

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА

ЮФУ801.01.01,

созданного на базе Академии биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского
федерального государственного автономного образовательного
учреждения высшего образования «Южный федеральный университет»,
по диссертации на соискание ученой
степени кандидата наук

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета

от 23 ноября 2023 года №36

О присуждении Михедовой Елизавете Евгеньевне, гражданство РФ, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Экологическая оценка метода сорбционной биоремедиации нефтезагрязненных минеральных почв Западной Сибири» по специальности 1.5.15. Экология (биологические науки) принята к защите 20 сентября 2023 г. (протокол заседания № 22) диссертационным советом ЮФУ801.01.01, созданным на базе Академии биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Южный федеральный университет», в соответствии с приказом № 166-ОД от 30.06.2022 г. (изменения в составе совета № 51-ОД от 10.03.2023 г.).

Соискатель Михедова Елизавета Евгеньевна, 1993 года рождения, в 2015 г. окончила с отличием бакалавриат очной формы обучения федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский государственный университет нефти и газа (национальный исследовательский университет) имени И.М. Губкина» по направлению подготовки 05.03.06 «Экология и природопользование», в 2017 г. окончила с отличием магистратуру очной формы обучения федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский государственный университет нефти и газа (национальный исследовательский университет) имени И.М. Губкина» по направлению подготовки 21.04.01 Нефтегазовое дело, направленность «Технологии охраны недр в нефтегазовом деле». В 2020 г. поступила в аспирантуру очной формы обучения федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Пущинский

государственный естественно-научный институт» (ПущГЕНИ) по направлению подготовки 06.06.01 Биологические науки, научная специальность 03.02.08 Экология, где обучается по настоящее время. С 2020 по 2022 гг. занимала должность младшего научного сотрудника Института физико-химических и биологических проблем почвоведения Российской академии наук – обособленного подразделения федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пущинский научный центр биологических исследований Российской академии наук» (ИФХиБПП РАН – обособленное подразделение ФИЦ ПНЦБИ РАН), Минобрнауки России.

Диссертация выполнена в лаборатории физико-химии почв Института физико-химических и биологических проблем почвоведения Российской академии наук – обособленного подразделения федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пущинский научный центр биологических исследований Российской академии наук» (ИФХиБПП РАН – обособленное подразделение ФИЦ ПНЦБИ РАН).

Научный руководитель – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник **Васильева Галина Кирилловна**, федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Федеральный исследовательский центр «Пущинский научный центр биологических исследований Российской академии наук», Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения Российской академии наук, лаборатория физико-химии почв, ведущий научный сотрудник.

Официальные оппоненты:

1. Андроханов Владимир Алексеевич, доктор биологических наук, федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт почвоведения и агрохимии Сибирского отделения РАН (ИПА СО РАН)», директор;

2. Завгородняя Юлия Анатольевна, кандидат биологических наук, доцент, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», факультет почвоведения, кафедра химии почв, доцент.

дали **положительные отзывы** на диссертацию.

Соискатель имеет 20 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации опубликовано 20 работ, из них в научных изданиях, входящих в Перечень научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные

научные результаты диссертации на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук, соответствующих научным специальностям 1.5.15. Экология (биологические науки), 1.5.9. Почвоведение (биологические науки), представленные для защиты в диссертационные советы Южного федерального университета, опубликована 1 работа; в научных изданиях, входящих в базы данных международных индексов научного цитирования Scopus и/или Web of Science, опубликовано 2 работы. Общий объем опубликованных работ 4,25 печатных листов, из которых вклад автора 2,15 печатных листа. В диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных соискателем научной степени работах.

Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:

1. **Mikhedova, E.** Ecological aspects of sorbents use to improve the efficiency of bioremediation on oil-contaminated lands / Elizaveta Mikhedova, Uzorina Maria // Fuentes el Reventon Energetico. – 2021. – Vol. 19, No 1. – P. 65-73. – DOI 10.18273/revfue.v19n1-2021006.
2. Use of natural sorbents for accelerated bioremediation of grey forest soil contaminated with crude oil / G. Vasilyeva, E. **Mikhedova**, L. Zinnatshina, E. Strijakova, L. Akhmetov, S. Sushkova, J.-J. Ortega-Calvo // Science of The Total Environment. – 2022 – V. 805. – № 157952. – DOI: 10.1016/j.scitotenv.2022.157952 (Q1).
3. **Михедова, Е. Е.** Применение биопрепаратов в задачах рекультивации нефтезагрязнений почвенного покрова / Е. Е. Михедова, Т. Н. Абашина // Защита окружающей среды в нефтегазовом комплексе. – 2020. – № 4(295). – С. 10-14. – DOI 10.33285/2411-7013-2020-4(295)-10-14.
4. **Михедова, Е. Е.** Влияние природных адсорбентов на скорость биоремедиации и свойства нефтезагрязненных почв / Е. Е. Михедова // Новые технологии в газовой промышленности (газ, нефть, энергетика) : XIII Всероссийская конференция молодых ученых, специалистов и студентов, 22-25 октября 2019 г. : тезисы докладов. – Москва, 2019. – С. 594-595
5. Сорбционная биоремедиация нефтезагрязненных почв в разных почвенно-климатических условиях Российской Федерации / Васильева Г. К., **Михедова Е. Е.**, Стрижакова Е. Р., Филонов А. Е., Ахметов Л. // VII Пушкинская конференция

