

УТВЕРЖДАЮ

Проректор по научной работе  
Национального исследовательского  
Томского государственного университета,  
доктор физико-математических наук



И.В. Ивонин

» сентября 2015 г.

## ОТЗЫВ

**ведущей организации на диссертационную работу  
Рыжмановой Яны Владимировны «Новые экстремофильные анаэробные  
бактерии, восстанавливающие соединения серы и железа», представленную  
на соискание ученой степени кандидата биологических наук  
по специальности 03.02.03 — микробиология**

**Актуальность темы исследования.** Диссертация Я.В. Рыжмановой посвящена поиску и идентификации анаэробных бактерий, использующих соединения серы и способных использовать железо в качестве акцепторов электронов, в экстремальных низкотемпературных и щелочных экосистемах. Исследование сосредоточено на количественной оценке, выделении и характеристике новых сульфатредуцирующих бактерий (СРБ). Несмотря на широкий интерес к этой группе прокариот, немногие лаборатории работают с чистыми культурами сульфатредукторов из-за сложной техники культивирования. В то же время, культивирование сегодня чрезвычайно актуально и необходимо для расширения знаний о видовом разнообразии, метаболическом потенциале СРБ, для понимания их биологии и функциональной роли в организации экосистем.

В качестве объектов для выделения экстремофильных бактерий были выбраны криопэги полуострова Ямал и донные осадки содовых озер Южной Бурятии. Если высокоминерализованные содовые озера имеют давнюю историю изучения и хорошо известны как места обитания галоалкалофильных сульфатредукторов и многих других метаболических групп, то криопэги с отрицательными температурами представляют собой малоисследованные экосистемы, перспективные для поиска новых, ранее неописанных прокариот.

Выделение и характеристика микроорганизмов с новыми свойствами, такими как устойчивость к крайним значениям факторов окружающей среды, важны для

развития биотехнологии. В первую очередь экстремофильные бактерии рассматриваются как источники для получения промышленно значимых ферментов, устойчивых в широком диапазоне температуры и pH («экстремозимов»). Кроме того, бактерии с необычными свойствами могут служить моделями для изучения механизмов устойчивости к стрессу.

**Научная новизна исследования.** Работа обладает неоспоримой научной новизной. Автором впервые оценена численность СРБ в криопэгах Ямала и содовых озерах Бурятии с использованием количественной ПЦР. Был выделен новый психро- и галотолерантный микроорганизм и предложен новый вид '*Desulfovibrio algaritolerans*' sp.nov. Выделены несколько галоалкалофильных СРБ и описан новый вид *Desulfonatronum buryatense* sp.nov., описание опубликовано в авторитетном научном издании «Extremophiles» (Ryzhmanova et al., 2013). Таким образом, расширено представление о видовом разнообразии СРБ в экстремальных экосистемах.

Результаты исследования отличаются новизной в области понимания метаболических особенностей СРБ. Впервые описана алкалофильная редукция железа сульфатредуцирующими бактериями. Две бактерии, выделенные Яной Владимировной из донных осадков содовых озер, *Desulfonatronum buryatense* sp.nov. и *D. lacustre* штамм Su2, способны расти с использованием трехвалентного железа в качестве акцептора электронов.

Методом *in silico* разработаны и протестированы новые ПЦР-праймеры на участок гена *dsrAB*, подходящие для молекулярной детекции СРБ в щелочных экосистемах. Разработаны также праймеры на участок гена 16S рРНК бактерий рода *Desulfonatronum*. Обе пары праймеров могут применяться для селективной амплификации фрагментов ДНК сульфатредукторов методом ПЦР «в реальном времени».

**Структура и объем работы.** Диссертация Я.В. Рыжмановой изложена на 113 страницах машинописного текста, состоит из введения, четырех глав, заключения и выводов, содержит 22 рисунка и 15 таблиц. Работа хорошо структурирована, изложена ясным языком и аккуратно оформлена. Введение включает сведения об актуальности темы исследования, научной новизне и практической значимости работы. Во введении также обозначены цель и задачи исследования.

