

УТВЕРЖДАЮ

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



И.В. Ивонин

« 28 » августа 2015 г.

### ОТЗЫВ

ведущей организации на диссертационную работу Корнеевой Валерии Алексеевны «Биоразнообразие сульфатредуцирующих бактерий в кислород-содержащих водах Черного и Балтийского морей», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.03 - микробиология

**Актуальность темы исследования.** Диссертация В.А. Корнеевой посвящена изучению филогенетического разнообразия сульфатредуцирующих бактерий (СРБ) в кислород-содержащей водной толще Черного и Балтийского морей. Определение филогенетического разнообразия и функциональных связей в сообществах СРБ, развивающихся в присутствии кислорода, является актуальной задачей микробной экологии. СРБ традиционно рассматривались как строго анаэробные организмы, но с 1980-х годов появились первые доказательства устойчивости сульфатредукторов к кислороду. На сегодняшний день существуют лишь единичные исследования в области изучения структуры сообществ СРБ в сайтах, связанных с кислородом. Выделение и характеристика новых представителей, устойчивых к кислороду, важны для понимания механизмов защиты анаэробов от окислительного стресса.

**Структура и объем работы.** Диссертационная работа В.А. Корнеевой носит законченный характер, изложена на 178 страницах машинописного текста, содержит 24 рисунка и 18 таблиц. Работа хорошо структурирована и изложена ясным языком. Введение включает сведения об актуальности темы исследования, степени её разработанности, научной новизне и значимости работы.

Обзор литературы состоит из трех глав: общей характеристики СРБ, характеристики водной толщи и сообществ СРБ Черного и Балтийского морей, обзора основных молекулярно-генетических методов микробной экологии. Обзор литературы содержит 10 рисунков. К сожалению, рисунки 1, 3, 5, 7 перенесены из англоязычных источников без перевода на русский язык. Для части рисунков (рисунки 6 и 9) не указаны ссылки на источники. В целом, обзор производит хорошее впечатление, переработан большой объем литературы, в том числе современные публикации по теме исследования. Однако стоило бы расширить раздел, посвященный азотолерантности СРБ (раздел 1.2.1), т.к. он непосредственно связан с темой диссертации. Упущены некоторые основополагающие в этой области работы, например, Sypionka et al., 1985 (FEMS Microbiol Lett 31:39-45). Краткое описание современной методологической базы для оценки филогенетического разнообразия, включая пиросеквенирование отдельных генов и метагеномику, альтернативные методы молекулярного фиджинга, также украсило бы работу.

Глава 4 посвящена описанию материалов и методов исследования. Глава включает подробное описание отбора проб, методик количественного учета и идентификации микроорганизмов. Приведены протоколы FISH-анализа, классической, «вложенной» и количественной ПЦР, ДГГЭ. Подробно описано культивирование СРБ, выделение чистой культуры *Desulfofrigus* sp. и методики её изучения. Уделено внимание описанию микроскопических и геохимических методов.

Две последующие главы (глава 5 и глава 6) содержат результаты. Стоит отметить, что автором проделан большой объем работы (результаты и обсуждение по объему превышают половину всей диссертации). Получены интересные результаты. Методами FISH и ПЦР обнаружено присутствие в кислород-содержащей водной толще основных групп СРБ, а при анализе фрагментов последовательностей гена *dsrAB* большинство из них ассоциировались с ранее неописанными микроорганизмами. Результаты

молекулярного скрининга подтверждены получением активных накопительных культур и выделением чистой культуры новой психрофильной аэротолерантной бактерии.

Полученные результаты обсуждены на высоком научном уровне в соответствующем разделе. В конце работы приведены выводы и заключение. Суммируя экспериментальные данные и их интерпретацию, автор делает важное заключение о том, что в кислород-содержащей водной толще Черного и Балтийского морей существуют сложившиеся сообщества СРБ, которые приспособлены к постоянному существованию в микроаэрофильных условиях.

**Новизна исследования, значимость полученных результатов для развития науки и промышленности.** Работа обладает несомненной научной новизной. Автором впервые проведена детальная оценка филогенетического разнообразия СРБ в кислород-содержащей толще Черного и Балтийского морей. Ранее усилия исследователей были сосредоточены в основном на поиске и характеристике СРБ в придонных слоях и донных отложениях. Из аэробной толщи воды Черного моря выделена и описана новая сульфатредуцирующая бактерия, устойчивая к кислороду. Предложен новый вид рода *Desulfofrigus* – *D. euxinos*. Таким образом, получены новые, принципиально важные данные о сообществах СРБ в кислород-содержащей водной толще морей.

