

## Отзыв

на автореферат диссертации Филонова Андрея Евгеньевича  
**«Микробные биопрепараты для очистки окружающей среды от нефтяных загрязнений в условиях умеренного и холодного климата»**,  
представленной на соискание ученой степени доктора биологических наук  
по специальности 03.01.06 — Биотехнология (в том числе бионанотехнологии).

Добыча нефти в России, так и за рубежом, сопряжена с высоким загрязнением окружающей среды. Несовершенство технологий добычи, транспортировки, переработки и хранения нефтепродуктов приводят к ее аварийным разливам, которые достигают 60–70 млн. тонн в год. Эти вещества устойчивы к деградации, аккумулируются в почве и обладают токсическими, мутагенными и канцерогенными свойствами. Следовательно, загрязнение окружающей среды нефтью и нефтепродуктами представляет серьёзную опасность для здоровья человека.

На сегодняшний день нет более насущной и актуальной проблемы, чем разработка эффективных и экологически безопасных способов восстановления окружающей среды от нефти и нефтепродуктов. Наиболее полно требованиям экологичности отвечают технологии биоремедиации почв с использованием специально подобранных штаммов микроорганизмов-деструкторов и растений.

Диссертационная работа Филонова Андрея Евгеньевича содержит результаты научных исследований по изучению процессов биodeградации и биоремедиации, а также разработке эффективных биопрепаратов и технологий очистки территорий от нефтяных загрязнений в условиях холодного и умеренного климата.

Для достижения поставленной цели были сформулированы **следующие задачи**:

1) выделить, охарактеризовать и провести отбор наиболее эффективных психротрофных штаммов – деструкторов углеводов нефти, обладающих способностью к деструкции высоких концентраций нефти и нефтепродуктов в присутствии соли, в широком температурном и pH-диапазонах; а также образующих биоэмульгаторы;

2) изучить роль плазмид биodeградации в деструкции углеводов нефти, исследовать горизонтальный перенос катаболических плазмид между микроорганизмами в лабораторных и полевых условиях;

3) изучить образование и свойства биологических поверхностно-активных веществ (биоПАВ), продуцируемых эффективными бактериями-нефтедеструкторами родов *Pseudomonas* и *Rhodococcus*;

4) разработать методы мониторинга интродуцированных в окружающую среду штаммов-нефтедеструкторов с использованием культурально-морфологических признаков, маркеров антибиотикорезистентности и метода геномных фингерпринтов;

- 5) оптимизировать условия и режимы культивирования эффективных психротрофных бактерий – деструкторов нефти родов *Pseudomonas* и *Rhodococcus*;
- 6) разработать способы хранения этих микроорганизмов-нефтедеструкторов, обеспечивающие их максимальную выживаемость и деградтивную активность;
- 7) составить микробные консорциумы (опытные образцы биопрепаратов) из отобранных штаммов, обладающих перечисленными в задаче 1 свойствами, для эффективной очистки окружающей среды от нефтепродуктов и нефти в условиях холодного и умеренного климата;
- 8) сравнить эффективность деструкции нефти в почве полученными опытными образцами биопрепаратов с коммерческими биопрепаратами в лабораторных и полевых условиях;
- 9) составить эффективные растительно-микробные ассоциации для биоремедиации почв, загрязненных нефтью в условиях холодного и умеренного климата.

**Научная новизна диссертационной работы** не вызывает никаких сомнений:

- Впервые оценен вклад катаболических плазмид в биодеградацию нефти в почве и в жидкой минеральной среде. Выделены и охарактеризованы новые плазмиды биодеградации полициклических ароматических углеводородов (ПАУ) pAP4, pAP5, pAP35, pAP36, pBS3950. Штаммы, содержащие конъюгативные плазмиды биодеградации ПАУ, интенсифицируют процессы очистки, повышают численность и деструктивный потенциал микробных популяций нефтезагрязненных сайтов.

