

«УТВЕРЖДАЮ»

Проректор по научной работе ФГБОУ ВПО

«Санкт-Петербургский государственный

технологический институт

(технический университет)»

д. х. н., проф. Гарабаджиу А.В.

М.п. 02.02.2017



Отзыв ведущей организации на диссертационную работу Пуговкина Дмитрия Витальевича «**Эпифитные бактериоценозы *Fucus vesiculosus* L. Баренцева моря и их роль в деградации нефтяных загрязнений**», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 25.00.28 – Океанология

Диссертационная работа **Пуговкина Дмитрия Витальевича** посвящена исследованию эпифитных бактериальных сообществ фукусовых водорослей (на примере фукуса пузырчатого) Баренцева моря.

Диссертационное исследование представлено на 146 страницах машинописного текста, состоит из введения, 3 глав, заключения, выводов, списка использованной литературы, приложений. Работа содержит 31 рисунок, 10 таблиц, 3 приложения. Список литературы содержит 179 источников, в том числе 77 на иностранных языках. Приложение представлено списком родов обнаруженных эпифитных бактерий с долей каждого рода в сообществе.

В качестве актуальности автором выделяется роль морских бактериальных сообществ в биологической очистке прибрежных акваторий Арктических морей, где из-за низких температур воды и длительных периодов полярной ночи естественное разложение нефтепродуктов (НП) сильно замедлено.

Диссертантом справедливо отмечается, что основная нагрузка в данном процессе ложится на углеводородокисляющие микроорганизмы (углеводородокисляющие бактерии – УОБ). В последние годы внимание исследователей привлекли ассоциации морских растений (водорослей-макрофитов) и микроорганизмов (бактерий). Показано, что водоросли-макрофиты способны аккумулировать на своей поверхности НП, а эпифитные углеводородокисляющие бактерии, преобразуют эти НП до более простых соединений, и в результате делают их доступными для водорослей.

Автором четко и обоснованно поставлена цель, которая успешно достигнута посредством грамотно сформулированных задач.

Научная новизна состоит в том, что автору удалось при помощи экспериментальных и натуральных исследований показать способность симбиотической ассоциации макрофитов (фукуса пузырьчатого) и эпифитных бактерий к деструкции нефтяных углеводородов. Возможную роль симбиотической ассоциации макрофитов (фукуса пузырьчатого) и эпифитных бактерий в очистке прибрежных акваторий от нефтяного загрязнения.

Было отмечено влияние нефтяных углеводородов на количественные и качественные характеристики бактериального сообщества и физиологическое состояние водорослей. Несомненным достижением можно считать описание таксономической структуры бактериоценозов водорослей и ее изменений в условиях нефтяного загрязнения, выполненное при использовании современных молекулярно-генетических методов.

В плане теоретической и практической значимости данного исследования можно выделить следующее: Результаты, полученные в ходе работы, могут быть использованы для оценки роли симбиотической ассоциации водорослей и эпифитных микроорганизмов в биоремедиации морской среды. Знания об изменении таксономической структуры эпифитных бактериальных сообществ, и их роли в процессах разложения нефтепродуктов могут стать основой разработки новых и усовершенствования уже существующих технологий для борьбы с нефтяным загрязнением, а кроме этого позволят увеличить эффективность очистки прибрежных районов северных морей от нефтепродуктов.

Автором самостоятельно проведены отбор и обработка проб, выбор и модификация оптимальных методов исследования, освоены методы молекулярно-генетического анализа. Полученные результаты обобщены в виде настоящей работы. Все представленные в рукописи данные и результаты являются подлинными и оригинальными и, кроме специально оговоренных случаев, получены лично автором.

Результаты настоящего исследования докладывались на зарубежных и российских семинарах и конференциях. По теме диссертации опубликовано 19 работ из них – 3 в журналах из перечня ВАК.

Во введении обосновывается актуальность темы, сформулированы цель и основные задачи настоящего исследования, новизна работы, ее теоретическая и практическая значимость, указаны основные положения, выносимые на защиту.

В первой главе «Обзор литературы» представлена краткая история микробиологических исследований северных морей, проводится анализ степени изученности эпифитных бактериоценозов (в т.ч. углеводородокисляющих), проблемы выбора методик и подходов при проведении исследований этих объектов.

В главе 2 «Материалы и методы» представлена география района исследования и подробно описаны методы и подходы, использованные в работе для достижения поставленной цели. Объектом изучения обозначены

эпифитные бактериальные сообщества бурых водорослей *F. vesiculosus* L. (*Phaeophyta*), доминирующих на литорали северных морей и, согласно имеющимся данным, обладающие высокой степенью устойчивости к нефтяному загрязнению.

В главе «Результаты и обсуждение» представлены полученные в ходе выполнения исследований результаты, проводится их анализ, и на основании сравнения с имеющимися данными литературы, делаются выводы.

Данную главу диссертационного исследования можно разделить на методологическую часть и часть, в которой описываются и обсуждаются результаты, относящиеся непосредственно к эпифитным бактериям и роли ассоциации бактерий и водорослей в деструкции нефтяных загрязнений.

В методологической части проведен анализ основных методик, используемых в микробиологических исследованиях, проведено сравнение и выбраны оптимальные методы для снятия бактериальных клеток с поверхности водорослей и их культивирования. Было показано и обосновано, что метод, основанный на использовании ватных аппликаторов и среды Зобелла, является оптимальным (позволяет учитывать наибольшее количество культивируемых бактерий) для данных исследований.

В части, посвященной исследованию непосредственно эпифитных микроорганизмов, приведены результаты электронно-микроскопического изучения поверхности водорослей (как субстрата), показано влияние структуры поверхности водорослей на распределение бактерий, что также подтверждается данными о количественном распределении культивируемых бактерий по таллому фукуса.

