

## Отзыв

официального оппонента – доктора биологических наук Дегтяревой Ирины Александровны на диссертационную работу Ерофеевской Ларисы Анатольевны на тему «Разработка способа очистки мерзлотных почв и грунтов от нефтезагрязнений в природно-климатических условиях Якутии», представленную к публичной защите в диссертационный совет Д 212.267.10, созданный на базе Национального исследовательского Томского государственного университета, на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.08 – Экология (биология)

**Актуальность темы исследования.** На территории Российской Федерации (РФ) интенсивно развита нефтедобыча, нефтепереработка и сеть магистральных нефтепроводов. Если за рубежом основные неприятности доставляют разливы нефти на водных поверхностях, то для нашей страны основная проблема – разливы на почве. Разработки в области биоремедиации основаны на процессах, имеющих место в естественных условиях, как наиболее дешевых и не наносящих дополнительного ущерба окружающей среде. Для достижения желаемых результатов может быть использована деятельность микроорганизмов, растений, грибов и их симбиозов.

Особую трудность представляет собой рекультивация нефтезагрязненных земель в условиях Крайнего Севера РФ, где пролитая на почву нефть может сохраняться в течение длительного времени. Многие подходы, разработанные для черноземной полосы и более южных регионов, на севере практически не применимы, так как почвы отличаются низкой скоростью микробиологической деструкции органического вещества. Эксперименты по очистке нефтезагрязненных почв свидетельствуют, что наиболее подходящим для различных природно-климатических условий является комплексный метод с использованием сорбентов, в том числе агроминералов, и автохтонных углеводородокисляющих микроорганизмов (УОМ), позволяющий за короткие сроки достигнуть высокой степени деградации нефтезагрязнения. Поэтому исследования Ерофеевской Л.А., посвященные созданию новых способов ремедиации мерзлотных почв и

грунтов от загрязнений нефтью в условиях Республики Саха (Якутия), являются чрезвычайно актуальными.

**Степень достоверности результатов исследований, положений и заключения.** Достоверность полученных результатов подтверждается проведением многочисленных экспериментов с применением адекватных классических и современных методов. Основные положения, содержащиеся в диссертации, достаточно обоснованы, так как базируются на значительном объеме лабораторных, вегетационных и полевых исследований. Анализ результатов проведен на современном оборудовании с использованием методов статистической обработки данных.

Работа представляет хорошо иллюстрированный научный труд. Автором расширен перечень микроорганизмов, способных утилизировать нефть и нефтепродукты при пониженных положительных температурах (плюс 4-10°C). Диссертантом описаны 14 родов и 27 видов перспективных психрофильных и мезофильных УОМ, для рекультивации нефтезагрязненных мерзлотных почв разработан эффективный биопрепарат «Бациллосорбойл». Результаты исследований обработаны общеизвестными математическими методами статистики.

Полученные результаты опубликованы в материалах 37 международных и Всероссийских научных конференциях, представлены и обсуждены на 13 международных и региональных выставках и удостоены 15 золотых, 2 серебряных и 1 бронзовой медалей. Диссертационные данные заслушаны на заседании Ученого совета СибНИИСХиТ – филиала СФНЦА РАН (Томск, 2008) и на научном семинаре «Физико-химические технологии увеличения нефтеотдачи, транспорта нефти, химические аспекты рационального природопользования и экологии» в ИХН СО РАН (Томск, 2014).

Степень обоснованности положений и заключения, сформулированных в диссертации, не вызывает сомнений.

**Связь с научными программами и собственный вклад автора в исследования.** Исследования выполнены в соответствии с приоритетными направлениями фундаментальных и прикладных научно-исследовательских работ ИПНГ СО РАН за период с 2008 по 2016 гг. («Геолого-геохимические условия и история формирования месторождений нефти и газа в Лено-Виллюйском осадочном бассейне» (Госбюджетный научный проект №01201052283, VII.59.2.4.), «Разработка фундаментальных основ интегрированных сорбционных, каталитических и микробиологических методов для охраны окружающей среды» (Интеграционный проект СО РАН №31), «Изыскание способов и средств нейтрализации аварийных разливов нефти на нефтепроводах в местах подводных переходов, болотистых мест в условиях низких температур Якутии» (Государственный контракт (ГК) №845), «Разработка технологии обезвреживания разливов нефти и нефтепродуктов на основе использования местных сорбентов, активированных микроорганизмами-нефтедеструкторами» (ГК №611), «Разработка способа восстановления плодородия почвы после техногенного нарушения (разлив нефти) с использованием дернообразующих видов многолетних трав и биопрепаратов» (ГК №1109)).