Обзор литературы состоит из двух глав: (1) характеристики биоразнообразия СРБ в экстремальных местообитаниях и (2) описания алкалофильных микробных сообществ содовых озер. Обзор литературы хорошо написан и информативен, при его подготовке обработан большой объем литературы, включая классические и современные источники по теме диссертации. Небольшое замечание касается

источника рисунков 1 и 2 (Madigan et al., 2010), который представляет собой учебник по микробиологии, в то время как диссертационная работа должна быть основана на научных публикациях. Стоило бы расширить раздел, посвященный психроактивным СРБ (раздел 1.3), т.к. он непосредственно связан с темой диссертации, включить сведения о физиологических и биохимических основах устойчивости микроорганизмов к низким температурам. Обзор завершает заключение, в котором в том числе обобщены сведения о практической значимости психротолерантных и галоалкалофильных СРБ.

Глава 3 посвящена описанию материалов и методов исследования. Глава включает краткое описание объектов исследования и отбора проб, а также детальные протоколы культуральных, биохимических и молекулярно-биологических методов, использованных при подготовке диссертации.

Результаты и их обсуждение представлены в главе 4. В изложении результатов прослеживается логика: от численной характеристики бактерий в криопэгах и молекулярной детекции с определением численности СРБ в содовых озерах автор последовательно переходит к получению накопительных и чистых культур СРБ и их детальному описанию. Яной Владимировной выделены несколько штаммов СРБ и предложено три новых вида. Один их микроорганизмов психротолерантный и растет в пределах  $-2\text{ }^{\circ}\text{C}$  ...  $+36\text{ }^{\circ}\text{C}$  при нейтральных рН, а другие штаммы представлены мезофильными облигатно алкалофильными бактериями. Два из выделенных организмов, *Desulfonatronum buryatense* sp.nov. и *D. lacustre* штамм Su2, способны использовать трехвалентное железо в качестве акцептора электронов. С нашей точки зрения название диссертации излишне акцентирует восстановление соединений железа этими бактериями, т.к. они изначально были выделены как сульфатредуцирующие. Обсуждение выполнено на высоком научном уровне и представлено по ходу описания полученных результатов. В заключении автор кратко резюмирует результаты.

**Достоверность полученных результатов, степень обоснованности результатов и выводов.** Я.В. Рыжмановой получен довольно объемный экспериментальный материал. Последовательное сочетание поиска и количественного определения СРБ молекулярными методами с выделением чистых культур и полным описанием новых видов определяет высокое качество результатов. Результаты получены и представлены в классических традициях микробиологии. На основании дифференцирующих характеристик автором обоснованно предложены новые виды сульфатредуцирующих бактерий родов *Desulfovibrio*, *Desulfonatronum* и анаэробной протеолитической бактерии *Anoxynatronum*.

Полученные данные представлены в виде таблиц, диаграмм, фотографий клеток и электрофореграмм. Нельзя не отметить высокое качество микрофотографий бактериальных клеток. К сожалению, отдельные диаграммы представлены без статистической обработки: не показано стандартное отклонение на рисунках 9, 16, 21, 22.

Материалы диссертационной работы опубликованы в ведущих научных изданиях (2 статьи), представлены на международных конференциях и конгрессах. Количество публикаций соответствует требованиям ВАК для кандидатских диссертаций.

**Заключение.** Диссертация «Новые экстремофильные анаэробные бактерии, восстанавливающие соединения серы и железа» содержит новые научные результаты, обладает внутренним единством и свидетельствует о личном вкладе автора в науку. Диссертация представляет собой научно-квалификационную работу, в которой содержится решение задачи, имеющей значение для развития микробиологии и касающейся описания новых экстремофильных бактерий, и соответствует требованиям, изложенным в действующем «Положении о присуждении ученых степеней». Автор диссертации, Рыжманова Яна Владимировна, заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.03 — микробиология.

Диссертационная работа рассмотрена, отзыв утвержден на заседании кафедры физиологии растений и биотехнологии Национального исследовательского Томского государственного университета от 25.08.2015 г.

Зав. кафедрой физиологии растений  
и биотехнологии ТГУ,  
доктор биологических наук, профессор

Ольга Викторовна Карначук

Доцент кафедры физиологии растений  
и биотехнологии ТГУ,  
кандидат биологических наук

Юлия Александровна Франк

«01» сентября 2015 г.

Федеральное государственное автономное образовательное  
учреждение высшего образования «Национальный исследовательский  
Томский государственный университет»  
634050, г. Томск, проспект Ленина, 36, тел./факс (3822) 52-97-65  
e-mail: [olga.karnachuk@green.tsu.ru](mailto:olga.karnachuk@green.tsu.ru)



Н. Ю. БУРОВА