Подобное распределение бактерий по таллому фукуса можно объяснить особенностями его роста. При этом автор ссылается на заслуживающие доверия литературные источники, посвященные исследованию макрофитов.

Схожие закономерности распределения бактерий отмечены и для углеводородокисляющих бактерий.

Также показано, что количество бактерий на поверхности талломов фукусов из загрязненной нефтепродуктами акватории значительно превышало таковое на фукусах, отобранных в незагрязненных водах. При этом, во всех случаях, на поверхности таллома фукуса численность сапротрофных бактерий на два три порядка выше углеводородокисляющих. И это вполне логично: углеводородокисляющие бактерии являются частью сапротрофного сообщества.

Результаты экспериментальных исследований, проведенные в лабораторных условиях, позволили автору сделать выводы о непосредственном участии эпифитных бактерий в деструкции нефтяных углеводородов. Интересен выявленный факт, что эпифитные бактерии из загрязненных и из чистых акваторий проявляют примерно одинаковые способности к разрушению нефтепродуктов. Автором справедливо отмечается, что в случае использования в качестве источника углеводородов сырой нефти результаты могли быть иными. Однако эта разница будет, скорее всего, состоять во времени адаптации эпифитных бактерий

из чистых акваторий к потреблению нефтяных углеводородов. Кроме этого эксперименты позволили сделать вывод, что в присутствии фукусовых водорослей нефтяные углеводороды наиболее активно разрушаются в первую неделю, при этом их концентрация снижается на 60 – 70%.

Довольно интересным является раздел работы, в котором представлены данные по таксономии эпифитных бактерий. К сожалению, в качестве доминирующих культивируемых бактерий было выделено только три рода, 4 вида углеводородокисляющих бактерий (*Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas guinea*, *Ochrobactrum anthropi*, *Rhodococcus fascians*, которые ранее описывались как углеводородокисляющие). Однако, это связано с несовершенством методов, которые, как правило, используются при изучении данной группы бактерий.

Несомненную новизну в биоокеанологию вносят результаты молекулярно-генетических анализов таксономической структуры эпифитных сообществ. В литературе подобная информация очень разрознена и не систематизирована. В данной работе предпринята попытка (вполне успешная) показать влияние нефтяного загрязнения на изменение структуры эпифитных бактерий. Показано как меняются доминирующие группы в условиях загрязнения. При этом доминирующим родом бактерий на поверхности водорослей, на долю которого приходится около трети всего бактериального сообщества, является род *Acinetobacter* (относится к типу *Proteobacteria*, класс *Gammaproteobacteria*). Учитывая, что в литературе данный род описывается как характерный для нефтяного загрязнения, данный факт можно использовать для мониторинга среды.

Представленные **выводы** обоснованы и четко сформулированы, отражают основные положения данной работы.

По работе имеется ряд замечаний и рекомендаций:

В разделе исследования, посвященном таксономической структуре эпифитных бактерий отмечено, что наименьшее количество родов отмечалось в губе Зеленецкой, максимальное – в акваториях Кольского залива. Возникает вопрос: за счет чего происходит увеличение родов в загрязненных районах? Они ведь не могут появиться в среде, если их там исходно не было?;

В работе не обсуждается наличие биопленок микроорганизмов на водорослях, т.к. именно в биопленках присутствуют микроорганизмы в симбиозе с наземными растениями.

Для выделения биопленок используемый метод выделения микроорганизмов не подходит.

Вероятно, обрастание водорослей эпифитными микроорганизмами представляет из себя многослойную биопленку.

Диссертантом в экспериментальной части работы по определению способности к нейтрализации НП ассоциацией макрофитов и бактерий показано, что в присутствии водорослей содержание нефтепродуктов активно снижается в первую неделю, однако в дальнейшем (начиная со второй недели) содержание НП в опытных емкостях с макрофитами и без, различается незначительно. Объяснение выявленному феномену в тексте не приводится. Возможно, это объясняется отсутствием смены воды в экспериментальных емкостях. Было бы

интересно провести подобные эксперименты в естественных условиях, либо приближенных к ним.

Вывод 3 в тексте диссертации не соответствуют таковому в автореферате. При этом смысл вывода 3 в автореферате и в полном тексте диссертации не изменен. Отличаются лишь формулировки.

В тексте диссертационного исследования присутствуют грамматические ошибки, опечатки, стилистические погрешности и повторения.

Приведенные выше замечания, ничуть не умаляют значимости работы.

Диссертационная работа ПУГОВКИНА Д. В. является законченной научно-квалификационной работой, полностью соответствует паспорту специальности 25.00.28 – океанология (биологические науки) и требованиям ВАК, предъявляемым к кандидатским диссертациям, установленным п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней» (Постановление Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842), а ее автор достоин присуждения искомой степени кандидата биологических наук.

Отзыв на диссертацию обсужден и утвержден на заседании кафедры технологии микробиологического синтеза Санкт-Петербургского государственного технологического института (технического университета) 2 февраля 2017 г. (протокол № 9).

Зав.каф. ТМС СПбГТИ(ТУ), к.т.н., доцент

Лисицкая Т.Б.

Профессор каф. ТМС СПбГТИ(ТУ), д.т.н.

Галынкин В.А.

Подпись зав. каф. к.т.н. Лисицкой Т.Б., проф., д.т.н. Галынкина В.А.

заверю на основании



Проф. Лисицкая Т.Б.
Галынкин В.А.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный технологический институт (технический университет)

190013, г.Россия, Санкт-Петербург,

Московский проспект, дом 26

тел.: +7 (812) 494-92-45

факс: +7 (812) 712-77-91

office@technolog.edu.ru

02.02.2017