

Отзыв официального оппонента

на диссертацию Пуговкина Дмитрия Витальевича,
представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук,

«Эпифитные бактериоценозы *Fucus vesiculosus* L.

**Баренцева моря и их роль в деградации нефтяных
загрязнений»**

Специальность 25.00.28 – Океанология

Диссертационная работа Пуговкина Дмитрий Витальевича посвящена исследованию эпифитных бактериальных сообществ бурых водорослей *Fucus vesiculosus* L. и их способности к деградации углеводов нефти в морской среде.

Представленная работа изложена на 146 листах машинописного текста, состоящего 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. В приложении приведены списки родов, обнаруженных эпифитных бактерий с долей каждого из них в сообществе.

Актуальность данного исследования не вызывает сомнений, учитывая, роль бактериальных сообществ в очистке морской среды от нефтяного загрязнения. Это особенно важно в условиях Арктики, где естественное разложение углеводов нефти в морской воде замедлено из-за низких температур и длительного периода полярной ночи. При этом бактериальные сообщества являются ключевыми участниками процесса биодеструкции и способны эффективно разлагать различные органические загрязнители.

В последние годы изучение ассоциаций морских макроводорослей и микроорганизмов (в т.ч. бактерий) привлекают все большее внимание исследователей во всем мире, фокусируясь на проблемах санитарной микробиологии и морской фитопатологии. Бактерии морской пелагиали исследуются длительный период и их способность к разложению углеводов нефти известна с 20-х гг. прошлого века. Но при этом, эпифитные углеводородокисляющие бактерии Баренцева моря исследованы фрагментарно. В тоже время, в мировой научной литературе имеются сведения, что макроводоросли способны трансформировать углеводороды нефти до более простых органических соединений и использовать их в своем метаболизме, попутно снижая токсический эффект поллютантов. Один из механизмов такого интересного явления связан с деятельностью эпифитных углеводородокисляющих бактерий. Особенно важно понять как «работает» система макроводоросли – углеводородокисляющие бактерии в условиях Арктики, Баренцева моря. Именно это и заинтересовало диссертанта.

Автором поставлена обоснованная цель, и сформулирован ряд четких задач.

Научной новизной работы является создание целостной картины эпифитного бактериального сообщества бурой водоросли *Fucus vesiculosus*, доминирующей на литорали Баренцева моря, в различных условиях, в том числе при нефтяном загрязнении. Важным достоинством работы является то, что диссертант на основе многочисленных натуральных и лабораторных экспериментов смог оценить вклад в деструкцию нефтяных углеводов эпифитных бактерий, ассоциированных с фукусовой водорослью.

В первой главе диссертации представлена краткая история микробиологических исследований в арктическом регионе, анализируется степень изученности эпифитных бактериальных сообществ. Рассматриваются проблемы изучения эпифитных углеводородокисляющих микроорганизмов, указаны методические проблемы, с которыми исследователи сталкиваются при работе с данной группой микроорганизмов.

В главе «Материалы и методы» описаны основные подходы и методики, использованные в работе. Представлено географическое описание района исследований, показаны особенности гидрологического, гидрохимического и гидробиологического режимом прибрежных зон Баренцева моря. Обоснован выбор объект исследования – бактериальных сообществ бурых водорослей *Fucus vesiculosus*.

В третьей главе представлены результаты исследования. Автором проведено сравнение основных методов снятия бактерий с поверхности водорослей, что позволило выбрать оптимальный метод, позволяющий свести к минимуму проблему «недоучета» бактериальных культур при проведении микробиологических работ.

При использовании стандартных методов микробиологии, а также с помощью электронного микроскопирования показано количественное распределение культивируемых эпифитных бактерий по таллому водорослей. Делается вывод, что характер распределения зависит от структуры поверхности водорослей, которая связана с возрастом различных участков таллома и определяется особенностями апикального роста фукусовых водорослей.