"Биохимия, физиология и биосферная роль микроорганизмов". Школа-конференция для молодых ученых, аспирантов и студентов "Генетические технологии в микробиологии и микробное разнообразие", 6-9 декабря 2021 г.: сборник тезисов конференции. – Пущино; Москва: ГЕОС, 2021. – С. 21-23.

На диссертацию и автореферат поступило 14 отзывов. Все отзывы положительные. В отзывах подчеркнута актуальность, оригинальность, научная новизна исследования, его теоретическая и практическая значимость.

Отзывы поступили от: д.б.н., главного научного сотрудника ФГБУН «Пушкинский научный центр биологических исследований Российской академии наук», Института физико-химических и биологических проблем почвоведения Российской академии наук **Башкина В.Н.**; д.б.н., главного научного сотрудника отдела почвенных исследований ФГБУН «Институт биологических проблем криолитозоны Федерального исследовательского центра «Якутский научный центр Сибирского отделения российской академии наук» **Чевычелова А.П.**; д.б.н., профессора, профессора кафедры химии ФГБОУ ВО «Калмыцкий государственный университет им. Б.Б. Городовикова» **Сангаджиевой Л.Х.**

В отзыве д.б.н., профессора, академика Академии наук Республики Башкортостан по спец. Экология, старшего научного сотрудника Центра системных исследований устойчивого развития территорий и качества жизни Сибайского института (филиала) ФГБОУ ВО «Уфимский университет науки и технологий» **Суюндукова Я.Т.** задан вопрос: «Чем объясняется одновременное и достаточно резкое снижение УОМ и уровня фитотоксичности на 3-4 месяцах эксперимента и последующее их увеличение на 5-6 месяцах во всех вариантах (рис. 6)?»

В отзыве д.б.н., профессора, заведующей кафедрой биофизики ФГБОУ ВО «Сибирский федеральный университет» **Кратасюк В.А.** содержится замечание: «В подписях рисункам 18 и 19 отсутствует информация о линиях, изображённых на панелях 1-Е (рис. 18) и В-И (рис. 19)».

В отзыве д.б.н., профессора кафедры земельных ресурсов и оценки почв факультета почвоведения ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова» **Тереховой В.А.** присутствует ряд вопросов: «1. Что послужило основанием для формулировки вывода 1, в котором, в числе прочего,

говорится о биологической природе появления токсичных веществ в нефтезагрязненных почвах (...почвы проявляют повышенную фито- и биотоксичность из-за накопления подвижных и токсичных промежуточных продуктов микробного окисления углеводов, а также низкой буферности...). Не происходило ли накопление токсичных веществ за счет чисто химических процессов взаимодействия нефти с почвенными компонентами неживой природы? Можно ли объяснить показанную в диссертации неэффективность бактериального препарата отдельно и в вариантах добавки его к сорбентам нефти, конкурентной активностью грибов в условиях, больше подходящих для развития микромикробов? Есть ли какие сведения о состоянии микробиоты в исследованных образцах? 3. Не теряет ли смысл частица био- в слове биоремедиация применительно к исследованным почвам и эффективным сорбентам неорганической природы?»

