

«УТВЕРЖДАЮ»

Ректор ФГБОУ ВПО Пущинского  
государственного естественно-научного

института

Делан Вайнштейн М.Б.

2016 г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Пущинский государственный естественно-научный институт» (ПущГЕНИ)

Диссертация Делеган Янины Адальбертовны «Термотолерантные бактерии – деструкторы углеводородов нефти» выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Пущинский государственный естественно-научный институт» (ПущГЕНИ), на базе лаборатории биологии плазмид Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К.Скрябина Российской академии наук (ИБФМ РАН), Федеральное агентство научных организаций, в соответствии с договором о сетевом образовании, реализуемом совместно ПущГЕНИ и ИБФМ РАН.

В 2011 г. Делеган Я.А. окончила Тульский государственный университет с присуждением квалификации «Химик» по специальности «Химия», в 2013 г. – Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Пущинский государственный естественно-научный институт» (ПущГЕНИ) с присуждением степени магистра биологии по направлению «Биология».

Делеган Я.А. освоила программу подготовки научно-педагогических кадров в очной аспирантуре Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования Пущинского государственного естественно-научного института (ПущГЕНИ), Министерство образования и науки РФ, по направлению 03.01.06 – Биотехнология (в том числе бионанотехнологии) в 2013-2016 гг. и сдала кандидатские экзамены «История и философия науки», «Иностранный язык (английский)», «Биотехнология» с оценкой «отлично». В период работы над диссертацией занимала должность лаборанта в

ФГБУН ИБФМ им. Г.К. Скрябина РАН, Федеральное агентство научных организаций.

Научный руководитель – кандидат биологических наук Филонов Андрей Евгеньевич, доцент Федерального государственного бюджетного учреждения науки высшего профессионального образования Пущинского государственного естественно-научного института (ПущГЕНИ), старший научный сотрудник ФГБУН ИБФМ им. Г.К. Скрябина РАН.

**По результатам рассмотрения диссертации «Термотолерантные бактерии – деструкторы углеводородов нефти» принято следующее заключение:**

**Актуальность темы** диссертационной работы Делеган Я.А. обусловлена важностью исследования бактерий, способных утилизировать углеводороды нефти в условиях жаркого аридного климата. К настоящему времени термотолерантные углеводородокисляющие бактерии являются малоизученной группой в температурной классификации микроорганизмов, очень мало известно об их физиолого-биохимических свойствах и потенциале применения в ремедиационных технологиях.

Изучение свойств термотолерантных бактерий-нефтедеструкторов и применение их для очистки грунтовых и водных систем при повышенных (до 50°C) температурах позволит разработать новые биотехнологии для решения проблемы нефтяного загрязнения в таких условиях.

Диссертационная работа Делеган Я.А. является законченным научным исследованием, научно-квалификационной работой, в которой изложены результаты, важные для разработки биотехнологического подхода к очистке грунтовых и водных экосистем в жарком аридном климате.

**Личное участие соискателя** состоит в постановке целей и задач исследований, планировании экспериментов по изучению физиолого-биохимических и генетических характеристик термотолерантных штаммов-нефтедеструкторов, исследованию их биотехнологического потенциала в условиях, моделирующих жаркий аридный климат; получении экспериментальных данных, интерпретации, анализе и обобщении полученных результатов, подготовке публикаций по выполненной работе.

**Достоверность результатов исследований, проведенных соискателем**, подтверждается применением в работе современных методов исследований, компьютерных программ для обработки данных и использованием сертифицированного оборудования для измерений.

**Новизна проведенных исследований** состоит в том, что впервые выделены термотолерантные нефтеокисляющие штаммы из воды

подледного озера в Антарктиде. Эти штаммы были идентифицированы диссертантом как представители рода *Rhodococcus*.

Диссертантом выделен новый штамм *Gordonia amicalis* 1B, способный расти как на нефти, так и на отдельных углеводородах при температурах до 50°C (оптимум роста 35-37°C).

Впервые Я.А. Делеган показана деструкция углеводородов штаммами *R. erythropolis* при повышенной (45°C) температуре.

Выявлено, что у представителей вида *R. pyridinivorans* может наблюдаться способность утилизировать как полиароматические углеводороды (ПАУ), так и алканы (линейные и разветвленные), - это показано на примере штамма L5A-BSU. Показано, что гены деструкции нафталина у штамма L5A-BSU располагаются в составе мобильного генетического элемента (МГЭ), предположительно, в составе хромосомы. Эти гены могут перемещаться в родственные штаммы (были получены Nah<sup>+</sup> рекомбинанты штамма *R. erythropolis* Par7).

**Практическая значимость полученных результатов** состоит в том, что диссертантом разработан консорциум термотолерантных актиномицетов *Gordonia* sp. 1D, *Rhodococcus erythropolis* Par7, *R. pyridinivorans* L5A-BSU. Консорциум утилизирует нефть при уровне загрязнения до 10% и температурах 20-50°C, в засоленных (до 7% соли) водных и грунтовых системах, в том числе с низкой (около 10%) влажностью грунта. Показана эффективность этой бактериальной ассоциации для очистки нефтезагрязненных грунтов и вод в условиях, моделирующих жаркий аридный климат.

