

## ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу Рыжмановой Яны Владимировны «Новые экстремофильные анаэробные бактерии, восстанавливающие соединения серы и железа», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.03 – микробиология

Сульфатвосстанавливающие бактерии (СВБ) являются важным звеном круговорота веществ природы, активно выполняя экологические и метаболические функции в природных экосистемах. С ними связывают образование нефти, сероводорода в морях, почвах, лечебных грязях. СВБ хорошо адаптированы к экстремальным условиям существования и населяют различные природные и искусственные экосистемы с широким диапазоном физико-химических условий: морские осадки, вулканический шлак, анаэробные очистные сооружения, места нефтедобычи, рисовые поля, ризосферу растений, гиперсоленые бактериальные маты и даже организм человека. В последнее время исследования экосистем содовых озер показали, что в условиях высокой щелочности среды терминальную стадию разложения органического вещества также осуществляют СВБ. Предпринятые усилия отечественных и зарубежных ученых позволили с помощью молекулярных методов описать целый ряд новых таксонов СВБ и оценить разнообразие этой группы микроорганизмов в гиперсоленных озерах. К началу работ автора диссертации данные о распространении СВБ в содовых озерах, характеризующихся низкой соленостью, были малочисленными и практически отсутствовали данные о СВБ в другой экстремальной экосистеме – криопэгах в многолетнемерзлых отложениях Арктики. Оставался также открытый вопрос о возможности сульфатредукторов исследованных мест обитания восстанавливать соединения железа.

В связи со всем вышесказанным цель данной работы – поиск, идентификация и количественная оценка анаэробных бактерий, способных использовать соединения серы и железа в качестве акцепторов электронов, в криопэгах полуострова Ямал и донных осадках содовых озер Соленое и Сульфатное (Южная Бурятия) с использованием микробиологических и молекулярно-биологических методов – представляется актуальной и интересной, а задачи исследования – логичными и обоснованными.

К чести диссертанта все поставленные задачи были успешно выполнены.

Диссертация производит очень хорошее впечатление. Материал изложен в понятной доступной форме и снабжен хорошими качественными рисунками, графиками, схемами, фотографиями и диаграммами.

Диссертационная работа изложена на 113 страницах и включает обзор литературы (1-я и 2-я главы), описание методов исследований (3-я глава), результаты (4-я глава), заключение, выводы и список литературы (230 ссылок).

Экспериментальная часть диссертации предваряется обзором литературы, который дает четкое представление о филогении СВБ, их экологии и распространении в экосистемах многолетнемерзлых отложений и содовых озер, а также методах детекции и анализа популяций сульфатредукторов. В Табл. 1 и Рис. 3 приведены физиолого-биохимические и генетические характеристики всех известных сульфатредуктов, относящихся к 5 классам домена Bacteria и 2 классам домена Archaea, что дает полное представление о таксономической структуре этой группы бактерий.

Обзор литературы включает 28 из 113 страниц общего объема текста и завершается кратким заключением. Таким образом, его можно рассматривать как всеобъемлющую и представляющую самостоятельную ценность сводку литературы по распространению и характеристике СВБ.

В методической части подробно рассматриваются объекты, исследованные в диссертационной работе, – донные осадки двух содовых озер Бурятии и криопэги полуострова Ямал, а также внушительный набор разнообразнейших методов, использованных доктором для решения поставленных задач. Все методы излагаются достаточно подробно; раздел хорошо структурирован, что позволяет при дальнейшем чтении легко находить интересующие материалы.

Собственно результаты экспериментальной работы автора изложены в 4-ой главе, семь подразделов которой посвящены различным аспектам исследуемой проблемы. Два первых подраздела описывают результаты обнаружения и оценки количества СВБ в криопэгах арктического полуострова Ямал с применением микробиологических и молекулярных методов, выделение и описание нового вида психротолерантного сульфатредуктора '*Desulfovibrio algoritolerans*', способного, кроме соединений серы, восстанавливать соединения железа.

