

## **«Заключение диссертационного совета**

**24.1.253.01, созданного на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии» Дальневосточного отделения Российской академии наук, по диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук**

**аттестационное дело № \_\_\_\_\_**

**решение диссертационного совета от 15 июня 2022 г., №5**

О присуждении Ким Александре Вячеславовне, российское гражданство, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Влияние антропогенного загрязнения на таксономическое разнообразие и биологические свойства культивируемых бактерий акваторий Приморского края» по специальности 1.5.15– Экология принята к защите 14 марта 2022 г., протокол №3 диссертационным советом 24.1.253.01, созданным на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии» ДВО РАН, 690022, г. Владивосток, пр. 100-тия Владивостока, 159, №105/нк от 11.04.2012 г.; №73/нк от 25.01.2022 г.

Соискатель Ким Александра Вячеславовна, 8 октября 1992 года рождения. В 2014 году окончила Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Дальневосточный федеральный университет», в 2018 г. окончила очную аспирантуру Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Дальневосточный федеральный университет». Работает старшим преподавателем на кафедре биоразнообразия и морских биоресурсов Института Мирового океана ФГАОУ ВО «Дальневосточный федеральный университет» с 2020 г. по настоящее время.

Диссертация выполнена на кафедре биоразнообразия и морских биоресурсов Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Дальневосточный федеральный университет».

Научный руководитель – кандидат биологических наук Богатыренко Елена Александровна, Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Дальневосточный федеральный университет», доцент кафедры биоразнообразия и морских биоресурсов.

Официальные оппоненты:

Кондратьева Любовь Михайловна, доктор биологических наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт водных и экологических проблем Хабаровского федерального исследовательского центра» ДВО РАН, главный научный сотрудник лаборатории гидрологии и гидрогеологии;

Борзых Олег Геннадьевич, кандидат биологических наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского» ДВО РАН, научный сотрудник лаборатории морской микробиоты дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация – Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Дальневосточный государственный технический рыбохозяйственный университет», г. Владивосток в своем положительном отзыве, подписанном д.б.н., главным научным сотрудником Ковалевым Николаем Николаевичем, кандидатом биологических наук, и.о. зав. кафедрой Круглик Ириной Алексеевной, указала, что «диссертационная работа представляет собой самостоятельную научно-квалификационную работу, которая выполнена на высоком научно-теоретическом и методическом уровне. Полученные автором результаты могут быть использованы в курсах лекций для бакалавров, магистров и аспирантов

биологического направления. По актуальности темы, новизне результатов, теоретической и практической значимости результатов диссертационная работа отвечает требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», а её автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.15 – Экология (биологические науки)».

Соискатель имеет 44 опубликованных работ, из них 14 по теме диссертации, в рецензируемых научных изданиях опубликовано 3 статьи, общим объемом 17 стр., 1 статья в прочих изданиях, общим объемом 10 стр., 7 работ опубликованы в всероссийских, международных конференциях, симпозиуме, общим объемом 14 стр., получено 3 свидетельства о государственной регистрации базы данных.

Наиболее значительные работы:

1. Бузолева, Л.С. Влияние антропогенного загрязнения на проявление патогенных свойств у морских псевдомонад / Л.С. Бузолева, А.В. Ким, Е.А. Богатыренко // Современные проблемы науки и образования [Электронный ресурс]. – 2015. – № 5 – С.30-35.

2. Бузолева, Л.С. Проявление патогенных свойств у морских бактерий под влиянием антропогенного загрязнения / Л.С. Бузолева, А.В. Ким, Г.Г. Компанец, Е.А. Богатыренко // Экология человека. – Архангельск: Северный государственный медицинский университет. – 2016. – № 3. – С. 30–36.

3. Голозубова, Ю.С. Разнообразие культивируемых гетеротрофных бактерий, выделенных из поверхностных вод бухты Восток Японского моря / Ю.С. Голозубова, Л.С. Бузолева, Е.А. Богатыренко, А.В. Ким, А.И. Еськова // Самарский научный вестник. – Самара: СГСПУ. – 2017. – Т. 6, № 4 (21). – С. 32–35.

На автореферат поступило 6 положительных отзывов из следующих организаций: Лимнологического института СО РАН (д.б.н., гл.н.с. лаб. микробиологии углеводов Земская Т.И., к.б.н., с.н.с. лаб. микробиологии углеводов Ломакина А.В.); Института экологии и генетики

микроорганизмов УрО РАН (к.б.н., м.н.с. лаб. водной микробиологии Шаравин Д.Ю.); Федерального научного центра биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии ДВО РАН (к.б.н., в.н.с. сектора почвоведения и экологии почв Сидоренко М.Л.); Дальневосточного геологического института ДВО РАН (к.б.н., с.н.с. лаб. геохимии Лебедева Е.Г.); НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова Роспотребнадзора (д.м.н., проф., в.н.с. лаб. кишечных инфекций Яковлев А.А.); Тихоокеанского государственного медицинского университета (д.м.н., проф. каф. эпидемиологии Мартынова А.В.).