Я.А. Делеган подана заявка на патент РФ №2015143402 «Консорциум термотолерантных бактериальных штаммов для деградации нефти и нефтепродуктов в грунтах и водах в условиях жаркого климата». Приоритет 13.10.2015.

Изученные ею бактерии депонированы в международных коллекциях микроорганизмов и доступны научному сообществу для дальнейшего исследования и практического использования.

**Ценность научных работ соискателя** состоит в том, что в них сформулированы характеристики термотолерантных нефтеокисляющих бактерий как промежуточной группы в температурной классификации микроорганизмов. На основе исследованных в работе термотолерантных углеводородокисляющих штаммов разработан микробный консорциум и продемонстрирована его эффективность при деградации углеводородов нефти в условиях, моделирующих жаркий аридный климат.

**Диссертационная работа Делеган Я.А. соответствует специальности 03.01.06 – Биотехнология (в том числе бионанотехнологии).**

Основные материалы диссертации полностью опубликованы в работах соискателя: в шести статьях, заявке на патент РФ и четырнадцати тезисах конференций, в том числе с международным участием.

**Список публикаций автора по теме диссертационной работы:**

**Статьи**

1. Делеган Я.А., Ветрова А.А., Титок М.А., Филонов А.Е. Разработка консорциума термотолерантных бактерий как основы биопрепарата для ремедиации нефтезагрязненных грунтов и вод в жарком климате // Биотехнология. – 2016. - №1. – С. 53-64.

2. Делеган Я.А., Ветрова А.А., Акимов В.Н., Титок М.А., Филонов А.Е., Боронин А.М. Термотолерантные бактерии-нефтедеструкторы, выделенные из проб грунта и воды географически удаленных регионов // Прикладная биохимия и микробиология. – 2016. – Т. 52. - № 4. – С. 1–9.

3. Petrikov K., Delegan Ya., Surin A., Ponamoreva O., Puntus I., Filonov A., Boronin A. Glycolipids of *Pseudomonas* and *Rhodococcus* oil-degrading bacteria used in bioremediation preparations: Formation and structure // Process Biochemistry. – 2013. – Vol. 48. – P. 931-935.

4. Делеган Я.А., Ветрова А.А., Чернявская М.И., Титок М.А., Филонов А.Е. Термотолерантные актиномицеты как агенты ремедиации нефтезагрязненных грунтов и вод в условиях жаркого аридного климата // Известия Тульского государственного университета Естественные науки. – 2015. – № 4. – С. 248–258.

5. Делеган Я.А., Ветрова А.А., Чернявская М.И., Филонов А.Е. Физиолого-биохимическая и таксономическая характеристика термотолерантных бактерий-деструкторов нефти, выделенных из образцов грунта и воды с территории Антарктиды, Казахстана и России // Актуальная биотехнология. – 2014. - №3 (10). - С. 107-108.

6. Делеган Я.А., Филонов А.Е. Физиологическая и таксономическая характеристика термотолерантных нефтеокисляющих бактерий рода *Gordonia*, выделенных из пробы грунта с территории Московского нефтеперерабатывающего завода (Капотня, г. Москва) // МНО «Inter Medical», Биологические науки. – 2014. - №4. – С. 45-48.

**Заявка на патент**

7. Делеган Я.А., Ветрова А.А., Иванова А.А., Чернявская М.И., Титок М.А., Филонов А.Е., Боронин А.М. Консорциум термотолерантных бактериальных штаммов для деградации нефти и нефтепродуктов в грунтах

и водах в условиях жаркого климата. Заявка на патент РФ №2015143402. Приоритет 13.10.2015.

