

УТВЕРЖДАЮ

Проректор по научной работе
и международной деятельности
ФГБОУ ВО ИГУ
А. Ф. Шмидт

2016 г.



ОТЗЫВ

Ведущей организации на диссертацию М.М. Неустроева
«ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА НЕФТЕЗАГРЯЗНЕННЫХ МЕРЗЛОТНЫХ ПОЧВ И
РАЗРАБОТКА СПОСОБОВ ИХ БИОРЕМЕДИАЦИИ»,
представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по
специальности 03.02.08- экология

Тема диссертационной работы Неустроева М. М. несомненно актуальна. Восстановление почвы – сложный и длительный процесс, так как именно почва способна аккумулировать и закреплять токсические вещества. В настоящее время особую роль при решении проблем окружающей среды приобретает использование живых организмов, в частности, микроорганизмов. При этом работ, посвященных селекции микроорганизмов, используемых в деструкции нефти и нефтепродуктов при биоремедиации в северных регионах, крайне мало, поэтому цель и задачи исследований следует признать удачными.

Диссертация состоит из введения, трех глав, выводов, списка литературы, насчитывающего 231 наименование, в том числе 78 на иностранных языках и двух приложений. Диссертация изложена на 131 страницах, включая 11 рисунков и 14 таблиц. В приложении внесены две справки о депонировании штаммов бактерий *B. subtilis* «Кольма-7/2к» и *B. subtilis* «Оймякон-6/1» во Всероссийской коллекции непатогенных микроорганизмов сельскохозяйственного назначения, как перспективных для восстановления нефтезагрязненных мерзлотных почв.

Во «Введении» диссертант акцентирует внимание на актуальности, цели и задачах исследования, его научной новизне и практической значимости, положениям выносимых на защиту.

Научная новизна и практическая значимость. Впервые выделены из палеомикробиоты штаммы бактерий *B. subtilis* «Колыма – 7/2к» и *B. subtilis* «Оймякон» – 6/1, обладающие уникальным сочетанием биологически активных свойств. Штаммы депонированы во Всероссийской коллекции непатогенных микроорганизмов сельскохозяйственного назначения, как перспективные для биоремедиации нефтезагрязненных почв. Научная новизна и практическая значимость работы подтверждена получением 2 патентов РФ за изобретение: «Способ очистки мерзлотных почв от нефти спорообразующими бактериями *Bacillus subtilis*» и «Способ биоремедиации нефтезагрязненных мерзлотных почв».

Глава 1 «**Обзор литературы**» (31 стр.) состоит из пяти подразделов. Диссертантом проведен анализ литературных данных, касающихся разработки проблем окружающей среды с использованием живых организмов, в особенности микроорганизмов, входящих в область экологической биотехнологии. Подробно охарактеризована роль микроорганизмов, биопрепаратов, биосорбентов в восстановлении нефтезагрязненных почв, также даны значения психрофильности, галотолерантности, наличия био-ПАВов в углеводородокисляющих микроорганизмах, используемых при биоремедиации в условиях низких температур. В обзоре литературы особое внимание отводится бактериям рода *Bacillus*, как одной из перспективных групп микроорганизмов, используемых в современной экологической биотехнологии.

Глава 2 «**Материал и методики исследований**» изложена на 5 страницах. В главе представлены методы отбора и подготовки почвенных образцов (с указанием ГОСТов) на содержание нефтепродуктов, и для микробиологических, агрохимических исследований. Также указаны источники методов исследований по идентификации, изучении бактерий рода *Bacillus*, определения антифунгальной, фитотоксической, эмульгирующей активности микроорганизмов. Более подробно методы исследований представлены в соответствующих главах.

Глава 3 «**Результаты и обсуждения**» (52 стр.) посвящена оценке нефтезагрязненных мерзлотных почв и разработке способов их биоремедиации. Глава состоит из четырех разделов.

