

на диссертацию на соискание ученой степени кандидата биологических наук Ксенофонтовой Натальи Андреевны на тему: «Разнообразие и экологические функции метаболически активных прокариотных сообществ почв, загрязненных нефтью и полициклическими ароматическими углеводородами» по специальности 1.5.11. Микробиология

Загрязнение экосистем нефтью и нефтепродуктами является одной из острых экологических проблем современности. В зоне наибольшего риска оказываются территории подверженные техногенным катастрофам по маршрутам транспортировки углеводородов, крупных промышленных предприятий и городские земли.

Решающую роль в природе в трансформации углеводородов нефти и нефтепродуктов до простых соединений выполняют микроорганизмы, при этом скорость окисления и избирательность процессов микробиологической деградации напрямую зависит от исходных химических свойств и строения индивидуальных углеводородов. Изучение особенностей биологического окисления углеводородов нефти микробными сообществами необходимо как для решения фундаментальных задач микробиологии, биохимии, экологии, так и для практического применения в биоремедиации.

Разнообразие микроорганизмов, способных к утилизации нефти и нефтепродуктов, обусловлено высокой конкуренцией и большим количеством путей деградации различных их фракций. В природных условиях микроорганизмы образуют сообщества, составляя единую цепь окисления углеводородов нефти и нефтепродуктов, включая полициклические ароматические углеводороды (ПАУ). При длительном воздействии поллютантов происходит изменение структуры микробных сообществ, изменяется активность отдельных составляющих их компонентов. Каждый из микроорганизмов сообщества, обладая специфичными ферментными системами, направленными на использование определенного субстрата (как самих углеводородов, так и их производных) использует данный субстрат в своем метаболизме. Поэтому при совместном воздействии микроорганизмов сообщества происходит извлечение как большего количества, так и более широкого спектра углеводородов, восстановление структуры почвы. В связи с этим актуальность темы диссертационной работы Ксенофонтовой Натальи Андреевны «Разнообразие и экологические функции метаболически активных прокариотных сообществ

почв, загрязненных нефтью и полициклическими ароматическими углеводородами" не вызывает сомнений.

Диссертационная работа построена по традиционному плану, содержит все необходимые разделы – введение, обзор литературы, экспериментальную часть – главы объекты и методы исследования, результаты исследования, обсуждение, заключение и выводы. Работа изложена на 139 страницах, содержит 22 рисунка и 17 таблиц, список литературы включает 227 источников, в том числе 111 – на русском языке. Обращает на себя внимание современная литературная сводка работ по исследуемому объекту – в частности, рассмотрение факторов, обуславливающих развитие углеводородокисляющих микроорганизмов в различных видах почв. Литературный обзор отражает точку зрения автора по обсуждаемым вопросам.

Среди сильных сторон исследования следует отметить его высокий методический уровень. Автором освоен и использован в работе широкий спектр современных методов, включая молекулярно-биологические, микроскопические, микробиологические и физиологические, что позволило получить большой массив достоверных экспериментальных данных, достаточных для решения поставленных задач. Не вызывают сомнений высокий уровень и тщательность их исполнения, свидетельствующие о необходимой для этого квалификации диссертанта. Все результаты экспериментальной работы подтверждены статистически.

Следует отметить, что в диссертации Н.А. Ксенофонтовой впервые для гумусовых горизонтов зональных типов почв, загрязненных нефтью и ПАУ, проведена оценка метаболически активного прокариотного сообщества. Установлено уменьшение численности и биомассы метаболически активных клеток прокариот по сравнению с незагрязненными почвами. Доля метаболически активных компонент от всех выявляемых клеток прокариот в образцах гумусовых горизонтов рассматриваемых загрязненных зональных почв (чернозем, серая лесная, каштановая, дерново-подзолистая) сокращалась до 30 %, а для образцов исследованного торфа, загрязненного углеводородами, она составляла 0.1 часть (10 %) от всего выявляемого прокариотного сообщества.

Установлено формирование специфического метаболически активного прокариотного комплекса, способного к деструкции нефти и ПАУ, состав которого определяется типом почв, формирующихся в разных климатических условиях. Определены чувствительные и устойчивые к загрязнению формы.