### **Тезисы**

8. Делеган Я.А., Ветрова А.А., Акимов В.Н., Титок М.А., Филонов А.Е. Ассоциация термотолерантных нефтеокисляющих бактерий для очистки нефтезагрязненных грунтов в условиях жаркого климата // IX Международная научная конференция «Микробные биотехнологии: фундаментальные и прикладные аспекты». Минск, 7-11 сентября 2015. С. 177-178.
9. Delegan Y., Vetrova A., Akimov V., Titok M., Filonov A. Isolation and characterization of thermotolerant petroleumoxidizing bacteria from geographically remote regions // FEMS-1950 Environmental microbiology – 2. FEMS Congress, Maastricht, 7-11 June 2015.
10. Делеган Я.А., Ветрова А.А., Чернявская М.И., Филонов А.Е. Физиолого-биохимический и генетический анализ термотолерантных штаммов-деструкторов нефти, выделенных из образцов грунта и воды с территории России, Казахстана и Антарктиды. Всероссийская конференция с элементами научной школы для молодежи «Экотоксикология-2014». Материалы конференции, Тула, 2-3 октября 2014. С. 43.
11. Делеган Я.А., Ветрова А.А., Иванова А.А., Гафаров А.Б., Филонов А.Е. Физиологическая и метаболическая характеристика термотолерантных нефтеокисляющих бактерий-продуцентов биоПАВ, выделенных из грунтовых и водных образцов России, Казахстана и Антарктиды. 18 международная Пущинская школа-конференция молодых ученых «Биология – наука XXI века». Тезисы. Пущино, 21-25 апреля 2014. С. 201.
12. Делеган Я.А., Ветрова А.А., Иванова А.А. Анализ свойств углеводородокисляющих термотолерантных бактерий, выделенных из образцов грунта России, Казахстана и Антарктиды. XXI Международная конференция студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов-2014». Тезисы докладов, Москва, 7-11 апреля 2014. С. 205-206.
13. Делеган Я.А., Ветрова А.А., Иванова А.А., Филонов А.Е. Изучение физиолого-биохимических свойств термотолерантных нефтеокисляющих бактерий, выделенных из географически удаленных регионов. Международная научно-практическая конференция «Биотехнология и качество жизни». Материалы конференции. Москва, 18-20 марта 2014. С. 423-424.
14. Делеган Я.А., Ветрова А.А., Иванова А.А., Филонов А.Е. Термотолерантные бактерии-деструкторы нефти, производящие

биоэмульгаторы. IX Молодежная школа-конференция с международным участием "Актуальные аспекты современной микробиологии". Тезисы. Москва, 21-23 октября 2013. С. 71-73.

15. Делеган Я.А., Ветрова А.А., Иванова А.А., Филонов А.Е. Выделение и характеристика эффективных термотолерантных бактерий-нефтедеструкторов, продуцирующих биоэмульгаторы. Всероссийская конференция с элементами научной школы для молодежи «Экотоксикология-2013». Материалы конференции, Тула, 1-2 октября 2013. С. 27.

16. Делеган Я.А., Ветрова А.А., Иванова А.А., Филонов А.Е., Гафаров А.Б., Петриков К.В., Боронин А.М. Термотолерантные углеводородокисляющие микроорганизмы: изучение физиологобиохимических свойств. 17 Международная Пущинская школа-конференция молодых ученых «Биология – наука XXI века». Сборник тезисов. С. 13-14.

17. Делеган Я.А., Ветрова А.А., Иванова А.А. Характеристика физиологобиохимических свойств термотолерантных микроорганизмов-нефтедеструкторов, выделенных из географически удаленных биотопов. XIX Международная конференция студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов-2013». Тезисы докладов, Москва, 8-13 апреля 2013. С. 192-193.

18. Делеган Я.А., Пунтус И.Ф., Петриков К.В., Филонов А.Е. Выделение и изучение структуры биоПАВ, продуцируемых микроорганизмами–нефтедеструкторами родов *Pseudomonas* и *Rhodococcus*. VIII Молодежная школа-конференция с международным участием "Актуальные аспекты современной микробиологии". Тезисы. 29-31 октября 2012. С. 121-122.

19. Делеган Я.А., Ветрова А.А., Овчинникова А.А., Филонов А.Е. Выделение термотолерантных микроорганизмов-нефтедеструкторов из географически удаленных биотопов. Всероссийская конференция с элементами научной школы для молодежи «Экотоксикология-2012». Материалы конференции, Тула, 12 сентября, 15 октября 2012. С. 30.

20. Петриков К.В., Делеган Я.А., Филонов А.Е. Микробные биосурфактанты для биоремедиации грунтов, загрязненных углеводородами нефти. Всероссийская конференция с элементами научной школы для молодежи «Экотоксикология-2012». Материалы конференции, Тула, 12 сентября, 15 октября 2012. С. 33.

21. Puntus I., Akhmetov L., Petrikov K., Delegan Ya., Ross D., Surin A., Filonov A: Surface activity of cold-adapted oil degrading microorganisms of the genera *Pseudomonas* and *Rhodococcus*. Contaminants in Freezing Ground

(CFG8): 8th International Conference. Abstracts, Obergurgl – Tyrol, 22-26 April 2012. Innsbruck, Austria. P. 63.

Диссертация Делеган Янины Адальбертовны «Термотолерантные бактерии – деструкторы углеводородов нефти» рассмотрена на заседании совместного семинара лабораторий биологии плазмид, микробной энзимологии и физиологии микроорганизмов ИБФМ РАН 07 июля 2016 года и рекомендована к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.06 – Биотехнология (в том числе бионанотехнологии).

Заключение принято на заседании совета Учебного центра Микробиологии и биотехнологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Пущинский государственный естественно-научный институт» (ПущГЕНИ) 11 июля 2016 г., протокол №1.

Декан УЦ Микробиологии и биотехнологии ПущГЕНИ, зам. директора и зав. лабораторией микробной энзимологии ИБФМ РАН

д.б.н.



Леонтьевский А.А.

