

## Отзыв

на диссертационную работу Иванова Павла Владиславовича «Изменение состава, строения и свойств дисперсных грунтов при активизации их природного микробного комплекса», представленную на соискание степени кандидата геолого-минералогических наук по специальности 25.00.08 «Инженерная геология, мерзлотоведение и грунтоведение»

Диссертационная работа Иванова П.В. посвящена исследованию влияния микроорганизмов на структурные особенности разного рода грунтов, их прочностные и деформационные свойства, а также составлению практических рекомендаций по наблюдению за качеством грунтов на объектах, подверженных антропогенному загрязнению, с целью обеспечения безопасной эксплуатации сооружений.

**Актуальность темы диссертации.** В современном мире антропогенное влияние на окружающую среду имеет все большее и большее значение. Возрастает количество выбрасываемых загрязняющих веществ, которые аккумулируются грунтами, повышается температура воздуха, особенно в приземных слоях атмосферы, сокращается доля растительности. Все это непосредственно влияет на микрофлору грунтов, которая очень быстро откликается на изменения условий окружающей среды и не всегда положительным образом. Наиболее явно активные микробиологические процессы проявляются в городах, вблизи автодорожных магистралей, свалок твердых бытовых отходов, в очистных сооружениях, а также таких крупных строительных объектах как, например, ТЭЦ, ГЭС и др.

В настоящее время микробиологи активно изучают влияние микроорганизмов на трансформацию глинистых минералов почв, возможности биологической очистки грунтов от различного рода загрязнителей, закрепление грунтов биопленками и защитой их от эрозионных процессов. Однако работ по изучению влияния микроорганизмов на грунты с точки зрения инженерной геологии недостаточно, несмотря на то, что эта область науки непосредственно связана с обеспечением безопасной эксплуатации различного рода строительных сооружений. В связи с этим, данная диссертационная работа представляется весьма **актуальной**.

**Достоверность полученных результатов.** Образцы дисперсных и аллювиальных грунтов, на основе которых построена работа и сделаны выводы, отобраны период с 2011 по 2013 гг. Исследования проводились на образцах дисперсных грунтов, отобранных на территории г. Москвы и ближайшего Подмосковья, а также в г. Пермь (Камская ГЭС). Грунты были сгруппированы в 5 групп: 1) природные песчаные морские грунты мелового возраста и флювиогляциальные грунты четвертичного возраста; 2) природные глинистые грунты, не измененные техногенным воздействием, с повышенным содержанием органического вещества – аллювиальный верхнеплейстоценовый суглинок и морская глина юрского возраста; 3) природные аллювиальные глинистые грунты четвертичного возраста, находящиеся в условиях техногенной нагрузки, отобранные в основании грунтовых плотин Камской ГЭС в г. Пермь; 4) техногенные песчаные грунты культурного слоя и перемещенные насыпные суглинки; 5) мономинеральные «модельные» глинистые грунты каолинитового и бентонитового составов. Всего изучено 13 грунтов.

В работе использованы фондовые материалы ООО «ИНЖЭКО Центр», ООО «СК КРЕАЛ» и ООО «Карбон», а также курсовой работы А.А. Синкина факультета Почвоведения МГУ.

В лабораторных исследованиях применялись современные методы анализа как микробиологические, так и методы изучения состава, строения и свойств грунтов. Для анализа активности и численности микроорганизмов применялся метод газовой хроматографии, прямого подсчета с помощью люминесцентной микроскопии и метод *in situ*-гибридизации с рРНК-специфичными флуоресцентно-мечеными олигонуклеотидными зондами (FISH – fluorescent in situ hybridization). Оценка изменений



минерального состава грунтов выполнена методом рентгеновской дифрактометрии на приборе Rigaku Ultima IV. Оценка изменения микростроения грунтов выполнена с помощью рентгеновского компьютерного микротомографа Yamato TDM-1000H-II и растрового электронного микроскопа LEO 1450VP. Анализ прочности (временного сопротивления одноосному сжатию) образцов грунтов проведен с помощью прессы МП-2с, прочности песчаных грунтов на сдвиг – на автоматизированной системе АСИС «Геотек», определение деформационных свойств выполнено компрессионным методом в одометре ЦНИИ МПС. Обработка данных велась с помощью прикладных компьютерных программ Microsoft Excel 2010, Statistica. Кроме того, работа выполнялась с учетом ГОСТ 12248-2010, ГОСТ 12536-79 и ГОСТ 5180-84.

Сопоставление оригинальных данных автора с результатами, опубликованными в научной литературе, не противоречат общепринятым, что позволяет считать выводы, сделанные в работе, **достоверными и правомочными**.

