ученым В.Л. Омелянским (1867-1928). Поводом к его проведению послужила полученная в Петербурге в январе 1908 г. телеграмма якутского губернатора о том, что в береговых наносах реки Санга-Юрах были обнаружены части хорошо сохранившегося трупа мамонта. Возможность получить сведения о животных, «живших в эпоху, отделенную от нас десятками тысяч лет», вызвала большой интерес. Как отмечал Омелянский, «хорошо сохранившиеся трупы ископаемых животных являются драгоценными документами из прошлых веков, проливающими свет на минувшую историю Земли». Тотчас по получении вышеупомянутой телеграммы Академия Наук поступила к снаряжению экспедиции для доставки мамонта в Петербург и взятия материалов на месте. Была намечена широкая программа исследований, в частности,

бактериологических. К сожалению, из-за плохой сохранности трупа мамонта, эти планы удалось реализовать лишь в незначительной степени.

Омелянским было проведено микроскопическое исследование проб, взятых из разных частей организма животного (в частности, из хобота), а также посев их на разнообразные питательные среды для выявления разных групп микроорганизмов. Было отмечено, что бактериальное население доставленных остатков мамонта и прилегающей почвы оказалось довольно разнообразно. Наиболее характерная и, видимо, синхронная по времени микрофлора мамонта была представлена овальными дрожжевидными клетками и неспорообразующими палочковидными бактериями.

Результаты посевов выявили наличие в основном видов, растущих на бульонных средах. Омелянский обращает внимание на присутствие форм, встречающихся в воздушной пыли, и не исключает возможность позднейшего происхождения части из обнаруженных на трупе бактерий.

Отмечено отсутствие роста возбудителей обычных почвенных процессов – нитрификации, денитрификации, фиксации азота и разложения целлюлозы. Возможно, пишет В.Л. Омелянский, соответствующие бактерии погибли под влиянием низких температур, действовавших на них в течение геологического периода. Однако в противоречии с этим допущением он указывает на факт нахождения образцах других бактерий, например, гнилостных. Знаменательно, что патогенных бактерий обнаружено не было.

Необходимо отметить, что уже в этой ранней работе Омелянского были сформулированы многие проблемы, связанные с микробиологическим исследованием вечномёрзлых (и не только) пород, в частности, проблема контаминации объектов исследования микроорганизмами из внешней среды и в разные времена, проблема неполноты выявленного разнообразия бактерий и причин отсутствия их отдельных групп и т.д. Этим проблемам, общим для микробиологии естественных сред обитания, были посвящены и многие более поздние работы, однако и сегодня эти проблемы встают перед исследователями. Как очевидно из рецензируемой диссертации, они хорошо

знакомы и ее автору, и многое для их решения им было сделано. Поэтому, *во-первых*, хотелось бы, чтобы автор подытожил данные о возможной контаминации исследованных образцов микроорганизмами из разных источников и в разные времена. *Во-вторых*, указал, что известно о микроорганизмах в прилежащих участках почвы, воздуха (об этом у автора есть публикации, материал которых, однако, не вошел в текст диссертации).

Третий вопрос связан с проведением молекулярно-биологического анализа образцов в разных лабораториях. Какова сходимость полученных в них результатов? Есть ли данные, полученные в разных лабораториях для одного и того же образца?

Еще один вопрос, который было бы интересно обсудить, связан с использованием микробных сообществ как индикаторов генезиса льдов. Полученное автором распределение микробных сообществ на кластеры действительно внушает надежду на использование их как дополнительных индикаторов при изучении генезиса мерзлых отложений. Это большая удача диссертанта. Насколько распространен (или уникален) данный подход?

Уместно напомнить, что в 1937 г. Г.Л. Могилевским был предложен метод использования микроорганизмов, окисляющих газообразные углеводороды в качестве индикаторов при поиске нефтегазовых месторождений. Он был предложен в качестве дополнительного метода к основной геологической съемке и некоторое время использовался.