Имеются замечания и вопросы:

в отзыве д.б.н. Земской Т.И., к.б.н. Ломакиной А.В., ЛИН СО РАН

«Не совсем понятно, представители каких родов патогенных или условно-патогенных бактерий были изолированы и идентифицированы из акваторий с минимальным антропогенным загрязнением».

в отзыве к.б.н. Шаравина Д.Ю., ИЭГМ УрО РАН

«Чем был обоснован выбор указанного спектра антибиотиков для определения антибиотикочувствительности, помимо активности против грамтрицательных бактерий? Есть ли данные по соотношению концентраций характерных и привнесённых субстратов со значениями ферментативной активности бактерий выделенных из данных районов? Был ли проведён анализ филогенетического сходства между близкородственными штаммами, выделенными из условно чистых и загрязненных вод? Следовало бы расширить иллюстративный материал».

в отзыве к.б.н. Лебедевой Е.Г., ДВГИ ДВО РАН

«В автореферате не приводятся данные по количеству отобранных проб и месту их отбора в различных акваториях Приморского края. Не до конца понятна методика учета способности бактерий разлагать хитин, хитозан, клетчатку. Не ясно сколько культур было взято для определения вирулентности у бактерий рода *Pseudomonas* и почему из б. Золотой Рог и б. Киевка не были

взяты для данного исследования одинаковые культуры бактерий *Pseudomonas psychrophila*, которые были оттуда выделены?»

в отзыве д.м.н. Мартыновой А.В., ТГМУ

«Наличие в тексте автореферата орфографических и стилистических ошибок».

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается компетентностью в соответствующей отрасли науки ученых, имеющих публикации в соответствующей сфере исследования, имеющие научные школы, способные определить научную и практическую ценность диссертации, давшие своё согласие (пп. 22,24 Положения... от 24.09.2013 г., №842).

**Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:**

**разработан** новый метод изучения влияния антропогенной нагрузки на морские экосистемы, а именно изменение таксономического разнообразия и биологических свойств бактерий;

**предложены** оригинальные суждения о необходимости использования дополнительных методик при изучении влияния антропогенного загрязнения на культивируемые гетеротрофные бактерии, выделенные из морской среды. Методы определения ферментативной активности, факторов патогенности, цитопатических свойств и вирулентности у сапротрофных культивируемых бактерий могут быть использованы для оценки экологического состояния морских акваторий;

**доказано, что** антропогенное загрязнение приводит к увеличению таксономического разнообразия культивируемых бактерий, к уменьшению доли бактерий-деструкторов органических субстратов, характерных для морской среды и снижению скорости утилизации бактериями этих соединений, а также влияет на развитие у бактерий мультирезистентности к антибиотикам и усиливает их вирулентность за счет широкого набора факторов патогенности.

**Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:**

**применительно к проблематике диссертации результативно использован** комплекс методик для изучения таксономического разнообразия и биологических свойств культивируемых бактерий, выделенных из акваторий с разной антропогенной нагрузкой, в том числе и статистические методы исследования;

**изложены** доказательства о приобретении и проявлении сапротрофными бактериями агрессивных свойств под действием антропогенной нагрузки, а также показано, что хроническое загрязнение морских акваторий приводит к снижению активности ферментов бактерий, ответственных за деструкцию органических субстратов, характерных для морских вод. Выявлено, что под действием антропопрессии изменяется таксономическое разнообразие бактерий в морской среде;

**полученные данные показали** недостаточность изучения морских микробных сообществ в Японском море;

**изучена** причинно-следственная связь между состоянием микробных сообществ акваторий Приморского края и антропогенной нагрузкой. Установлено, что под действием антропогенного загрязнения происходит увеличение таксономического разнообразия, снижение активности ферментов к органическим субстратам (таким как хитин и его производные, фукоидан, клетчатка и альгинат натрия), проявление факторов патогенности, вирулентности и антибиотикорезистентности к широкому спектру противомикробных препаратов у культивируемых бактерий.