Личный вклад Ерофеевской Л.А. состоит: в анализе теоретических положений и опубликованных результатов многочисленных авторов по теме диссертации; формировании коллекции перспективных для биотехнологического применения микроорганизмов-деструкторов; проведении многолетних микробиологических исследований по испытанию полученных штаммов; интерпретации данных экспериментов; написании диссертации.

Полученные результаты отражены в 58 печатных работах, среди которых 10 статей в журналах, включенных в перечень Высшей аттестационной комиссии (ВАК), 19 докладов и тезисов в материалах международных и Всероссийских конференций, 4 статьи в иных изданиях. Автором получены 25 патентов РФ на изобретения.

**Научная значимость, теоретическая и практическая ценность исследования.** Научная новизна диссертационной работы состоит в том, что Ерофеевской Л.А. получены новые знания о биоразнообразии углеводородокисляющих микроорганизмов, выделенных из мерзлотных почв и грунтов Якутии, в условиях нефтезагрязнения определен их метаболический потенциал. Впервые создана ассоциация психрофильных и психротолерантных штаммов, активно окисляющих углеводороды нефти – *Rhodococcus sp.* Ac-2626D, *Serratia plymuthica* Ac-2819D, *Bacillus vallismortis* B-11017, *Exiguobacterium mexicanum* B-11011 – и установлено, что они сохраняют жизнестойкость в мерзлотной почве, даже при отрицательной температуре минус 45-50°C, а после ее оттаивания способны восстанавливать активность. Для повышения деструкционного потенциала УОМ применена их иммобилизация на цеолит месторождения Хонгуруу, и обоснована перспектива его использования для активации биодеградации нефтяных загрязнений в мерзлотных почвах Крайнего Севера РФ. Доказана эффективность применения созданного биопрепарата «Бациллосорбойл».

**Теоретическая и научно-практическая значимость работы** заключается в том, что Ерофеевская Л.А. выделила, изучила и применила автохтонные микроорганизмы, способные утилизировать нефть и нефтепродукты при температурах 4-10°C. Используя методы полифазной таксономии она описала перспективные психрофильные и мезофильные УОМ (14 родов и 27 видов), которые идентифицированы и депонированы в ВКПМ ФГУП «ГосНИИгенетика» и ВКМ ИБФМ РАН. На основе результатов интеллектуальной деятельности, полученных в процессе выполнения диссертационной работы, создано Малое инновационное предприятие «Саха-Биоселекция».

Результаты, полученные Ерофеевской Л.А., будут полезны экологам, биологам, сотрудникам нефтедобывающих и нефтеперерабатывающих предприятий, научным сотрудникам и специалистам, занимающимся проблемами защиты окружающей среды от нефтяного загрязнения.

Использование полученных данных возможно в учебном процессе при чтении профильных лекций.

Практическая значимость полученных результатов заключается в возможности очистки и восстановления нефтезагрязненных почв в условиях Крайнего Севера РФ.

### **Общая характеристика, структура и оформление диссертации.**

Диссертационная работа Ерофеевской Л.А. состоит из введения, литературного обзора; объектов и методов исследований, экспериментальной части, заключения, списков сокращений и использованной литературы, приложения. Список использованной литературы состоит из 337 источников, в том числе 275 отечественных и 57 зарубежных работ, 5 электронных ресурсов. Диссертация содержит 40 таблиц и 76 рисунков.

Во «Введении» (с. 5 – 15) отражены актуальность и степень разработанности выбранной темы, определены цель и задачи исследования, представлены научная новизна, научно-практическая значимость и реализация работы, а также основные положения, выносимые на защиту, апробация результатов, публикации, место выполнения работы, личное участие автора, структура и объем диссертации.

Глава «Литературный обзор» (с. 16 – 50) состоит из семи подразделов. Ерофеевской Л.А. проанализировано состояние проблемы в РФ и за рубежом, детально отражено состояние проблемы нефтяного загрязнения в Республике Саха (Якутия). Кроме характеристики основных свойств нефти диссертант акцентирует внимание на том, как нефть влияет на почвенные экосистемы, приводит информацию о допустимом остаточном содержании нефтепродуктов в почвах. Интересна и значима подглава, посвященная микроорганизмам-деструкторам и их роли в процессе ремедиации, влиянию на них различных температур и кислорода. Затем автор представляет развернутую подглаву о природных условиях формирования мерзлотных почв Якутии, в которой подробно представлена географическая характеристика, климатические условия, природные ресурсы, геолого-

геоморфологические условия почвообразования Республики Саха, а также характеристика химического состава мерзлотных почв. Логическим завершением обзора литературы является информация о микробиологической характеристике этих почв.