В отзыве к.б.н., заведующего лабораторией экологии микроорганизмов Института проблем промышленной экологии Севера – обособленное подразделение Федерального исследовательского центра «Кольский научный центр Российской академии наук» **Мязина В.А.** имеется ряд вопросов и замечаний: «1. Приведенные в автореферате результаты исследования не дают однозначной оценки тому, какие токсичные компоненты нефти, в каком количестве и где сорбируются. 2. Чем отличаются понятия "смесь сорбентов" и "композитный сорбент"? (стр. 9). 3. Учитывали ли при анализе содержания в почве окисленных производных углеводов вклад соединений, аналитически определяемых как "нефтепродукты", но имеющих природное происхождение, например, растительные остатки в торфе? (стр. 9). 4. Что такое водно-почвенный экстракт? В указанном ПНД ФТ 14.1:2:3:4.12-06 Т 16.1:2:2.3:3.9-06 говорится о водной вытяжке из почвы. В вашем случае это одно и то же? (стр. 9). 5. Моделировался ли каким-либо образом зимний период (низкие температуры) в ходе проведения длительных вегетационных и микрополевых исследований? 6. Чем объясняется использование разных типов почв на этапах исследования? 7. Почему на графиках, описывающих результаты микрополевого опыта (Этап 2), исходная концентрация УВН составляет чуть больше 30 г/кг при исходном внесении 6%, и около 65 г/кг — при внесении 12%? (стр. 12). В то время как в полевом эксперименте (Этап 3) количество внесенной нефти (15%) примерно

соответствует количеству углеводов, определенных методом ИК-спектрометрии — 140 г/кг. 8. Чем можно объяснить увеличение токсичности почвы в вариантах с добавлением сорбента в количество 10% через 6 месяцев после начала полевого эксперимента? Как видно из графиков, содержание ОУВД, которые могут оказывать токсических эффект на растения, достоверно не отличается в вариантах с внесением сорбента в различной дозе (рис. 6, стр. 16). 9. Чем вызвано увеличение численности УОМ через 4-5 месяцев после начала полевого эксперимента (рис. 6, стр. 16)? 10. К умеренно-загрязненным относятся почвы, содержащие менее 5% или более 5% нефти (стр. 18)? 11. В главе Обсуждение результатов предполагается, что «Меньшую скорость разложения УВН в вариантах с внесением АУДТ в комбинации с биопрепаратом предположительно можно объяснить..., а также ускоренным накоплением токсичных метаболитов из-за повышенной способности инокулируемых микроорганизмов разлагать углеводороды нефти». Не противоречат ли выделенные первая и последняя часть предложения (стр. 19)? 12. Чем будет определяться доза внесения композитного сорбента? В каких случаях достаточно минимального соотношения 0.4: 1, а в каких - максимального 1.5 :12 (стр. 20)».

В отзыве к.б.н., доцента, заведующего лабораторией биогеохимии ФГБОУ ВО «Тульский государственный педагогический университет имени Л.Н. Толстова» **Переломова Л.В.** имеются замечания к содержанию автореферата: «Так на странице 8 говорится, что отобран образец глеево-подзолистой почвы. Данная почва использована на 1 этапе экспериментов, поэтому речь идет не об отдельном образце, а об определенном количестве данной почвы. На этой же странице говорится, что апробация метода проводилась на литострате песчаном, но сам метод не указывается. В разделе 2.2. упоминается, что в качестве ростового субстрата использовали пары дизельного топлива. Таким образом, следует понимать, что субстрат находится в газовой фазе?».

В отзыве к.б.н., заведующего кафедрой химии Института естественных и технических наук бюджетного учреждения высшего образования Ханты-Мансийского автономного округа – Югры «Сургутский государственный университет» **Сутормина О.С.** присутствует вопрос: «Какой критерий (снижение интегральной токсичности почвенного образца, уменьшение суммарной концентрации углеводов

нефти или численность углеводород-окисляющих микроорганизмов) использовал автор, как основной для доказательства использования наилучшей формы и оптимальной дозы сорбентов при работе с загрязненными нефтью и нефтепродуктами почвенными образцами?»

В отзыве к.т.н., доцента кафедры гидравлики, гидрологии и управления водными ресурсами ФГБУО ВО «Российский государственный аграрный университет – Московская сельскохозяйственная академия имени К.А. Тимирязева» **Глазуновой И.В.** отмечены некоторые недочеты: «В автореферате объемы сведений, приведенных при описании различных глав, значительно отличаются между собой. В разделе «Выводы» первый абзац не относится к непосредственным исследованиям автора и его можно было бы исключить».

В отзыве к.б.н., старшего научного сотрудник факультета почвоведения ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова» **Ковалевой Е.И** поставлены следующие вопросы: «Контролировалось ли содержание нефтепродуктов в варианте почв без добавления каких-либо ремедиантов в период проведения экспериментов? Изучалось ли изменение состава нефтепродуктов в экспериментах во времени?»

В отзыве к.б.н., старшего научного сотрудника отдела криогенных почв ФГБУН «Федеральный исследовательский центр «Пушинский научный центр биологических исследований Российской академии наук», Института физико-химических и биологических проблем почвоведения Российской академии наук **Лупачева А.В.** присутствует пожелание в дальнейшем провести полноценные полевые эксперименты и более углубленно верифицировать полученные в ходе выполнения диссертационного исследования данные и техническое замечание, касаемое недостаточной информативности подписей к рисункам в автореферате, что затрудняет их анализ.