Практическая значимость работы заключается в возможности использования полученных данных для прогнозирования и борьбы с биокоррозией металлических поверхностей в морской воде и пластовых рассолах. Полученные культуры могут использоваться для биоремедиации солесодержащих вод, в том числе с повышенными концентрациями хрома.

**Достоверность полученных результатов, степень обоснованности результатов и выводов.** Валерией Алексеевной получен обширный экспериментальный материал. Грамотное сочетание классических культуральных, геохимических (включая радиоизотопный анализ) и современных молекулярных методов (FISH и методы на основе ПЦР с последующим секвенированием последовательностей и их анализом) определяет высокое качество и достоверность полученных результатов. Выбор Черного и Балтийского морей в качестве объектов исследования является обоснованным. Черное море – это крупнейший меромиктический водоем со специфическими гидрологическими и гидрохимическими условиями,

благоприятными для развития СРБ. Представители этой группы бактерий также стабильно обнаруживают в донных осадках Балтийского моря.

Филогенетический состав сообществ СРБ проанализирован тремя методами в сочетании (FISH, ПЦР с селективными праймерами и ПЦР-ДГГЭ). Обращают на себя внимание явные различия в данных по численности разных групп СРБ в водной толще Черного моря, полученные методом FISH и методами на основе амплификации генов 16S рРНК и *dsrB*. Однако в обсуждении автор анализирует эти расхождения и приходит к выводу, что стандартный метод FISH больше подходит для качественного анализа сообщества, нежели для количественной оценки соотношения тех или иных групп (с. 142). К достоинствам работы можно отнести то, что для коррекции результатов по автофлуоресценции проводили гибридизацию без добавления зонда. Для будущих исследований можно рекомендовать автору также корректировать результаты FISH, вычитая количество сигналов, полученных при неспецифической гибридизации (например, с зондом NON338).

Полученные данные наглядно представлены в виде таблиц и диаграмм. Отметим отсутствие статистической обработки отдельных результатов. Так, кривые роста чистой культуры *Desulfofrigus* sp. SrB-30 (рисунки 16, 17) изображены без учета величин стандартного отклонения. Выводы работы обоснованы и отвечают задачам. Лишь во втором выводе упущены данные, полученные для сообществ Черного моря методом FISH. Видимо, это связано, что при обсуждении автор предлагает интерпретировать данные FISH с качественной точки зрения, что уже отмечено в отзыве.

Материалы диссертационной работы опубликованы в ведущих российских и зарубежных журналах «Микробиология» (3 статьи), «Вестник Московского Университета», «Aquatic Microbial Ecology». Работа прошла апробацию на международных конференциях.

**Заключение.** Диссертация «Биоразнообразие сульфатредуцирующих бактерий в кислород-содержащих водах черного и балтийского морей» обладает внутренним единством и содержит новые научные результаты. Диссертация представляет собой научно-квалификационную работу, в которой содержится решение задачи, имеющей значение для развития микробиологии, а именно экологии микроорганизмов, и касающейся исследования сульфатредуцирующих бактерий в кислород-содержащей водной толще морей, и соответствует требованиям, изложенным в действующем

«Положении о присуждении ученых степеней». Автор диссертации, Корнеева Валерия Алексеевна, 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 микробиологии Томского государственного университета от 25.08.2015 г.

Зав. кафедрой физиологии растений  
и биотехнологии ТГУ, д.б.н., профессор

Ольга Викторовна Карначук

Доцент кафедры физиологии растений  
и биотехнологии ТГУ, к.б.н.

Юлия Александровна Франк

« 25 » августа 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.tomsk.ru](mailto:olga.karnachuk@green.tomsk.ru)



ПОДПИСЬ УДОСТОВЕРЯЮ  
Ведущий документовед  
управления делами  
Н.Г. Михеева

### Сведения о ведущей организации

по диссертации Корнеевой Валерии Алексеевны  
 «Биоразнообразие сульфатредуцирующих бактерий в кислород-содержащих водах Черного и Балтийского морей» по специальности 03.02.03 – микробиология  
 на соискание ученой степени кандидата биологических наук

Полное наименование организации в соответствии с уставом	Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Томский государственный университет»
Сокращенные наименования организации в соответствии с уставом	Национальный исследовательский Томский государственный университет, Томский государственный университет, НИ ТГУ, ТГУ
Место нахождения	Российская Федерация, Томская область, г. Томск
Почтовый индекс, адрес организации	г. Томск, пр. Ленина, 36
Телефон (при наличии)	(3822)52-98-52
Адрес электронной почты (при наличии)	rector@tsu.ru
Адрес официального сайта в сети «Интернет» (при наличии)	www.tsu.ru