В следующей главе (с. 51– 58), позволяющей оценить личный вклад автора в решение изучаемой проблемы, представлены объекты и методы исследования, условия проведения лабораторных экспериментов, математические программы, примененные для обработки полученных данных. Диссертант четко и лаконично приводит описание объектов исследований, методику отбора проб, особенности пробоподготовки, определение влажности почвы и ее макроагрегатного анализа, методику агрохимического исследования почвы, определение количества микроорганизмов методом посева на твердые среды – чашечным методом Коха и методом предельных разведений, ГОСТы и методические указания (МУ) по учету микроорганизмов. Последовательно представлены этапы: выделения УОМ, получения накопительных культур, изолирования бактериальных культур и определения их чистоты, оценка свойств изолированных бактериальных культур и их эмульгирующей активности, идентификации культур, определения их резистентности к антибиотикам, иммобилизации УОМ. Приведены методики диагностики почв – исследование их ферментативной активности и фитотоксичности, изучение сорбционных свойств и нефтеемкости сорбентов-носителей, представлены методы определения содержания нефтепродуктов в почве и воде.

Знакомство с этой главой свидетельствует, что Ерофеевской Л.А. использованы адекватные, хорошо разработанные методы научных исследований.

В следующих четырех главах диссертант излагает результаты собственных исследований (с. 59 – 117). Так, в главе 3 «Исследование эффективности комплексного применения цеолитов и накопительных культур углеводородокисляющих микроорганизмов, изолированных из

нефтезагрязненной почвы, для биоремедиации мерзлотных почв Якутии» приведены сведения о получении накопительных культур УОМ и оценка их эффективности в условиях модельного эксперимента. Достаточно подробно представлена характеристика природного цеолита месторождения Хонгуруу и исследование его стимулирующего воздействия на деструкцию нефтяных углеводов в почве.

В главе 4 «Исследование микробного состава накопительных культур» автор приводит характеристику штаммов консорциума. Именно здесь представлены данные об углеводородокисляющей активности штаммов *Exiguobacterium mexicanum*, *Serratia plymuthica*, *Rhodococcus sp.* и *Bacillus vallismortis*, изолированных из состава накопительных культур, дана их подробная характеристика. Достоинством этой главы и работы в целом считаю создание автором коллекции эффективных микроорганизмов-деструкторов углеводов с высоким метаболическим потенциалом.

В главе 5 «Разработка комплексного биопрепарата для биоремедиации нефтезагрязненных почв» помимо характеристики создаваемого биопрепарата, представлена технологическая схема его получения и приготовления. Разработанную автором блок-схему получения биопрепарата «Бациллосорбойл» (рис. 5.1, с. 107) считаю достоинством этой главы.

Завершает экспериментальную часть диссертации глава 6 «Разработка способа очистки мерзлотных почв и грунтов от нефтезагрязнений в природно-климатических условиях Якутии», в которой представлен сравнительный анализ эффективности применения созданного биопрепарата при отрицательных температурах окружающей среды, и эффективности его применения на разных типах почв.

Материал упомянутых выше четырех главах собственных исследований представляет большую научную ценность. Обоснованность результатов, выдвинутых диссертантом, основывается на согласованности поставленной цели работы, определяемых ею задач, выносимых на защиту научных

положений, полученных экспериментальных данных, объектов интеллектуальной собственности и сделанных научных выводов.

Итоги экспериментальной части диссертационной работы представлены семью выводами, которые согласуются с поставленными задачами и логично вытекают из полученных данных. Выводы, в которых суммированы полученные в результате исследований новые знания, достоверны и обоснованны, что подтверждается полученными автором 25 патентами на изобретение и широкомасштабными результатами апробации работы при рекультивации нефтезагрязненных территорий Республики Саха (Якутия).

Диссертация написана хорошим языком.

Автореферат оформлен в соответствии с существующими требованиями и соответствует основному содержанию диссертации.

Оценивая диссертационную работу Ерофеевской Л.А., необходимо отметить глубину, полноту решения поставленной проблемы и большой объем внедрения.

**Пожелания, замечания и вопросы.** С научной точки зрения диссертация Ерофеевской Л.А. мне очень понравилась.

В качестве **пожеланий** рекомендую:

- сделать заключение по каждой подглаве обзора литературы;
- информация заимствованного характера, посвященная географической характеристике, климатическим условиям и особенно природным ресурсам Якутии, логичнее смотрелась бы в приложении;
- привести природно-климатические данные для конкретного года исследования;
- в главе «Объекты и методы исследований» желателен алгоритм исследований.

В качестве **замечаний** отмечу следующее.