В отзыве к.б.н., старшего преподавателя кафедры химии почв ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова» **Розановой М.С.** имеются следующие замечание и вопрос: «При описании объектов исследования не указаны глубины отбора проб и горизонты, из которых они были отобраны. Рисунок 3 - с чем связаны такие колебания рН как в вариантах опыта, так и

во времени; в тексте автореферата нет обсуждения причин колебаний pH в вариантах опыта.»

В отзыве к.г.н., доцента, доцента кафедры геоэкологии ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет» **Елсуковой Е.Ю.** имеется следующее замечание: «При прочтении автореферата сложилось впечатление, что в течении трех этапов экспериментов использовались разные типы почв, отличающиеся по степени загрязнения, и вносились разнообразные типы сорбентов, поэтому в отсутствии постоянных условий сложно сравнивать результаты.»

Выбор официальных оппонентов обосновывается их компетентностью в соответствующей отрасли науки, что подтверждается многочисленными публикациями авторов по рассматриваемой в диссертационной работе проблеме.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

установлено, что, минеральные подзолистые почвы Западной Сибири, умеренно загрязненные нефтью, после их очистки классическим методом биоремедиации, несмотря на снижение суммарной концентрации углеводородов до уровня, близкого к ОДК/ПДК, проявляют повышенную фито- и биотоксичность, которая связана с накоплением водорастворимых и токсичных продуктов окисления углеводородов и низкой буферностью минеральных подзолистых почв:

разработан состав композитного сорбента на основе торфа, гранулированного активированного угля и диатомита, который создает условия для активации аборигенных и/или инокулированных в виде биопрепарата микроорганизмов-нефтедеструкторов, что обеспечивает биodeградацию углеводородов нефти;

доказано, что механизм положительного действия разработанного композитного сорбента основан на том, что совместное присутствие торфа и гранулированного активированного угля в его составе позволяет эффективно снижать токсичность сильно загрязненных минеральных почв за счет сорбции токсичных компонентов нефти и их метаболитов, а также за счет поддержания оптимальной влажности почвы в течение всего периода обработки. Кроме того, благодаря наличию зольных элементов Ca и Mg в активированном угле снижается вероятность подкисления почвы, а в присутствии 3-го компонента - диатомита

повышается устойчивость растений к стрессу, что обеспечивает условия для доочистки почвы методом фиторемедиации;

предложен метод *in situ* сорбционной биоремедиации для очистки минеральных почв Западной Сибири, сильно загрязненных нефтью (от 5 до 15%). Метод основан на том, что обработка почв методом биоремедиация проводится на фоне дополнительно внесения разработанного композитного сорбента в дозах $(0,4 \div 1,5):1$ по отношению к исходному уровню нефтяных загрязнителей, что позволяет снизить концентрацию углеводородов в почве до допустимого уровня в течение одного-трех вегетационных сезонов, а также снизить токсичность почвы до минимума.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что на основании изучения механизмов действия сорбентов трех классов на скорость биоремедиации трех типов почв Западной Сибири, умеренно и сильно загрязненных нефтью, были разработаны теоретические и практические основы метода *in situ* сорбционной биоремедиации минеральных почв Западной Сибири, загрязненных углеводородами нефти в пределах от 5 до 15%. Метод основан на том, что при проведении биоремедиации нефтезагрязненных почв на фоне дополнительного внесения оптимальных доз природных (не синтетических) сорбентов (отдельно или в совокупности с биопрепаратом) значительно расширяет возможности биоремедиации для очистки не только умеренно, но и сильно загрязненных почв, в которых концентрация нефти превышает ранее признанный предельный уровень загрязнения для очистки почв биологическим методом – $<5-7\%$. При этом использование разработанного композитного сорбента позволяет наиболее эффективно снижает интегральную токсичность слабогумусированных минеральных почв Западной Сибири и таким образом ускорять достижение допустимого уровня концентраций нефтяных загрязнителей в почве. Полученные результаты в дальнейшем могут быть использованы для создания эффективной и экологичной технологии по устранению последствий аварийных разливов нефти и нефтепродуктов в нефтедобывающих регионах Западной Сибири.

