

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора биологических наук Куюкиной Марии Станиславовны
на диссертацию Щемелининой Татьяны Николаевны

«Биотехнологии ремедиации и конверсии углеводородов»,

представленную к публичной защите в диссертационный совет 64.1.002.01

Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.6. – Биотехнология

АКТУАЛЬНОСТЬ РАБОТЫ

Представленная диссертационная работа посвящена актуальной и практически важной проблеме разработки эффективных биотехнологий для очистки нефтезагрязненных почв и водных объектов на Крайнем Севере. Характерные для этой территории эколого-климатические условия обуславливают медленные процессы самовосстановления экосистем и их высокую чувствительность к техногенным воздействиям, поэтому возрастающая добыча нефти на Севере приводит к серьезному загрязнению окружающей среды, представляя угрозу для биологического разнообразия и здоровья человека. В этой связи, разработка технологий биоремедиации загрязненных экосистем и биоконверсии углеводородных загрязнителей имеет важное значение для снижения вредного воздействия нефтедобычи и восстановления природного равновесия. Следует отметить, что, наряду с растущей озабоченностью экологическим состоянием северных экосистем, их микробные сообщества и метаболический потенциал криогенных почв в условиях возрастающей антропогенной нагрузки слабо изучены.

СТЕПЕНЬ ОБОСНОВАННОСТИ НАУЧНЫХ ПОЛОЖЕНИЙ, ВЫВОДОВ И РЕКОМЕНДАЦИЙ, СФОРМУЛИРОВАННЫХ В ДИССЕРТАЦИИ

Представленные в диссертационной работе научные положения, выводы и рекомендации, изложенные соискателем, в целом подтверждены и вытекают из результатов проведенной научно-исследовательской работы. Логическая структура диссертации построена на последовательных этапах: изучении комплекса почвенных ферментов нефтезагрязненных криогенных почв и нефтяных отходов в качестве индикатора процессов восстановления почв и источника микроорганизмов для получения высокоэффективных биологических продуктов, конструировании симбиотического альго-бактериально-дрожжевого консорциума в свободной и иммобилизованной форме, предназначенного для биоремедиации нефтезагрязненных объектов и биоконверсии нефтяных отходов в биодизель, а также разработки технологии их производства и применения.

НАУЧНАЯ НОВИЗНА И ДОСТОВЕРНОСТЬ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ, ВЫВОДОВ И РЕКОМЕНДАЦИЙ, СФОРМУЛИРОВАННЫХ В ДИССЕРТАЦИИ

В диссертационной работе Т.Н. Щемелининой реализуется новый научно-обоснованный подход к управлению микробными сообществами и созданию биокаталитических систем для глубокой переработки промышленных отходов и получения продуктов с высокой добавленной стоимостью. Автором в результате 20-летних исследований изучена динамика ферментативной активности криоморфных почв на территории Печоро-Усинского округа и доказана возможность использования ее в

качестве индикатора процессов восстановления почвенных экосистем в условиях Крайнего Севера. Разработана прогностическая модель, связывающая ферментативную активность с содержанием нефтепродуктов в почвах. Создан новый нефтеокисляющий консорциум, состоящий из штамма водорослей *Chlorella vulgaris* IPPAS C-2024, а также выделенных штаммов бактерий *Pseudomonas yamanorum* VKM B-3033D и дрожжей *Rhodotorula glutinis* VKM Y-2998D, и показана его эффективность для очистки нефтезагрязнений различного типа. Приоритет исследований подтвержден девятью патентами РФ на изобретения. Результаты представленной работы расширяют познания в области почвенной энзимологии и создании биокаталитических систем на основе микроорганизмов-нефтедеструкторов.

Достоверность полученных результатов подтверждается доказательным объемом экспериментального материала, применением современных методов исследования, постановкой контрольных вариантов опытов, достаточным числом параллельных определений. Статистическая обработка данных в программе Statistica 10.0 с использованием t-критерия Стьюдента, расчет доверительных интервалов средних арифметических значений, применение регрессионного анализа позволяют считать результаты достоверными.

Результаты промышленных испытаний биопродуктов, полученных в ходе работы, подтверждены актами внедрения в области рекультивации загрязненных участков. налажено промышленное производство разработанных биопрепарата и биогеосорбента.

СТРУКТУРА И СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Поставленная цель и задачи работы определили логику проведения исследований и изложения результатов, структуру диссертации. Диссертация состоит из введения, восьми глав, заключения, списка использованных источников и приложений. Работа изложена на 437 стр. основного текста, включает 17 рисунков, 99 таблиц, 26 приложений, 826 использованных источников.

Диссертация представляет собой системное изложение этапов решения задач, где научные результаты представлены в виде научных положений, выводов и рекомендаций.

Во введении автором аргументирована актуальность темы исследования, показан уровень проработки проблемы, корректно сформулирована цель и задачи, определены объект и предмет исследования, а также приведены теоретическая и практическая значимость выполненной работы, сведения об апробации.

В первой главе «Обзор литературы» представлена исчерпывающая информация о современных научных исследованиях, связанных с различными аспектами влияния нефтяного загрязнения на окружающую среду, разработке эффективных методов и подходов к оценке процессов восстановления, разработки биопродуктов на основе микроорганизмов-нефтедеструкторов, технологий очистки, реализуемых, в том числе, в условиях Крайнего Севера.

Во второй главе «Материалы и методы исследований» исчерпывающе описаны объекты и методы исследований; лабораторные, полевые и опытно-промышленные эксперименты.