1. Замечания по содержанию:



- «Литературный обзор» в работах подобного рода должен называться «Обзор литературы». В этой главе мало сведений для выбора конкретных ферментов;

- отсутствует раздел «Обсуждение результатов»;

- актиномицеты по современной номенклатуре микроорганизмов принято называть актинобактерии;

- для УВ-окисляющих микроорганизмов удачнее аббревиатура УОМ, которая встретилась в тексте лишь в таблице 3.3 (с. 65).

2. Замечания по оформлению:

- не всегда выделены курсивом видовые названия и названия родов микроорганизмов (табл. 4.1-4.3 и др.);

- в тексте присутствуют небрежности орфографии, пунктуации.

3. Стилиевые погрешности:

- информация не всегда представлена в соответствующем разделе: так, агрохимическая характеристика исследованных почв должна быть в главе «Объекты и методы исследований»; там же логично смотрелись бы все схемы экспериментов, которые автор представил в главах 3-6; данные о цеолите месторождения Хонгуруу (подглава 3.4), полученные другими исследователями, нужно представить в главе «Обзор литературы»;

- многие сокращения в тексте приведены без расшифровки: МИП (с. 9), ПВ (с. 12), ОС (с. 16), МПР (с. 23), ПАВ (с. 34), ППК (с. 42) и др.

При оппонировании работы возникли **вопросы**:

1) почему на мерзлотно-тундровой почве спустя 1 год процент деградации выше, чем на насыпном песчано-гравийном грунте спустя 3 года;

2) какие почвы в таблице 3.4 (с. 65) представлены под шифром ВG, G, B, F1, F2;

3) почему фитотестирование проведено только на однодольном растении пшенице сорта «Приленская – 19»;

4) почему в качестве контроля (с. 62, 68) использован препарат «Деворойл»;

5) из каких представителей (род, вид) состояла накопительные культуры бактерий и микромицетов, примененная автором в главе 3 (с. 62);

6) как объясняется выбор концентраций нефти (0.5, 5.0 и 10.0%) в условиях модельного полевого эксперимента (с. 68);

7) после зимнего периода как проводили идентификацию внесенных штаммов (с. 111);

8) посев каких растений-фитомелиорантов проведен в полевых опытах.

Имеющиеся замечания и возникшие вопросы не влияют на положительную оценку рецензируемой диссертационной работы.

**Заключение.** Диссертационная работа Ерофеевской Ларисы Анатольевны является законченным научно-исследовательским трудом, выполненным автором самостоятельно на высоком научном уровне. Работа базируется на достаточном количестве экспериментальных данных. Диссертация аккуратно оформлена и хорошо иллюстрирована, легко и с интересом читается, в ней получены новые научные данные. Полученные автором результаты достоверны, выводы обоснованы.

Считаю, что диссертационная работа на тему «Разработка способа очистки мерзлотных почв и грунтов от нефтезагрязнений в природно-климатических условиях Якутии» соответствует основным критериям пп. 9-11, 13, 14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842 (в ред. от 01.10.2018 г.), а ее автор, Ерофеевская Лариса Анатольевна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.08 – Экология (биология).

Сведения об организации

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Федеральный исследовательский центр «Казанский научный центр Российской академии наук» (ФИЦ КазНЦ РАН).

Юридический и почтовый адрес

420111, Татарстан, г. Казань, ул. Лобачевского, 2/31,

+7(843) 292-75-97, <http://knc.ru>, e-mail: [presidium@knc.ru](mailto:presidium@knc.ru),

Татарский научно-исследовательский институт агрохимии и почвоведения – обособленное структурное подразделение Федерального

государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр Российской академии наук».

420059, г. Казань, ул. Оренбургский тракт, д. 20 а.

[www.niiaxp2.ru](http://www.niiaxp2.ru)

Телефон: +7(843) 2778274.

Телефон официального оппонента: +79033064213.

e-mail: [niiaxp2@mail.ru](mailto:niiaxp2@mail.ru)

e-mail официального оппонента: [peace-1963@mail.ru](mailto:peace-1963@mail.ru).

Официальный оппонент:

главный научный сотрудник отдела агроэкологии и микробиологии  
Татарского НИИАХП – обособленного структурного подразделения ФИЦ  
КазНЦ РАН, доктор биологических наук, лауреат Государственной премии  
Республики Татарстан в области науки и техники

Ирина Александровна Дегтярева

Подпись доктора биологических наук Дегтяревой И.А. заверяю.

Главный ученый секретарь ФИЦ КазНЦ РАН,

кандидат химических наук

Зиганшина С.А.

«05» декабря 2018 г.