На фоне снижения метаболически активной биомассы в сообществе прокариот, а также сокращения их биоразнообразия в загрязненных образцах по сравнению с контролем, определено увеличение содержания функциональных генов, отвечающих за синтез катехол-диоксигеназы (*xylE*), алкан-монооксигеназы (*alkB*) и бензил-сукцинатсинтазы (*bssA*), маркирующих начальный этап деградации углеводородов. Внесение в загрязненную торфяную почву полного минерального удобрения (N40P50K50) на фоне известкования (1/2 гидролитической кислотности) приводит к возрастанию биомассы клеток прокариот, числа копий функциональных генов (*bssA* и *nifH*) и значимому уменьшению содержания нефтепродуктов.

Диссертационная работа имеет выраженную практическую значимость, вносит ценный вклад в современную биотехнологию, в частности расширяет представления о биоремедиации нефтезагрязненных почв. Определение потенциально возможных метаболически активных устойчивых видов прокариот - разрушителей углеводородов и выявление наличия функциональных генов в исследуемых почвах, поможет получить информацию, которая полезна для биоиндикации и биоремедиации почв, загрязненных углеводородами, их восстановлению, а также увеличения их хозяйственной значимости и ценности.

Выводы в диссертации достоверны, логично вытекают из экспериментальных данных и отражают основные моменты диссертации.

Основные положения диссертации в достаточной мере изложены в статьях, рецензируемых изданиях, индексируемых в научных базах Scopus и/или Web of Science. Опубликованные автором статьи отражают основное содержание диссертационной работы.

Диссертация не свободна от некоторых недостатков. К замечаниям по работе следует отнести следующее:

1. При описании изменения биомассы метаболически активных клеток бактерий и архей в фоновой торфяной почве, торфяной почве загрязненной нефтепродуктами и почве с внесенными удобрениями данные приведены не в виде гистограммы, а динамической кривой. Что автор хотел этим подчеркнуть или что с чем сравнить.
2. В данных показывающих относительное содержание копий генов *alkB* и *xylE*, кодирующих синтез ферментов алканмонооксигеназы и катехол-диоксигеназы соответственно в чернозёме в ходе сукцессии наблюдается различный характер динамики их накопления. Да действительно, их

количество возрастает при общем снижении биомассы микробных клеток. Однако Для гена *alkB* характерно быстрое нарастание числа копий и затем их поддержание. А для гена *xylE*- постепенное нарастание. С чем это может быть связано?

3. В тексте диссертации и автореферате автор использует аббревиатуру ПАУ для обозначения полициклических ароматических углеводов. Но постоянно забывает о том, что эта аббревиатура была уже введена по тексту ранее, что затрудняет чтение представленного материала.

В качестве пожелания хотелось бы, чтобы автор с большей любовью относился к полученным результатам, представляя их в автореферате в читаемой форме. Разобрать надписи и подписи к представленным рисункам (рис.1, рис.4, рис. 5, рис. 6), диаграммам (рис. 3, рис.7, рис. 8, рис. 10, рис.11) без лупы просто невозможно, что существенно затрудняет восприятие материала.

Заключение.

Вместе с тем, указанные замечания не умаляют значимости диссертационного исследования. Диссертация отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В.Ломоносова к работам подобного рода. Диссертация отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В.Ломоносова. Содержание работы соответствует паспорту специальности 1.5.11. Микробиология (по биологическим наукам), а также критериям, определенным пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В.Ломоносова, а также оформлена, согласно приложениям № 5,6 Положения о диссертационном совете Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова.

Таким образом, соискатель Ксенофонтова Наталья Андреевна безусловно заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.11. Микробиология.

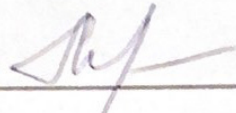
Официальный оппонент:

доктор биологических наук,

профессор кафедры биоинженерии биологического факультета

федерального государственного бюджетного образовательного учреждения
высшего образования «Московский государственный университет имени
М.В.Ломоносова»

Лобакова Елена Сергеевна



«29» ноября 2022г.

Контактные данные:

тел.:+7926 , e-mail:

Специальность, по которой официальным оппонентом
защищена диссертация:

03.00.12 – физиология и биохимия растений, 03.00.24 - микология

Адрес места работы:

119991, г.Москва, ГСП-1, Ленинские Горы, д. 1 стр.12,
МГУ имени М.В.Ломоносова, биологический факультет

Тел.: +7 4959394169 ; e-mail:

Подпись профессора кафедры биоинженерии
Биологического факультета МГУ имени М.В.Ломоносова
Е.С.Лобаковой удостоверяю:

«29» ноября 2022г.