В разделе 3.1 (8 стр.) на основании собственных исследований за 2011-2014 гг., начиная данными ГБУ РИАЦЭМ при Министерстве охраны природы РС(Я) с 2008 г., в рамках проведения экологического мониторинга, проведена оценка нефтезагрязнений на территории республики. Показано, что наиболее часто загрязнения нефтепродуктами происходит при транспортировке. Автором составлены карты по нефтезагрязнениям на территории Республики Саха (Якутия) по годам (2011-2014 гг.).

В разделе 3.2 (13 стр.) состоящих из двух подразделов обсуждаются результаты микробиологических, агрохимических исследований нефтезагрязненных мерзлотных почв (с определением почвенных горизонтов) после проведения восстановительных работ. Впервые получены данные о глубоких нарушениях в структуре микробиоценозов нефтезагрязненных

мерзлотных почв, которые сохраняются после проведения восстановительных работ, при минимальном содержании нефтепродуктов, близких к фоновым. На основании полученных результатов, диссертант заключает, что изучение микробиологической активности нефтезагрязненных почв в сочетании с аналитическими исследованиями, можно использовать при мониторинге эффективности рекультивационных мероприятий. В качестве замечания, это заключение не отражено в выводах работы.

Раздел 3.3 посвящен исследованию штаммов бактерий рода *B. subtilis* (17 стр.), и состоит из пяти подразделов.

В подразделе 3.3.1 на основании изучения физиолого-биохимических свойств бактерий рода *Bacillus*, изолированных из палеомикробиоты, автор идентифицировал по видам и отобрал 5 штаммов, обладающих психрофильностью и галотелерантностью, как перспективные к деструкции нефти.

В качестве замечания, можно было бы более полно привести описание возраста, местонахождения уникального биоматериала как Колымский шерстистый носорог.

В подразделе 3.3.2 представлены оригинальные сканограммы фрагмента популяций культур *B. subtilis* 7/2к, выделенного из палеомикробиоты.

Подраздел 3.3.3 посвящен изучению углеводородокисляющих свойств бактерий рода *Bacillus*. Исследовано 23 штамма микроорганизмов, из них 13 штаммов, выделенных из палеомикробиоты, 5 – из мерзлотных почв и 5 – отобранных в результате собственных исследований. Из 23 исследованных штаммов бактерий рода *Bacillus* способностью окислять парафин обладают 10 штаммов при температуре +28°C и 7 при +4°C. Из них 5 штаммов бактерий: *Bac. mycoideas*; *Bac. subtilis* ТНП-3; *Bac. subtilis* ТНП-5, выделенные из мерзлотных почв, и *Bac. subtilis* «Кольма – 7/2к», *Bac. subtilis* «Оймякон – 6/1» - из палеомикробиоты способны расти на жидкой минерализованной среде с 4% нефти и бензина.

В подразделе 3.3.4 представлены результаты по изучению эмульгирующей активности штаммов бактерий *Bacillus* из палеомикробиоты и мерзлотных почв. Полученные результаты согласуются с сообщениями других исследований, что штаммы бактерий рода *Bacillus* продуцируют эффективные био-ПАВы и могут быть использованы для очистки экосистем от нефтезагрязнений.

В подразделе 3.3.5 обсуждаются необходимость в современных биопрепаратах для восстановления агроценозов после антропогенных воздействий, сочетания антифунгальной и ростостимулирующей активностей. В этом контексте выявление антифунгальной и ростостимулирующей активности у штаммов бактерий *B. subtilis*, изолированных из палеомикрофлоры, доказывают их перспективность в конструировании биопрепаратов с широким спектром применения.

Раздел 3.4 (13 стр.) состоит из двух подразделов и посвящен изысканию способов биоремедиации нефтезагрязненных почв с использованием подобранных штаммов микроорганизмов.

В подразделе 3.4.1 приводятся результаты наблюдений микровегетационных опытов, проведенных в лабораторных условиях. Использование штаммов бактерий рода *Bacillus* в биоремедиации искусственно загрязненной почвы, значительно сокращало содержание нефти. Следует отметить, в опытах диссертант использовал не только микроорганизмы и их сочетания, но и в качестве биотеста и возможного агента рекультивации, испытал районированный в условиях Якутии сорт овсяницы красной.