- Разработан метод мониторинга интродуцированных в почву штаммов-деструкторов родов *Rhodococcus* и *Pseudomonas*. На основании культурально - морфологических признаков, маркеров антибиотикорезистентности и с применением метода геномных фингерпринтов впервые удалось проследить за судьбой интродуцированных микроорганизмов-деструкторов нефти в открытой окружающей среде и показать их выживаемость и конкурентоспособность.

- Исследована структура очищенных препаратов биосурфактантов, продуцируемых бактериями родов *Pseudomonas* и *Rhodococcus*. Установлено, что выделенные вещества имеют гликолипидную природу.

- На основании консорциума бактерий родов *Rhodococcus* и *Pseudomonas* разработан и запатентован биопрепарат «МикроБак» для биоремедиации почв с содержанием нефти до 15% в присутствии до 5% соли при pH от 6 до 8 при пониженных и умеренных температурах (4–32°C).

- Выявлены наиболее устойчивые к нефтезагрязнению растения: ячмень и газонная трава, которые были затем использованы для создания растительно-микробных ассоциаций.

**Научно-практическая значимость работы:**

- На основании скрининга коллекции микроорганизмов лаборатории биологии плазмид ИБФМ РАН и коллекции бактерий ЗАО «Биоойл» отобраны и охарактеризованы бактерии, которые вошли в состав биопрепарата «МикроБак» и

микробной ассоциации «ВиО», способных эффективно деградировать углеводороды нефти в условиях умеренного и холодного климата.

- В условиях лабораторных экспериментов и полевых испытаний на территории Пограничного месторождения Ямало-Ненецкого автономного округа показана высокая эффективность опытных образцов биопрепаратов «МикроБак» и «ВиО» при очистке почвенных и водных модельных систем от нефти и нефтепродуктов.

- Получены 5 патентов РФ на штамм микроорганизмов, ассоциацию микроорганизмов-нефтедеструкторов, биопрепарат для очистки от загрязнений нефтью, способ его получения и применения, а также на способ производства сухой формы биопрепарата и способ ее активации.

**Выводы автора** убедительны и подтверждены результатами многоплановых микробиологических и химико-аналитических исследований.

#### **Связь работы с крупными научными программами и грантами:**

Результаты, представленные в работе, получены в ходе выполнения исследований в рамках федеральной целевой программы «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» (госконтракты № 2.1.1.612, № 2.1.1.7789, № 2.1.1.9290, № 02.740.11.0296, № 02.740.11.0040, № П1749); Российской федеральной научно-технической программы «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития науки и техники» (госконтракты №43.073.1.1.2502 и № 14.515.11.0027); гранта Министерства образования и науки РФ (РИ-16/025); грантов РФФИ (03-04-49145-а, 04-04-57807-АФ2004\_а, 06-04-96318-р\_центр\_а, 08-04-90028-Бел\_а, 08-04-99019-р\_офи, 11-04-97562-р\_центр\_а); грантов МНТЦ (2366 и 3624); грантов АФГИР (RB2-2377-PU-02, RUB2-010001-PU-05, RB2-2029); проекта Пятой рамочной программы Европейского сообщества (IC15CT980138); проектов INTAS (99-1487 и 01-2383).

Диссертация Филонова А.Е. является законченной работой, которая характеризуется важностью полученных результатов и полнотой изложения материала. По материалам диссертации опубликовано 57 работ, в том числе 43 статьи, 2 обзора и 4 главы в научных книгах, получено 5 патентов РФ на изобретение. Основные результаты и положения работы докладывались на международных и российских научных конференциях: Бельгия, 2001; Чешская Республика, 2002; Греция, 2004; Франция, 2005; Испания, 2005; Австрия, 2006; Moscow International Congress (Россия, 2007); Канада, 2007; «ConSoil», Италия, 2008; Швеция, 2009; «ConSoil», Австрия, 2010; Иркутск, 2011; Австрия, 2012.

Результаты диссертационной работы автора могут быть использованы в учреждениях Министерства экологии и природопользования, на нефтедобывающих и нефтеперерабатывающих предприятиях, заинтересованных в очистке загрязненных почв. Материалы диссертационной работы могут быть также использованы при