Показаны количественные различия культивируемых сапротрофных и углеводородокисляющих бактерий, ассоциированных с фукусовой водорослью, в различных по уровню нефтяного загрязнения акваторий Баренцева моря.

Результаты проведенных лабораторных и натуральных экспериментов позволяют сделать вывод, что эпифитные бактерии принимают непосредственное участие в биодеструкции нефтяных углеводов, а ассоциация бактерий и *Fucus vesiculosus* может вносить значимый вклад в процессы естественного очищения арктических вод от нефтепродуктов.

Особенный интерес представляет раздел, посвященный исследованию таксономической структуры эпифитных бактериоценозов. С использованием стандартных микробиологических подходов выявлены доминирующие культивируемые виды бактерий. При использовании современных молекулярно-генетических методов определена структура эпифитных бактериальных сообществ, и ее трансформация при изменении условий среды. Данный раздел важен, т.к. позволяет сравнить классические и современные методы исследований, что в последние годы встречается нечасто в работах российских и зарубежных специалистов.

Представленные в диссертации выводы обоснованы и четко сформулированы, отражают основные положения работы.

В то же время, данная работа не свободна от некоторых недостатков.

В методической части диссертации автором указывается, что метод предельных разведений, который использовался в работе, имеет высокую степень неточности (большая часть бактериального сообщества не культивируется на питательных средах). Не ясно причина использования указанного метода.

В описании ряда экспериментов отсутствует контроль, без этого сложно интерпретировать экспериментальные данные.

Не указаны точные сроки и описания конкретных мест отбора материала из природной среды.

Не указаны алгоритмы, на основании которых строились филогенетические деревья, что затрудняет идентификацию некоторых штаммов микроорганизмов.

В тексте диссертации используются устаревшие латинские названия водорослей. В частности, для ламинарии сахаристой, в настоящее время, применяется название *Saccharina latissima*.

Третий вывод в полном тексте диссертации и в автореферате различаются, хотя общий смысл не меняется.

В тексте диссертации встречаются досадные многочисленные опечатки, стилистические ошибки и повторы. Есть замечания к таблицам и рисункам. Например, нарушена нумерация таблиц (после таблицы 2 следует таблица 5), некоторые подписи не соответствуют отображенным рисункам (рис. 12)

Отмечу, что указанные замечания, в целом носят «технический» характер и не влияют на целостное и благоприятное восприятие работы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. Диссертационная работа Д.В. Пуговкина является завершенным научным исследованием, выполненным на основании собственного фактического материала. Работа содержит новый экспериментальный материал и обоснованные выводы, позволяющие по новому оценить роль эпифитных бактерий в процессах естественного

очищения морской среды от углеводородов нефти. Что существенно дополняет имеющиеся знания по биоокеанологии. Использование современных методов исследования позволило получить новые данные по таксономической структуре эпифитных бактериальных сообществ. Полученные результаты, несомненно, будут использованы для создания новых способов мониторинга морской среды и разработке инновационных биотехнологий для борьбы с нефтяным загрязнением.

Результаты диссертации в полной мере отражены в публикациях, включая 3 статьи в журналах из перечня ВАК. Автореферат соответствует тексту диссертации.

Представленная к защите работа соответствует специальности 25.00.28 «океанология», а соискатель Дмитрий Витальевич Пуговкин заслуживает присуждения степени кандидата биологических наук.

Заведующий отделом изучения экстремальных
природных явлений и техногенных катастроф ЮНЦ РАН

кандидат биологических наук



О.В. Степаньян

30 декабря 2016 г.

344006, г. Ростов-на-Дону, пр. Чехова, д. 41, тел./факс (863) 266-56-77,

e-mail step@ssc-ras.ru

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Южный научный центр
Российской академии наук (ЮНЦ РАН)

Степаньян Олег Владимирович, кандидат биологических наук по специальности 25.00.28
«Океанология».

Лужинский к.б.н. О.В. Степаньян
заведующий, факсимильный секретарь
ЮНЦ РАН, к.б.н. Буромский