**Значение полученных соискателем результатов исследования для практики** подтверждается тем, что:

для изучения экологического состояния морских акваторий предложен состав сред по выявлению ферментативной активности бактерий по отношению к субстратам, характерным для морских вод (хитин, хитозан, хитин-глюкановый комплекс, фукоидан, клетчатка, альгинат натрия). Результаты научной работы **внедрены** в учебный процесс и используются в курсах лекций

для программ бакалавриата, магистратуры и аспирантуры биологического направления по таким дисциплинам как «Экология», «Экология микроорганизмов», «Мониторинг и биоремедиация», «Морская микробиология», «Основы регуляции метаболизма микроорганизмов», «Физиология микроорганизмов», «Микробиология и вирусология», «Санитарная микробиология», «Большой практикум по микробиологии». Полученные данные исследования включены в отчеты гранта Российского научного фонда №14-50-00034 по теме: «Технологии мониторинга и рационального использования морских биологических ресурсов» по направлению № 5 «Современные технологии контроля различных типов антропогенного загрязнения водной среды и оценки их влияния на морские биологические ресурсы», 2017-2018 гг. По теме диссертации получено 3 свидетельства о государственной регистрации базы данных;

**создана** система практических рекомендаций при изучении экологического состояния морских экосистем **на основе** изменения таксономического разнообразия и биологических свойств культивируемых бактерий;

**представлены** рекомендации по использованию методов определения дегидрогеназной активности на чистых культурах микроорганизмов, ферментативной активности по отношению к органическим субстратам, характерным морским водам, факторов патогенности, цитопатических свойств и вирулентности у сапротрофных культивируемых бактерий для оценки экологического состояния морских акваторий.

**Оценка достоверности результатов исследования выявила:**

**для экспериментальных работ** использовано современное высокоточное сертифицированное оборудование, обработка экспериментальных данных проведена на базе компьютерных вычислительных комплексов, что обеспечило воспроизводимость результатов исследований;

**теория** базируется на известных данных о влиянии различных факторов окружающей среды на биологические свойства микроорганизмов и согласуется с опубликованными экспериментальными данными по теме диссертации;

**проведено** сравнение полученных данных по изменению таксономического разнообразия и биологических свойств культивируемых бактерий под действием антропогенного загрязнения с данными, опубликованными ранее по рассматриваемой тематике, **установлено** качественное совпадение результатов;

**использованы** расчеты кластерного расстояния на основе евклидовых дистанций для определения сходства между составами бактериальных сообществ акваторий Приморского края. Для определения видового разнообразия бактериальных сообществ использовали расчет индекса  $\alpha$  разнообразия Фишера. Статистическую обработку данных проводили с помощью пакета Vegan (<https://github.com/vegandevs/vegan/issues>) в R v. 3.5.0 (<https://www.r-studio.com>). Значения уровней дегидрогеназной и хитиназной активностей бактерий, выделенных из разных акваторий Приморского края, сравнивали с помощью U-критерия Манна-Уитни. Медиану для значений дегидрогеназной и хитиназной активностей культивируемых бактерий рассчитывали в программе Microsoft Office Excel 2010.

**Личный вклад соискателя состоит в:** подготовке литературного обзора по теме диссертации; постановке цели и формулировке задач исследования ; проведении экспериментальных исследований по изучению таксономического разнообразия, биохимических свойств, факторов патогенности и вирулентности бактерий ; разработке сред для определения активности ферментов бактерий по отношению к органическим субстратам, характерным морским средам; обобщении полученных результатов; апробации результатов исследований; подготовке основных публикаций по выполненной работе.

Диссертационный совет пришел к выводу, что диссертация представляет собой научно-квалификационную работу, которая соответствует критериям, установленным Положением о порядке присуждения ученых степеней, п. 9, утвержденным постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. №842.

В ходе защиты диссертации были высказаны следующие критические замечания: 1. Важный материал, касающийся таксономического разнообразия

выделенных бактерий, вынесен в приложение. 2. Отсутствие филогенетических деревьев полученных штаммов бактерий.

Соискатель Ким А.В. ответила на все вопросы, привела собственную аргументацию в ответах на вопросы дискуссионного характера и согласилась с критическими замечаниями.

На заседании 15 июня 2022 г. диссертационный совет принял решение присудить Ким А.В. ученую степень кандидата биологических наук за решение научной задачи, имеющей значение для развития соответствующей отрасли знаний.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 14 человек, из них 4 доктора наук по специальности экология, участвовавших в заседании, из 16 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за - 14, против - нет, недействительных бюллетеней - нет.

Председатель  
диссертационного совета,  
академик РАН



Богатов Виктор Всеволодович

Ученый секретарь  
диссертационного совета,

к.б.н.

Саенко Елена Михайловна

17.06.2022 г.