### Список основных публикаций работников ведущей организации по теме диссертации в рецензируемых научных изданиях за последние 10 лет

1.	<u>Карначук О.В.</u> , Курганская И.А., Авакян М.Р., Франк Ю.А., Филенко Р.А., Данилова Э.В., Пименов Н.В. (2015) Ацидофильный <i>Desulfosporosinus</i> из окисленных отходов добычи металлов в Забайкальском крае. Т. 84, № 5, в печати.
2.	<u>Frank Y.A.</u> , Banks D., Avakian M.R., Antsiferov D.V., Kadychagov P.B. and <u>Karnachuk O.V.</u> (2015) Firmicutes is an important component of microbial communities in water-injected and pristine oil reservoirs; Western Siberia, Russia. <i>Geomicrobiology Journal</i> . DOI:10.1080/01490451.2015.1045635.
3.	<u>Karnachuk O.V.</u> , Mardanov A.V., Avakyan M.R., Kadnikov V.V., Vlasova M., Beletsky A.V., Gerasimchuk A.L., Ravin N.V. (2015) Draft genome sequence of the first acid-tolerant sulfate-reducing delta-proteobacterium <i>Desulfovibrio</i> sp. TomC having potential for minewater treatment. <i>FEMS Microbiology Letters</i> . Vol. 362, doi:10.1093/femsle/fnv007.
4.	Abicht H.K., Mancini S., <u>Karnachuk O.V.</u> and Solioz M. (2011) Genome sequence of <i>Desulfosporosinus</i> sp. OT, an acidophilic sulfate-reducing bacterium from copper mining waste in Norilsk, Northern Siberia. <i>Journal of Bacteriology</i> . Vol. 193 (21), P. 6104–6105.
5.	Mancini S., Abicht H.K., <u>Karnachuk O.V.</u> and Solioz M. (2011) Genome sequence of <i>Desulfovibrio</i> sp. A2, a highly copper resistant, sulfate-reducing bacterium isolated from effluents of a zinc smelter at the Urals. <i>Journal of Bacteriology</i> . Vol. 193 (21), P. 6793–6794.
6.	Ikkert O.P., Gerasimchuk A.L., Bukhtiyarova P.A., Tuovinen O.H. and <u>Karnachuk O.V.</u> (2013) Characterization of precipitates formed by H <sub>2</sub> S-producing, Cu-resistant Firmicute isolates of <i>Tissierella</i> from human gut and <i>Desulfosporosinus</i> from mine waste. <i>Antonie van Leeuwenhoek</i> . Vol. 103. P. 1221–1234.
7.	<u>Франк Ю.А.</u> , Комлева Е.В., Копнова А.В. (2010) Мониторинг микробных сообществ нефтяных месторождений с использованием методов молекулярной биологии. Защита окружающей среды в нефтегазовом комплексе. №8. С.25-33.
8.	Kaksonen A.H., Dopson M., <u>Karnachuk O.</u> , Tuovinen O.H., and Puhakka J.A. (2008) Biological iron oxidation and sulfate reduction in the treatment of acid mine drainage at low temperatures. In: <i>Psychrophiles: from Biodiversity to Biotechnology</i> , Eds. R. Margesin et al., 2008. pp. 429-454, Springer Verlag, Berlin.
9.	<u>Карначук О.В.</u> , Пименов Н.В., Юсупов С.К., <u>Франк Ю.А.</u> , Пухакка Я.А., Иванов М.В. (2006) Распределение, разнообразие и активность сульфатредуцирующих бактерий в водной толще озера Гёк-Гель, Азербайджан. <i>Микробиология</i> . Т. 75, №. 1. С. 101-109.
10.	<u>Karnachuk O.V.</u> , Pimenov N.V., Yusupov S.K., <u>Frank Y.A.</u> , Kaksonen A.H., Puhakka J.A., Ivanov M.V., Lindström E.B., and Tuovinen O.H. (2005) Sulfate reduction potential in sediments in the Norilsk mining area, northern Siberia. <i>Geomicrobiology Journal</i> , Vol. 22, № 1-2. P. 11-25.

Верно

Проректор по научной работе



*И.В. Ивонин*  
 М.П.

Ивонин Иван Варфоломеевич