**Оценка содержания диссертации.** Диссертация состоит из введения, 5 глав с разделами и подразделами, выводов и 7 приложений, изложенных на 187 страницах текста, содержит 78 рисунков, 23 таблицы и список литературы из 142 наименований, из которых 41 на иностранном языке, 16 электронных Интернет-ресурсов общего доступа, 5 фондовых. Каждая глава заканчивается выводами.

Во Введении обосновывается актуальность работы, сформулированы цели и задачи, определены научная новизна, защищаемые положения и практическая значимость.

Первая глава описывает условия существования и виды микроорганизмов в грунтах, а также их влияние на трансформацию грунтов и возможности применения в инженерной геологии. Здесь подробно описаны различные группы микроорганизмов: бактерии, грибы, актиномицеты. Сделан вывод о закономерностях изменения численности микроорганизмов в различных местах обитания. Так, в среднем значения численности в практически любых дисперсных грунтах составляют порядка  $10^6$ - $10^8$  КОЕ/г. Описано влияние микроорганизмов на состав грунтов, где справедливо отмечено, что, в основном, работы в этой области ведутся на основе модельных экспериментов, в то время как данные по взаимодействию природных микробных комплексов с природными полиминеральными грунтами представлены мало. Описано влияние микроорганизмов на строение грунтов. На основе литературных данных автором делается вывод о том, что в грунтах, подверженных влиянию микроорганизмов, существенно изменяется структура и геометрия порового пространства, а также отмечается цементация частиц. Происходит механическое спутывание, в основном, за счет мицелия микроорганизмов, а также агрегация грунтов за счет адгезии клеток бактерий. Однако не вполне ясна направленность и интенсивность процессов структурообразования при активизации природного микробного комплекса различных дисперсных грунтов. Далее соискателем рассматривается влияние микроорганизмов на свойства грунтов, где отмечена недостаточность литературных данных по оценке влияния микробиоты на прочностные и деформационные свойства грунтов. Изложены интересные данные В.В. Радиной о влиянии биогазов на механические свойства грунтов. Описано как положительное, так и отрицательное влияние биопленок на грунты. Далее рассматривается активизация микробиологических процессов при антропогенном воздействии на грунты. Показано, что внесение в грунт простых и сложных сахаров увеличивает активность микробиоты в целом, тогда как внесение в грунты загрязняющих веществ (пестициды, нефтепродукты, канализационные стоки и др.) активизирует лишь отдельные группы микроорганизмов. Интересно изложена история наблюдений за влиянием микрофлоры на грунтовые плотины Камской ГЭС, проводившиеся в различные периоды с 1974 по 2013 гг. В целом, на основе литературных данных автор делает вывод о том, что активизация микробиологических процессов приводит к преобразованию состава, строения и свойств грунтов, что может негативно сказаться на безопасности эксплуатации инженерных сооружений и других объектов. Логичным продолжением главы является оценка перспектив использования микробиологических процессов в инженерно-хозяйственной деятельности, где показано, что большинство имеющихся на сегодняшний день



исследований на этот счет уделяет внимание лишь «целевому» свойству или параметру грунта, не обращая внимания на возможные изменения всех характеристик состава, строения и свойств грунтов. Кроме того, ко всем подразделам главы подобран хороший и наглядный иллюстрационный материал. **Таким образом, проведенный Ивановым П.В. анализ литературных данных представляет научный и практический интерес и обосновывает цель и задачи работы.**

Во второй главе отражены методологические подходы автора к изучению состава, строения и свойств грунтов и их микробного комплекса. Используются как классические, так и современные – молекулярные – методы микробиологии. Подробно описаны методы инженерно-геологических исследований. На основании литературных данных показано, что доступность глюкозы для микробного комплекса грунта, а также ее полное потребление микроорганизмами, позволяют рассматривать данное вещество как «модельный» загрязнитель. **Считаю это обоснованием выбора глюкозы в качестве активирующего агента микрофлоры в грунтах.** Ведь глюкоза может выделяться при разложении любых веществ в ходе биохимических реакций и являться одним из конечных продуктов, который будет доступен микроорганизмам. В целом, методология работы отражена полностью.

В третьей главе автор дает характеристику объектов исследования. Исследования проводились на образцах дисперсных грунтов, типичных и важных с точки зрения инженерно-хозяйственной деятельности, различного генезиса, возраста, условий залегания, состава и дисперсности. География отбора образцов достаточно обширна. Здесь и строительные площадки на территории г. Москвы и ближайшего Подмосковья, и уже известные из литературного обзора данной диссертационной работы аллювиальные грунты из основания грунтовых плотин Камской ГЭС. Кроме того, автором были рассмотрены природные образцы грунтов – это монолит аллювиального суглинка (Звенигородской биостанции МГУ), глина юрского возраста, мономинеральная бентонитовая глина, мономинеральная каолиновая глина из коллекции кафедры инженерной и экологической геологии. Для всех исследованных 13 образцов в тексте диссертационной работы дана подробная таблица. Каждому образцу автор дал исчерпывающую характеристику, включающую в себя историческую справку, географическую привязку, минеральный, гранулометрический и химический составы. В качестве модельных глинистых грунтов в работе использовались бентонитовые глины и каолинит. Однако из-за малого количества образцов и недоступности архивных данных, строение и свойства их не рассматривались. **Несмотря на это, выбор образцов и полнота их описания соответствуют целям и задачам данной работы.**