Следующий вопрос, уже не требующий ответа, касается метаногенеза и ацетогенеза в психрофильном микробном сообществе. Обсуждая во «Введении в природоведческую микробиологию» конкуренцию за молекулярный водород между гидрогенотрофными метаногенами и ацетогенами в психрофильном микробном сообществе тундры, академик Г.А. Заварзин отмечал, что метаногены обладают большим сродством к водороду и в мезофильных условиях выигрывают конкуренцию, и конечным продуктом анаэробного микробного сообщества является метан. Но при понижении температуры (до 15°C) главенствующей группой становятся

ацетогенные бактерии, и конечным продуктом сообщества ставится ацетат. Таким образом, переключение с метаногенеза на ацетогенез происходит в зависимости от температурного порога. И далее. «За короткий вегетационный период, - отмечает Г.А. Заварзин, - глубокий гидролиз растительных оболочек не успевает осуществиться, поэтому возникает короткая пищевая цепь, свойственная эфемерам-копиотрофам, в которой органические вещества используются по пути маслянокислого брожения, с обильным выделением водорода, который в свою очередь используется гомоацетогенными бактериями с образованием ацетата. Водородные метаногены отсутствуют. Разложение ацетата очень медленно осуществляется ацетокластическими метаногенами». Эти очень важные закономерности могли бы пригодиться автору при осмыслении его данных.

Отдавая дань успеху работы и заслуживающим научного обсуждения моментам, в отзыве необходимо сделать и ряд мелких **замечаний**.

1. С точки зрения микробиолога, трудно назвать удачным перечисление метана и микроорганизмов как однородных членов предложения (сродни чаепитию с бабушкой и вареньем); хотя в качестве «факторов» для геолога это оправдано.

2. Неприятное впечатление производит разное написание одних и тех же таксонов (например, *Acidobacteria* и *Acidobacteriota*), но это не вина автора, а лишь дань стремительным изменениям в систематике микроорганизмов, с которыми сейчас приходится сталкиваться.

3. В работе много часто термин «микробное сообщество», однако под ним подразумевается фактически просто микроорганизмы. А это не множество, а система микроорганизмов, связанных функциональными связями. Такой подход, сформулированный Г.А. Заварзиным, позволяет понять микробные процессы в природе. К сожалению, в современной литературе, особенно англоязычной, суть этого термина теряется.

Несмотря на попытки указать экологические группы (водные бактерии, фотосинтезирующие бактерии и т.д.), структура микробных сообществ

остаётся нерасшифрованной. Конечно, в этом не вина автора. Сообщество – очень сложная система, для его анализа необходимо понимание метаболизма всех его членов, а названия таксонов, которые выдает современная база данных, в большинстве случаев не позволяет судить о метаболизме.

На мой взгляд, работа выиграла бы, если бы в ней присутствовали не только результаты молекулярно-генетических исследований, но и данные, полученные и классическими методами, позволяющими выявлять физиологические (функциональные) группы микроорганизмов.

4. Можно отметить ряд неудачных терминов (правильно говорить не фотосинтетические, а фотосинтезирующие бактерии) и опечаток. Можно перечислить ряд незначительных спорных моментов, однако они могут увести дискуссию далеко от геологических проблем и поэтому не упоминаются.

Перечисленные мелкие замечания свидетельствуют о необходимости дальнейшего развития науки и совершенно не умаляют значимости диссертационной работы Чербуниной Марии Юрьевны. Диссертация производит прекрасное впечатление. Это законченная научная работа. Она выполнена на высоком современном уровне, имеет научную новизну, научную и практическую ценность, у этой работы есть большие перспективы для дальнейших исследований. Работа выполнена самостоятельно, обладает внутренним единством, содержит новые научные результаты и положения, свидетельствующие о личном вкладе в нее автора.

Диссертация М.Ю. Чербуниной отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В.Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует паспорту специальности 1.6.7. – «Инженерная геология, мерзлотоведение и грунтоведение» (по геолого-минералогическим наукам), а также критериям, определенным пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В.Ломоносова. Работа

оформлена, согласно приложениям № 5, 6 Положения о диссертационном совете Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова.

Таким образом, соискатель Чербунина Мария Юрьевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата геолого-минералогических наук по специальности 1.6.7. – «Инженерная геология, мерзлотоведение и грунтоведение».

Официальный оппонент:

доктор биологических наук, доцент, ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», биологический факультет, кафедра микробиологии, доцент

Колотилова Наталья Николаевна,

Контактные данные:

тел.: +7 (495) 939-54-83; e-mail: k

Специальность, по которой официальным оппонентом защищена диссертация:

07.00.10 - История науки и техники

Адрес места работы:

119991, Москва, ГСП-1, Ленинские горы, д. 1, стр. 12,

биологический факультет, комн. 309,

ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В.

Ломоносова», Биологический факультет, кафедра микробиологии

Тел.: +7 (495) 939-54-83; e-mail:

Подпись сотрудника ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова» Колотиловой Н.Н. удостоверяю:

Декан биол. ф-та МГУ,
академик И.И. Кириллов