Последующие подразделы описывают результаты детекции СВБ в донных осадках содовых озер, где Я.В. Рыжмановой впервые удалось оценить с помощью метода ПЦР «в

реальном времени» не только общее число СВБ, но и численность бактерий рода *Desulfonatronum* – ключевого участника терминальной стадии деградации органического вещества в алкалофильных микробных сообществах. Для выполнения этой непростой задачи автору пришлось разработать пару праймеров на ген 16S рРНК рода *Desulfonatronum* и протестировать эту пару праймеров на группе (18 штаммов) нейтрофильных и алкалофильных культур СВБ.

Результаты экспериментальной работы в этой части содержат также описание 4-х новых штаммов галоалкалофильных анаэробных бактерий, выделенных из донных осадков содовых озер: *Desulfonatronum buryatense*, ‘*Anoxynatronum buryatense*’, а также новых штаммов известного вида *Desulfonatronum lacustre* – Ki4 и Su2. Выделенные бактерии полно охарактеризованы. Описание новых видов полностью соответствует правилам номенклатурного кода и правомерность предложения новых таксонов не вызывает сомнений. Следует отметить, что полученные автором данные являются важными в области исследования биоразнообразия экстремофильных прокариот.

Очень интересным представляется раздел результатов диссертации (глава 4.6) с описанием эксперимента по участию СВБ содовых озер в восстановлении трехвалентного железа в условиях высокой щелочности среды (рН 9.5-10.0). Подобный процесс открыт совсем недавно и был описан для алкалофильных железоредукторов. Однако в данной работе впервые показана возможность использования аморфной гидроокиси железа в качестве акцептора электронов для алкалофильных сульфатредукторов.

Оценивая рассматриваемую работу можно сказать, что в результате ее выполнения получен важный научный материал, позволяющий по-новому оценить разнообразие СВБ в минерализованных экосистемах, открывающий весьма интересные перспективы дальнейших исследований. Результаты, полученные диссидентом, могут представлять также практический интерес и быть использованы в био- и нанотехнологиях, для очистки сточных вод и для детекции новых штаммов сульфатвосстанавливающих бактерий.

Как и любая объемная работа, диссертация Я.В. Рыжмановой вызывает ряд вопросов и замечаний:

- Каково возможное значение способности использовать трехвалентное железо в качестве акцепторов электронов для исследованных СВБ?
- Как можно объяснить, что два штамма *Desulfonatronum lacustre* – Ki4 и Su2 имеют разную способность восстанавливать Fe(III)?

- На Рис.18 отсутствуют учетные номера GenBank последовательностей *dsrAB* генов, полученных в работе.

Высказанные замечания не снижают общей высокой оценки работы, не умаляют значимости полученных результатов и не меняют основные выводы и рекомендации, сформулированные в диссертации.

Высокий методический уровень диссертации не оставляет сомнений в достоверности полученных результатов, также как и новизне полученных в работе научных данных. Основные материалы диссертации Я.В. Рыжмановой представлены в двух статьях в ведущих журналах. Выводы, сделанные на основе экспериментальных данных диссертанта, являются обоснованными и соответствуют целям и задачам исследования. Автореферат соответствует содержанию диссертации.

Таким образом, диссертационная работа Я.В. Рыжмановой «Новые экстремофильные анаэробные бактерии, восстанавливающие соединения серы и железа» по своей актуальности, научной новизне и практической значимости соответствует требованиям «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. №842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор достоин присуждения искомой степени по специальности 03.02.03 – микробиология.

Д.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории биологически активных веществ кафедры микробиологии биологического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»  
(Потехина Н.В.)



Потехиной Н.В.

30.09.15 Пот.

119991, Российская Федерация, Москва, Ленинские горы, д. 1, Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова; тел. +7(495)939-10-00, факс +7(495)939-01-26; e-mail: [potekhina56@mail.ru](mailto:potekhina56@mail.ru)