Вторая часть главы посвящена характеристике микробного комплекса исследуемых грунтов. Приведены данные по численности различных групп микроорганизмов: грибов, бактерий и актиномицетов. Согласно распределению биомассы по типам микроорганизмов в изученных грунтах наибольшая их численность содержится в песке пылеватом («Новодевичий») и суглинке легком пылеватом (Звенигородская биостанция МГУ), наименьшая численность в контрольных образцах бентонитовой и каолиновой глины. Отдельно дана подробная характеристика микробного комплекса природных грунтов основания плотин Камской ГЭС с использованием накопительных культур. **В целом, работа по исследованию микрофлоры грунтов проведена на хорошем уровне, дана исчерпывающая характеристика групп микроорганизмов, что делает исследование Иванова П.В. глубоким и обоснованным с точки зрения микробиологии.**

В четвертой главе дано описание трансформации микробного комплекса грунтов в ходе сукцессии, инициированной внесением в образцы раствора глюкозы. Показано, что привнесение в грунт раствора глюкозы вызывает активизацию микробного комплекса и прирост биомассы. Однако на последних стадиях сукцессии после исчерпания глюкозы в качестве источника питания наблюдается деградация микробного сообщества. Кинетика процесса является схожей во всех изученных грунтах, однако, особенности их состава и строения и состояния определяют специфику сукцессии в каждом образце. Измерение



активности дыхания микроорганизмов (эмиссии углекислого газа) в ходе сукцессии показало, что отличия в кинетике эмиссии углекислого газа для техногенных и природных грунтов следует связывать с различным содержанием органического вещества и условиями их залегания. **Анализ изменения биомассы микробного комплекса позволил сделать логичный вывод о первом защищаемом положении:** резком возрастании активности микробного комплекса и увеличения его биомассы с максимумом на 7 сутки при внесении в грунт раствора глюкозы, с последующим спадом активности и численности и формированием стабильного микробного комплекса с показателями в 1,5-5 раз выше, чем у исходного грунта, что объясняется равновесием процессов продукции и деструкции органического вещества. Кроме того, показано, что наличие природной органики в грунте замедляет активацию микробного комплекса глюкозой.

В пятой главе автор закономерно приходит к оценке влияния активизации микробного комплекса грунтов на их состав, строение и свойства. **Анализ изменения химико-минерального состава грунтов в ходе микробной сукцессии, инициированной глюкозой, позволил вывести второе защищаемое положение,** что при активизации природного микробного комплекса происходит изменение химико-минерального состава грунтов. Также в этой главе автором введены такие понятия как «биогенные» и «биогенно обусловленные» структурные связи и дано логичное и исчерпывающее определение данных терминов. Кроме того, показано, что в грунтах с высокой микробиологической активностью идут не только процессы образования вышеуказанных связей, но и разрушение существующих структурных связей непосредственно за счет клеток микроорганизмов и побочных продуктов метаболизма. При помощи растровой электронной микроскопии (РЭМ) даны прекрасные иллюстрации обрастания частиц грунта нитями микроорганизмов, а также их адгезия. **Все это составляет основы третьего защищаемого автором положения,** что при максимальной микробной активности в грунтах формируются биогенные и биогенно обусловленные структурные связи за счет адгезии клеток, механического спутывания частиц грунта клетками и колониями клеток и взаимодействия продуктов метаболизма с твердым компонентом грунта, формируются крупные агрегаты, которые частично распадаются при уменьшении активности микроорганизмов.

Обработка грунтов накопительными культурами микроорганизмов показала, что во всех исследованных образцах величина угла внутреннего трения грунтов обратно пропорциональна степени активности микроорганизмов. Интересным также представляется тот факт, что прочность биогенных контактов на 20-30 % ниже, чем абиогенных в аналогичных образцах без микроорганизмов.

**При суммировании полученных автором результатов обоснованно выведено четвертое защищаемое положение,** говорящее о том, что частичное замещение исходных абиогенных контактов биогенными и биогенно обусловленными на этапе максимальной активности микробного комплекса приводит к увеличению сцепления и снижению трения в несвязных грунтах, а также к уменьшению прочности на одноосное сжатие связных грунтов; дальнейшее преобразование состава и структуры грунта, связанное со спадом микробной активности, обуславливает снижение сцепления, увеличение угла внутреннего трения и прочности грунтов на одноосное сжатие.