Главу 3 рассматриваемой диссертации можно разделить на два логических блока. В первом автор предлагает рассматривать ферментативную активность в качестве важного индикатора качества почв, разработав локальную прогностическую модель для оценки

состояния нефтезагрязненных почв. Основываясь на связи, выявленной между степенью загрязнения и каталазной, дегидрогеназной и уреазной активности в качестве предикторов, доказана их показательность в процессах восстановления загрязненных нефтью почв Крайнего Севера с применением различных биотехнологических подходов. Во втором блоке Татьяна Николаевна обосновывает применимость ферментативной активности как диагностического критерия для скрининга микроорганизмов в загрязненных нефтью объектах окружающей среды, успешно выделив два высокоактивных штамма для дальнейшего изучения с целью разработки нефтеокисляющих биопрепаратов.

В Главе 4 автором рассматриваются вопросы идентификации выделенных культур микроводорослей *Chlorella vulgaris*, дрожжей *Rhodotorula glutinis*, бактерий *Pseudomonas yamanorum* на основе культурально-морфологических, физиолого-биохимических и генотипических характеристик, а также оценки их биотехнологического потенциала. Дана гигиеническая характеристика составленной микробной ассоциации.

Глава 5 описывает разработку технологии получения альго-бактериально-дрожжевого консорциума, адаптированного для решения конкретных биоремедиационных задач и проявляющего синергетические свойства в отношении биодеструкции нефтяного загрязнения.

Перспективным подходом, реализованным диссертантом и изложенным в Главе 6, является иммобилизация созданного консорциума на различных носителях, обеспечивающая большую стабильность клеток, способность более эффективно удалять загрязнения, чем свободные клетки. Автором были оптимизированы и масштабированы процессы иммобилизации ассоциации исследуемых микроорганизмов с получением биогеосорбента на глауконите. Биологическая активность и нефтеокисляющая способность биогеосорбента подтверждены в серии экспериментов.

В Главе 7 представлена подробная информация о кинетике разложения нефти в ходе опытно-промышленных испытаний разработанной биотехнологии применения консорциума и биогеосорбента для очистки нефтезагрязненных сред. В частности, самостоятельную научно-практическую значимость имеют результаты исследований возможности конверсии отработанных суспензий микроорганизмов с получением биодизеля. Соискателем разработаны технологии получения биопрепаратов нефтеокисляющего действия и рекомендации по их применению, соответствующие требованиям законодательства (Глава 8).

Сформулированное Т.Н. Щемелиной Заключение диссертации позволяет подвести итог огромного массива успешно выполненной теоретической и практической работы в области экологической биотехнологии.

ПРАКТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ работы заключается в эффективном использовании разработанных биопродуктов и технологий (биопрепарат «БИОТРИН» и биогеосорбент «ГЕОЛЕКС®») и технологий их применения, внедренных в производство компанией «БИОЭКОБАЛАНС» в России. Входящие в состав биопрепаратов штаммы микроорганизмов депонированы в соответствующих коллекциях и успешно применяются для ликвидации нефтяных разливов.

По теме исследования опубликовано 44 работы, в том числе 15 научных статей в отечественных и зарубежных журналах, индексируемых в Web of Science, Scopus и ВАК, 9 изобретений защищены патентом РФ. Основные положения диссертации обсуждены на 16

российских и международных конференциях, вошли в курс лекций по дисциплине «Основы биотехнологии» в Санкт-Петербургском государственном лесотехническом университете им. С.М. Кирова (филиал Сыктывкарский лесной институт).

При прочтении диссертации возникли следующие вопросы:

1. Как можно объяснить связь между активностью уреазы в почве и уровнем нефтяного загрязнения?

2. Можно ли прогнозировать аналогичные результаты по получению биодизеля из отработанной микробной суспензии после очистки других нефтезагрязненных субстратов? Не было ли остаточного загрязнения в биодизеле, полученном из экстрактов после очистки щебеночного балласта?

Замечание: термин «нетоксичный» не вполне применим к микроорганизмам, а скорее к химическим веществам.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационная работа Щемелининой Татьяны Николаевны на тему «Биотехнологии ремедиации и конверсии углеводов» является научно-квалификационной работой, в которой решена проблема очистки окружающей среды от нефтяного загрязнения биотехнологическим методом с помощью консорциума микроорганизмов и биогеосорбента на его основе. Исследование выполнено на высоком научном и методическом уровне. Актуальность рассматриваемых проблем, новизна, достоверность полученных результатов, обоснованность научных положений, теоретическая и научно-практическая значимость свидетельствует о том, что диссертационная работа соответствует требованиям пункта 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 г., в редакции постановлений Правительства РФ от 30.07.2014 г. № 723, от 21.04.2016 г. № 335, от 02.08.2016 г. № 748, от 29.05.2017 г. № 650, от 28.08.2017 г. № 1024, от 01.10.2018 г. № 1168, от 20.03.2021 г. № 426, от 11.09.2021 г. № 1539, от 26.09.2022 г. № 1690, от 26.01.2023 г. № 101, от 18.03.2023 г. № 415, от 26.10.2023 г. № 1786, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора биологических наук, а ее автор, Щемелинина Татьяна Николаевна, заслуживает присуждения искомой степени по специальности 1.5.6. Биотехнология.

Официальный оппонент:

Доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории алканотрофных микроорганизмов ИЭГМ УрО РАН – филиала ПФИЦ УрО РАН, профессор кафедры микробиологии и иммунологии Пермского государственного национального исследовательского университета

16 ноября 2023 г.

Подпись Куюкиной М.С. заверяю.
Директор «ИЭГМ УрО РАН», д.м.н., проф.

Институт экологии и генетики микроорганизмов – филиал Федерального государственного бюджетного учреждения науки Пермский федеральный исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук»
614081, Пермь, ул. Голева, 13. Эл. почта: kuyukina@legm.ru. Тел: (342)2808114



Куюкина Мария Станиславовна

Гейн С.В.