

ОТЗЫВ
официального оппонента
на диссертацию К.М. Черемных по теме: «Биодеструкция
дегидроабиетиновой кислоты актинобактериями рода *Rhodococcus* »,
представленную на соискание ученой степени кандидата биологических
наук по специальности 03.02.03 Микробиология.

Актуальность темы. В условиях все возрастающей технологической деятельности в большую проблему вырастает задача очистки окружающей среды от техногенных загрязнений. Целлюлозно-бумажная промышленность (ЦБП) является одной из водоемких отраслей народного хозяйства. В связи с этим влияние сточных вод ЦБП на водные экосистемы составляет предмет многочисленных исследований как в нашей стране, так и за рубежом, главным образом в скандинавских странах и в Канаде. Расширение арсенала новых и усовершенствование существующих способов очистки и переработки отходов ЦБП предполагает использование современных биотехнологических приемов.

Исследования последних лет показали, что наибольший вклад в проявление общей токсичности сточных вод вносят экстрактивные органические вещества древесины – смоляные кислоты. Использование хвойных пород древесины в деревообрабатывающей и целлюлозно-бумажной промышленности приводит к концентрированию и последующему попаданию смоляных кислот в окружающую среду, где они оказывают токсическое воздействие, в первую очередь, на водную фауну.

Таким образом, актуален поиск эффективных и безопасных биокатализаторов, сохраняющих способность к деструкции в условиях высоких концентраций смоляных кислот и, в частности, доминирующей в стоках ЦБК смоляной кислоты – дегидроабиетиновой кислоты (ДАК).

В этой связи представленная работа Черемных К.М. является весьма актуальной и своевременной.

Достоверность и новизна результатов и выводов

Достоверность научных результатов и выводов, сформулированных в диссертации, не вызывает сомнения и определяется значительным объемом проведенных экспериментов, а также использованием большого спектра современных микробиологических, биологических, хроматографических методов исследования и их адекватной статистической оценкой.

Оценивая новизну проведенного исследования, представляется необходимым отметить следующие ключевые моменты: с использованием биоресурсов Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов автором впервые показана способность актинобактерий к деструкции ДАК в присутствии *n*-гексадекана. Показано, что представители *Gordonia rubripertincta* и *Rhodococcus erythropolis* трансформируют ДАК с образованием ранее не описанных метаболитов (5 α -гидрокси-ДАК и соединения 15,16,17-тринор-абиетанового типа). Адаптивной реакцией актинобактериальных клеток на токсическое воздействие ДАК является образование многоклеточных агрегатов, изменение морфометрических параметров, а также величины электростатического потенциала клеточной поверхности. Экспериментально обосновано, что ключевые ферментные комплексы, участвующие в биодеструкции ДАК, локализованы в цитоплазме бактериальных клеток, тогда как окисление ДАК до 5 α -гидрокси-производного катализируют ферменты, прочно связанные с плазматической мембраной.

Ценность полученных результатов для науки и практики

Диссертационное исследование К.М.Черемных органично сочетает фундаментальный и практически ориентированный аспекты. Теоретическое значение работы связано с расширением представлений о биодеструктирующей способности актинобактерий *Dietzia*, *Gordonia* и *Rhodococcus* и их возможном вкладе в детоксикацию смоляных кислот в природных экосистемах.

Практически ориентированным результатом является оценка биокаталитической активности коллекционных культур по отношению к дегидроабиетиновой кислоте. При выборе потенциальных биодеструкторов ДАК исследованы коллекционные штаммы актинобактерий рода *Rhodococcus*, отличающихся выраженной деградирующей активностью в отношении широкого спектра труднодоступных для других микроорганизмов органических соединений.

Отобранные автором штаммы актинобактерий являются наиболее эффективными и способны к полной (*R. rhodochrous* ИЭГМ 107) или частичной (*R. erethropolis* ИЭГМ 267) биодеструкции ДАК, применение суспензии нерастущих клеток *R. rhodochrous* ИЭГМ 107 позволило сократить процесс полной биодеструкции с 7 до 3 сут, использование приема прединкубации клеток *R. erethropolis* ИЭГМ 267 в присутствии ДАК обеспечило высокий уровень биодеструкции ДАК с образованием устойчивых и ранее не описанных метаболитов.

Работа написана по традиционному плану и включает введение, обзор литературы, описание объектов и методов исследования, четыре главы результатов собственных исследований, выводы, список цитируемой литературы.

Во введении обоснована актуальность работы, корректно описаны научная новизна, теоретическое и практическое значение. Лаконично сформулированы цель и задачи исследования, логично построены положения, выносимые на защиту.

В достаточно обширном обзоре литературы, содержащем более 180 источников, автором обобщены данные по многообразию микроорганизмов-биодеструкторов смоляных кислот и представлены материалы по микробной биотрансформации смоляных кислот для получения биологически активных соединений.

В описании объектов и методов исследования представлен большой спектр использования современных методов, характеризующих высокий уровень, трудоемкость и обширность проделанной работы.

Главы 3-6 отражают результаты собственных исследований автора и содержат большой фактический материал, который достаточно полно иллюстрирован таблицами и рисунками. Полученные данные подвергнуты статистической обработке, интерпретация результатов вполне корректна, что позволяет судить о достоверности научных положений, сформулированных в работе.

В заключении изложены основные результаты работы. Выводы логически вытекают из сущности проведенных исследований, результаты которых доложены и обсуждены на научных конференциях различного, в том числе международного уровня в 17 печатных работах, в том числе и цитируемых изданиях.

Диссертация представляет собой завершенное исследование, в результате которого определены новые пути биодеструкции ДАК актинобактериями, отличающимися от описанных ранее направлений биодеструкции абиединовых смоляных кислот для грамотрицательных протеобактерий. Принципиальных замечаний по существу работы и тексту диссертации не возникает.

В плане дискуссии хотелось задать следующие вопросы:

1. Почему для иммобилизации бактериальных клеток выбраны именно эти носители?
2. Как можно объяснить тот факт, что ранее по данным литературы было обнаружено мало грамположительных биодеструкторов?
3. Является ли изменение морфометрических параметров стандартной реакцией родококков на воздействие токсических соединений?

По актуальности тематики, научной новизне, теоретической и практической значимости, достоверности полученных результатов, обоснованности выводов и полноте изложения материалов диссертационная работа Черемных Ксении Михайловны «Биодеструкция дегидроабиетиновой кислоты актинобактериями рода *Rhodococcus*» удовлетворяет требованиям п.п.9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842, предъявляемым к кандидатским диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, является высококвалифицированным трудом, а ее автор, Черемных Ксения Михайловна, заслуживает ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.03 – микробиология.

10.01.19

Официальный оппонент

начальник цеха вакцинно-сывороточных препаратов

Филиала АО «НПО «Микроген» Пермь

«Пермское НПО «Биомед»

кандидат биологических наук

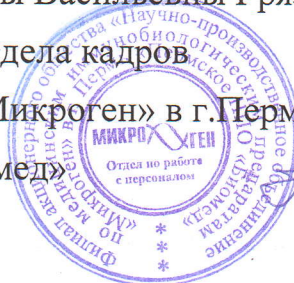
Д.В. Грязнова

Личную подпись Дианы Васильевны Грязновой заверяю,

Старший инспектор отдела кадров

Филиала АО «НПО «Микроген» в г.Пермь

«Пермское НПО «Биомед»



О.А. Пензина