**Таким образом, Иванов П.В. логично и обосновано доказал все защищаемые положения своей диссертационной работы, а также снабдил их достоверными данными и наглядными фотографиями, таблицами, схемами и графиками.**

**На основе полученных данных автором даны практические рекомендации по системе наблюдений на площадках инженерных сооружений, в основании которых возможно загрязнение грунтов органическими веществами (заводы и фабрики, гидроэлектростанции, канализационные коммуникации и т.п.), что обеспечит безопасную эксплуатацию различного рода инженерных сооружений.**

В Заключении сделаны основные выводы из проделанной работы. Приводится перечень задач, которые решены в рецензируемой работе и сделаны логические практические рекомендации.



**В целом, текст диссертации изложен грамотно и структурировано, снабжен всеми необходимыми иллюстрациями, что производит приятное впечатление от проделанной работы.**

**Научная и практическая значимость диссертации.**

1. Экспериментально установлено явление активизации природного микробного комплекса природных и техногенных грунтов геологического разреза г. Москвы с максимумом на 7 сутки после однократного внесения питательного вещества – раствора глюкозы, – и формирования стабильного (остаточного) микробного комплекса после 15-21 суток эксперимента.

2. Экспериментально установлены преобразование смешанослойных глинистых минералов иллит-сметитового состава и разрушение карбонатов при однократной активизации микробного комплекса грунтов, обусловленное прямым (потребление микроорганизмами биофильных элементов) и косвенным (за счет продуктов метаболизма, в том числе, углекислого газа) воздействиями микробиоты.

3. Введено понятие «биогенно обусловленные структурные связи» в грунтах, отражающее контакты химической и физико-химической природы между твердыми структурными элементами, образующиеся за счет продуктов метаболизма микроорганизмов и их взаимодействия с компонентами системы. Уточнено понятие «биогенные структурные связи», описывающее связи, образующиеся при непосредственном участии живых клеток, изучена их морфология и оценена прочность.

4. На основе сукцессионного подхода к оценке влияния микробиологических процессов на характеристики грунтов установлены явления агрегации структурных элементов грунта в крупные агрегаты, а также снижение показателей прочностных и деформационных свойств в момент максимальной микробной активности и частичное восстановление показателей строения и свойств грунтов при снижении микробной активности.

5. Предложены рекомендации по комплексу наблюдений на объектах, подверженных загрязнению различными органическими веществами, активизирующими микробную составляющую грунтов (канализационными стоками, нефтепродуктами, полисахаридами и т.п.), для обеспечения безопасной эксплуатации сооружений.

6. Получены данные по активизации природного микробного комплекса различных дисперсных грунтов и их влиянию на показатели состава, строения и свойств грунтов, которые могут быть использованы в рамках практических и теоретических учебных курсов на кафедре инженерной и экологической геологии.

**Соответствие содержания автореферата основным положениям диссертации**

Автореферат соответствует содержанию работы, а 12 публикаций, 4 из которых опубликованы в журналах, рекомендованных ВАК РФ, 1 статья в научном журнале и 7 статей в сборниках и тезисов докладов, отражают ее важнейшие положения.

**Критические замечания, пожелания и рекомендации, относящиеся к диссертационной работе**

1. В подзаголовке 1.1. диссертационной работы сказано о том, что размеры микроорганизмов составляют 3-5 микрон. Данное утверждение требует дополнения, что это «усредненные» показатели, т.к. размеры микроорганизмов варьируют от 0,1 до 100 и более мкм.

2. В подзаголовке 1.1. дается описание групп микроорганизмов: бактерий, грибов и актиномицетов. Однако в дальнейшей работе заходит речь о влиянии цианобактериальных сообществ на преобразование глинистых минералов. В связи с этим, представляется целесообразным описать в данном подпункте цианобактерии наряду с другими микроорганизмами.

3. На рисунке 27 показано изменение общей биомассы природных микробных комплексов образцов с глубиной. Можно ли считать, что значения биомасс для глубин 5, 20, 25 и 35 м одинаковы? С чем может быть связан тот факт, что биомасса на глубине 35 м сопоставима с величиной биомассы на глубине 5 м?



6. В продолжение работы хотелось бы пожелать автору изучить влияние естественных антропогенных загрязнителей (сточные воды, пестициды, нефтепродукты и пр.) на изменение свойств грунтов, чтобы максимально приблизить полученные результаты к естественным условиям окружающей среды. Возможно, в данных опытах будут выявлены новые закономерности по влиянию микрофлоры на технические характеристики грунтов и уточнены предлагаемые диссертантом практические рекомендации.

Кандидат биологических наук  
научный сотрудник Лаборатории  
реликтовых микробных сообществ  
Института микробиологии  
ФИЦ «Биотехнологии» РАН

Организация: Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского Федеральное государственное учреждение Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук

