

«УТВЕРЖДАЮ»

Врио директора



Ф.Б.У.Н институт биохимии

и физиологии микроорганизмов

им. Г.К. Скрыбина

А.А. Леонтьевский

2018 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

Федерального государственного бюджетного учреждения науки

Института биохимии и физиологии микроорганизмов

им. Г.К. Скрыбина Российской академии наук

на диссертацию Третьяковой Марины Сергеевны: «Перспективы использования эндо- и ризосферных микроорганизмов для восстановления загрязненных нефтью почв», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.08 – экология (биологические науки)

Актуальность исследования. Загрязнение окружающей среды нефтью и нефтепродуктами в настоящее время является глобальной проблемой (Vogt and Richnow, 2013). По величине вредного влияния на экосистемы нефтепродукты и нефть находятся на втором месте после радиоактивного загрязнения (Экологические проблемы топливно-энергетического комплекса России, 2007). Несовершенство технологий добычи, транспортировки, переработки и хранения нефти приводят к ее аварийным разливам, которые достигают 60–70 млн. тонн в год, что составляет около 2% общей мировой добычи. При техногенных авариях нефть зачастую аккумулируется именно в почвах, на десятилетия нарушая их физические, химические и микробиологические характеристики. Эта проблема актуальна и для Иркутской области, на территории которой сосредоточены 12 крупных нефтяных месторождений, проходят две нитки подземного магистрального нефтетрубопровода.

Экологически безопасным, дешевым и эффективным способом устранения последствий техногенного попадания нефтепродуктов в

окружающую среду является биоремедиация с использованием микроорганизмов-нефтедеструкторов. Суровые климатические условия на территории Восточной Сибири не способствуют самоочищению загрязненных нефтью территорий. В этой связи, их рекультивация с применением эффективных микроорганизмов-деструкторов углеводородов в составе биопрепаратов представляется перспективным подходом. Поэтому работа Марины Сергеевны, посвященная поиску высокоактивных автохтонных микроорганизмов, способных в короткие сроки биотрансформировать высокомолекулярные углеродсодержащие отходы промышленной деятельности человека безусловна актуальна.

Научно-практическая значимость работы. Автором из ризо- и эндосферы растений, произрастающих на нефтезагрязненных территориях были выделены шесть перспективных штаммов, эффективно разлагающих нефть и способных к активной жизнедеятельности при высоких концентрациях нефти (до 50 %). Что важно для сибирского региона, эти микроорганизмы могут функционировать и при низких положительных температурах (10°C). Автором были проанализированы ассоциации аборигенных микроорганизмов с целью выбора наиболее активно деградирующих углеводороды нефти, как в жидкой минеральной среде, так и в почве. Особую ценность придает работе раздел, связанный с комплексной оценкой биологических свойств почвы после обработки ее микроорганизмами-деструкторами. В присутствии этих микроорганизмов повышалась эффективность разложения углеводородов нефти в загрязненной почве, увеличивалась активность почвенных оксидоредуктаз, значительно усиливалась интенсивность дыхания, снижалась токсическое действие углеводородов нефти на растения.

Все это позволяет говорить о реальных перспективах практического применения отобранных штаммов и разработке на их основе микробиологического препарата для восстановления нефтезагрязненных почв.

Работа имеет важное теоретическое и фундаментальное значение, в том числе, для понимания положительных связей растений с ризосферными и эндосферными микроорганизмами, расширяет наши знания об их взаимодействии и общей роли в биоремедиации нефтезагрязненных почв.

Для выделенных штаммов выявлены разные стратегии выживания в условиях нефтяного загрязнения. Впервые показано, что продукция биосурфактантов ризосферными микроорганизмами (штамм *Rhodococcus erythropolis* 108) снижет токсическое действие нефти на растения за счет эмульгирования нефтяной плёнки.

Полученные автором результаты бесспорно имеют большую научную и практическую значимость.

Структура и содержание диссертации. Диссертационная работа Третьяковой М.С. оформлена в соответствии с требованиями ВАК Министерства образования и науки РФ, состоит из введения, обзора литературы, описания объектов и методов, результатов исследований, заключения, выводов и списка литературы, включающего 216 источников, из них 117 отечественных работ. Работа изложена на 121 странице, содержит 23 рисунка и 12 таблиц.

В разделе «**Введение**» раскрыта актуальность проблемы, сформулированы цель и задачи исследования. В данном разделе представлены сведения о научной новизне, теоретической и практической значимости выполненной работы, содержится информация о научных публикациях и апробации работы.

Раздел «**Обзор литературы**» логично выстроен и хорошо структурирован. Особенно подробно диссертант остановился на путях деструкции нефти микроорганизмами, что отражает специфику работы.

В первых главах «Обзора литературы» приводится химическая характеристика нефтей и рассматривается экологический вред, наносимый добычей, транспортировкой и переработкой жидких углеводородов. Подчеркивается, что при нефтяном загрязнении неблагоприятно изменяется

состав почвенной микробиоты: появляется больше болезнетворных микромицетов, уменьшается количество нитрификаторов и деструкторов целлюлозы. В почве изменяется кислотность и заметно снижается активность гидролитических и ряда других ферментов, что тоже свидетельствует о нарушениях функционирования экосистемы почвы.