В подразделе 3.4.2 обсуждаются результаты опытов по разработке способов биоремедиации с использованием микроорганизмов и их носителей. В основу этого подраздела положены результаты полевых опытов. Получены достоверные результаты по восстановлению нефтезагрязненных мерзлотных почв с применением штаммов бактерий *Bacillus subtilis*. Интересны полученные данные опытов по применению птичьего помета после введения в рацион кур-несушек пробиотика на основе штаммов бактерий *Bac. subtilis*. Полученные результаты важны в экологическом аспекте использования пробиотиков в птицеводстве. Достоинством данной работы является то, что диссертант для биоремедиации нефтезагрязненных почв предлагает штаммы бактерий *B. subtilis*, которые в своей группе споровых бактерий рода *Bacillus*, занимают особое место по своей биологической активности и являются основой пробиотиков. В качестве замечания, полевые опыты по возможности можно было провести на естественно загрязненной нефтью почве.

Выводы (2 стр.) завершают основную часть диссертации и отражают ее содержание.

Список литературы (27 стр.) включает 231 источник, из которых 78 на иностранных языках.

Приложение (2 стр.) приводятся две справки ГНУ ВНИИСХМ о депонировании штаммов *B. subtilis* «Колыма – 7/2к» и *B. subtilis* «Оймякон – 6/1» во Всероссийской коллекции непатогенных микроорганизмов сельскохозяйственного назначения.

Автореферат адекватно отражает содержание диссертации. Основные результаты диссертации опубликованы в 13 работах, два из которых в журналах из списка ВАК, два - в описаниях к патентам РФ за изобретение.

Сделанные небольшие замечания носят рекомендательный характер, и не снижает научную и практическую значимость выполненных работ.

Заключение

В целом диссертация Неустроева Михаила Михайловича «Экологическая оценка нефтезагрязненных мерзлотных почв и разработка способов их биоремедиации» представляет собой решение научной проблемы, имеющей теоретическое и прикладное значение в области восстановления агроценозов после антропогенных воздействий. Диссертационная работа полностью отвечает критериям Положения о порядке присуждения ученых степеней, а соискатель Неустроев Михаил Михайлович заслуживает искомой ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.08 – экология.

Профессор кафедры зоологии позвоночных и экологии биолого-почвенного факультета ФГБОУ ВО «ИГУ», зав. лаб. водной токсикологии НИИ биологии ФГБОУ ВО «ИГУ», д.б.н., профессор

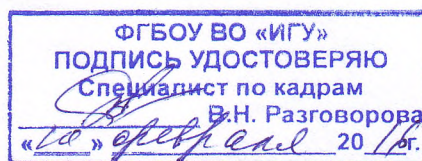
Стом Дэвард Иосифович

Заведующий кафедрой микробиологии биолого-почвенного факультета ФГБОУ ВО «ИГУ», зав. лаб. экспериментальной биотехнологии НИИ биологии ФГБОУ ВО «ИГУ», д.б.н., профессор

Огарков Борис Никитович

Отзыв заслушан и обсужден на расширенном заседании кафедр микробиологии и зоологии позвоночных и экологии от «10» февраля 2016 г.

Подписи Стома Д. И., Огаркова Б. Н. заверяю



Стом Дэвард Иосифович, доктор биологических наук, профессор, профессор кафедры зоологии позвоночных и экологии ФГБОУ ВО «ИГУ», заведующий лабораторией водной токсикологии НИИ биологии «ИГУ»

Огарков Борис Никитович, доктор биологических наук, профессор, зав. кафедрой микробиологии биолого-почвенного факультета ФГБОУ ВО «ИГУ», зав. лабораторией экспериментальной биотехнологии НИИ биологии «ИГУ»

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Иркутский государственный университет»
664003 г. Иркутск, ул. Карла Маркса, 1
тел. 8(3952)343437
e-mail: stomd@mail.ru