Применительно к проблематике диссертации результативно использован комплекс современных методов, применяемых в биологии:

- двух методов фитотестирования - с помощью разработанного в лаборатории физико-химии почв экспресс-метода по всхожести семян клевера белого, а также сертифицированного метода [ИСО 11269-1] – по показателям роста проростков пшеницы;
- метода биотестирования на гидробионтах – по размножению *Daphnia magna* в водно-почвенном экстракте [ПНД ФТ 14.1:2:3:4.12-06 Т 16.1:2:2.3:3.9-06];
- метода определения численности углеводород-окисляющих микроорганизмов путем посева на селективную агаризованную среду.
- стандартного метода определения суммарной концентрации углеводов нефти с помощью ИК-спектрометрии и дополнительной оценки содержания промежуточных продуктов окисления углеводов
- метода определения дегидрогеназной активности почвы.

Статистическую обработку результатов выполняли с помощью программ MsEXEL и STATISTICA 10. Средние данные, полученные в каждом опытном варианте с сорбентами, сравнивали с контрольным уровнем (без сорбента) с помощью теста Стьюдента и программы STATISTICA 10. Все образцы в модельных и микрополевым экспериментах приготавливали в 3-х повторностях.

В диссертации изложены результаты 3-х этапного исследования на 3-х типах минеральных почв Западной Сибири. Первый эксперимент проведен в условиях вегетационного эксперимента на глеево-подзолистой почве, отобранной вблизи г. Уренгой, в котором изучено влияние 8 натуральных сорбентов 3-х классов на скорость биоремедиации нефтезагрязненных минеральных почв. В результате установлены оптимальные дозы сорбентов и механизмы их влияния на почву. Критерием выбора наилучших условий биоремедиации были не только показатели снижения концентрации углеводородов и их метаболитов, но и показатели интегральной токсичности почв.

На втором этапе, на подзоле иллювиально-железистом, в условиях микрополевого и многофакторных вегетационных экспериментов изучено влияние выявленных оптимальных доз сорбентов и разработан состав наилучшего композитного сорбента, способного существенно расширить возможности биоремедиации нефтезагрязненных минеральных почв Западной Сибири, установлен механизм действия сорбента и определены оптимальные условия проведения сорбционной биоремедиации.

На третьем этапе – на литострате песчаном, в реальных условиях,

приближенных к полевым на территории ЛПДС «Западный Сургут» компании «Транснефть», был апробирован разработанный метод сорбционной биоремедиации, который подтвердил свою эффективность при очистке сильно загрязненной почвы – до 15% нефти.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается следующими фактами:

определены взаимосвязи между фито- и биотоксичностью почв и уровнем накопления промежуточных продуктов окисления углеводородов в присутствии разных доз натуральных сорбентов;

представлены доказательства того, что в присутствии сорбентов частично снижается доступность углеводородов нефти и образующихся токсичных метаболитов, однако они остаются доступными для дальнейшего микробного разложения, в результате чего происходит постепенное разложение поллютантов и снижение их остаточной концентрации до уровня, не превышающего предельно допустимую концентрацию углеводородов в почве. При этом интегральная токсичность почв снижается до минимума, который обеспечивает благоприятные условия для размножения углеводород-окисляющих микроорганизмов и роста растений.

Оценка достоверности результатов исследования выявила воспроизводимость результатов исследования фито и биотоксичности почв, а также изменения суммарного содержания углеводородов нефти и их промежуточных продуктов окисления с использованием современных методов статистической обработки данных.

Личный вклад соискателя заключается в написании диссертации по итогам исследований в период с 2019 по 2023 гг. Соискатель лично выполняла эксперименты и лабораторно-аналитические работы. Собственноручно проводила закладку всех экспериментальных исследований, как на базе ИФХиБПП РАН, так и выезжая в регион ХМАО, г. Сургут. Тема, цель, задачи, объекты, методы и программа работ были подготовлены соискателем совместно с научным руководителем. Обобщение и анализ полученных результатов в ходе исследований, формулировка основных защищаемых положений, выводов, публикация работ по основным результатам выполнялись под руководством и направлением научного руководителя.

На заседании 23 ноября 2023 года диссертационный совет отметил, что рассматриваемая диссертация соответствует критериям раздела 2 «Положения о присуждении ученых степеней в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Южный федеральный университет» и принял решение присудить Михедовой Е.Е. ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного онлайн-голосования диссертационный совет в количестве 12 человек, из них 8 докторов наук по специальности 1.5.15. Экология (биологические науки), участвовавших в заседании, из 16 человек, входящих в состав совета, дополнительно введены на разовую защиту 0 человек, проголосовали: за – 12, против – нет, недействительных бюллетеней – нет.

Председатель
диссертационного совета



Казеев К. Ш.

Ученый
секретарь диссертационного совета



Тимошенко А. Н

23.11.2023