Последующие главы раздела посвящены описанию механизмов токсического действия нефти, рассмотрению известных способов ремедиации нефтезагрязненных территорий и обзору основных микробиологических препаратов, созданных для ликвидации последствий разливов нефти. Детально разбираются метаболические пути деструкции нефти микроорганизмами.

Завершается «Обзор литературы» современными сведениями о микробиологическом разложении нефти в условиях холодного климата и оценкой способности ризо- и эндосферных микроорганизмов утилизировать нефтепродукты, чему собственно посвящена диссертационная работа.

В разделе **«Объекты и методы исследований»** перечислены микробиологические и растительные объекты исследования и приведены использованные методы, представленные сочетанием классических и современных. Для реализации поставленных задач автор использует внушительный перечень химических, микробиологических, молекулярно-генетических и агрохимических методов исследования.

В разделе **«Результаты»** последовательно представлены основные результаты диссертационного исследования.

Из почвы, эндосферы и ризосферы лопуха, лапчатки, пырея и осоки, собранных с нефтезагрязненной территории, диссертантом было выделено 60 бактериальных штаммов с различной степенью способности к утилизации углеводов, шесть из которых показали наибольшую активность и были подробно охарактеризованы.

В работе демонстрируется утилизация нефти при высоких ее концентрациях в жидкой минеральной среде. Утилизация нефтепродуктов

бактериями показана на твердых средах с добавлением тетрадекана и дизельного топлива.

При исследовании деструкции нефти ассоциациями микроорганизмов при температуре 26°C показано, что убыль нефти достоверно отличалась от применения монокультур. При температуре 10°C степень деструкции составляла до 15% за 2 мес культивирования, при исходной концентрации нефти в среде 10%.

Для выяснения метаболических путей деструкции ароматических соединений нефти бактериями-нефтедеструкторами диссертант использовал высокоэффективную жидкостную хроматографию. Показано, что исследованные штаммы разлагали ароматические соединения с образованием ключевого интермедиата пирокатехина, а три из них, использовали оба основных пути разрушения ароматических углеводородов через пирокатехин и через протокатехат.

Для шести исследованных штаммов выявлены разные стратегии выживания в условиях нефтяного загрязнения. Автором экспериментально показано, что изученные микроорганизмы могут использовать один из механизмов защиты, не используя остальные, либо, наоборот, сразу несколько.

Особо следует отметить эксперимент по изучению влияния бактерий-нефтедеструкторов на прорастание семян и развитие растений в условиях нефтезагрязнения. Показан положительный эффект одного из ризосферных штаммов (*Rhodococcus erythropolis* 108) на модельное растение. Он выразался в эмульгировании и удалении нефтяной пленки с поверхности корней, что способствует снижению стрессового воздействия нефти на растения. В дальнейшем эти результаты могут быть использованы в технологиях фиторемедиации.

В эксперименте с нестерильной почвой, искусственно загрязненной нефтью, была проведена комплексная оценка процессов происходящих в почве при внесении в нее исследуемых микроорганизмов. Установлено, что

при использовании данных штаммов бактерий степень деструкции нефти за 2 месяца составила около 70%.

Достоверность и научная новизна исследований и полученных результатов. Автором освоены как классические, так и современные методы, используемые в научных исследованиях. Получен большой и разнообразный экспериментальный материал с высокой статистической достоверностью, обеспеченной достаточным числом повторностей.

Результаты апробированы на десяти конференциях разного уровня и оформлены в виде шести научных статей, в том числе, трех из списка ВАК.

Вопросы и замечания:

1. Уместным дополнением диссертации могло бы быть добавление страницы со списком использованных в тексте сокращений.

2. Чем обусловлен выбор редьки масличной в качестве модельного растения?

3. Каков, по мнению автора, механизм положительного действия исследованных микроорганизмов на растения?

4. Какая концентрация нефти была использована в эксперименте с почвой?

5. Почему исследованные штаммы за 2 месяца утилизировали в почве до 70% нефти, а в жидкой среде только до 30%?

6. Источником выделения 6 наиболее перспективных штаммов-деструкторов нефти являлась ризосфера, эндосфера или загрязненная почва?

Заключение. Диссертация Третьяковой Марины Сергеевны «Перспективы использования эндо- и ризосферных микроорганизмов для восстановления загрязненных нефтью почв», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук, является завершенной научно-квалификационной работой, бесспорно актуальным, комплексным исследованием, материалы которого представляют интерес для специалистов в области микробиологии, экологии и биотехнологии.

По своей актуальности, научной новизне и практической значимости представленная работа соответствует требованиям, предъявляемым ВАК РФ к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук и п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ № 842 от 24 сентября 2013 г., с изменениями Постановления Правительства РФ № 335 от 21 апреля 2016 года, а диссертант заслуживает присуждения искомой учёной степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.08 – экология (биологические науки).

Отзыв утвержден на заседании лаборатории биологии плазмид ИБФМ РАН « 23 » апреля 2018 г., протокол №1.

Ведущий научный сотрудник
лаборатории биологии плазмид ИБФМ РАН,
доктор биологических наук,
142290, Московская область, г. Пущино
проспект Науки 5, ИБФМ РАН
Тел.: +7 (4967) 31-85-70
Эл. почта: filonov.andrey@rambler.ru



Андрей Евгеньевич Филонов

Подпись д.б.н. А.Е. Филонова

ЗАВЕРЯЮ

Ученый секретарь ИБФМ РАН

Т. А. Решетилева

апрель 2018 г.

