

УТВЕРЖДАЮ:

Директор «ИЭГМ УрО РАН»,

д.м.н., профессор, чл.-корр. РАН

В.А. Демаков



23 марта 2020 г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

«Института экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук» – филиала Федерального государственного бюджетного учреждения науки Пермского федерального исследовательского центра Уральского отделения Российской академии наук

Диссертация Ворониной Анны Олеговны «Разнообразие и молекулярно-биологическая характеристика бактерий-деструкторов бифенила (хлорированных бифенилов) техногенных экосистем» выполнена в лаборатории молекулярной микробиологии и биотехнологии «ИЭГМ УрО РАН».

Научный руководитель – Плотникова Елена Генриховна, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной микробиологии и биотехнологии «ИЭГМ УрО РАН».

В 2014 г. Анна Олеговна окончила Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Пермский государственный национальный исследовательский университет» по специальности «Биология».

В период подготовки диссертационной работы соискатель являлась очным аспирантом «ИЭГМ УрО РАН».

Диплом об окончании аспирантуры выдан в 2018 г. «ИЭГМ УрО РАН».

По итогам обсуждения принято следующее заключение:

1. Актуальность проблемы. Проблема загрязнения биосферы трудноразлагаемыми токсичными органическими соединениями, поступающими в окружающую среду в результате работы промышленных предприятий, на сегодняшний день остается актуальной и привлекает внимание исследователей, занимающихся вопросами экологии. К трудноразлагаемым токсичным органическим поллютантам относятся бифенил и его хлорированные производные – полихлорированные бифенилы (ПХБ). Бифенил, являясь компонентом нефти, каменного угля и природного газа, вызывает масштабное загрязнение окружающей среды, а также широко используется в химической промышленности для синтеза многих органических соединений. ПХБ отнесены Программой ООН по окружающей среде (ЮНЕП) к группе стойких органических загрязнителей. Благодаря исключительной устойчивости к физическим и химическим воздействиям в XX веке ПХБ широко использовались в различных отраслях промышленности (в составе лакокрасочных, изоляционных изделий и др.). Несмотря на запрет промышленного выпуска и использования ПХБ (Стокгольмская конвенция, 2001 г.), до сих пор остается актуальной проблема их утилизации и восстановления загрязненных территорий. Следует отметить, что бифенил и ПХБ негативно влияют на здоровье человека, в частности на иммунную, нервную, репродуктивную, эндокринную системы. В последние годы все более интенсивно разрабатываются и внедряются новые технологии для детоксикации и очистки загрязненной окружающей среды с использованием биологического потенциала микроорганизмов. Поиск и изучение перспективных, с точки зрения биотехнологии, активных бактерий-деструкторов, направленных на

восстановление и мониторинг загрязненных территорий (в т.ч. бифенилом/ПХБ), является актуальной темой.

Как правило, деструкция бифенила/ПХБ у бактерий осуществляется до пентадиеновой и (хлор)бензойной кислот в четыре этапа. Первый этап происходит под действием бифенил 2,3-диоксигеназы (БДО) – ключевого фермента деструкции бифенила/ПХБ, ответственного за распознавание и связывание субстрата. Таким образом, изучение разнообразия ключевых генов деструкции бифенила/ПХБ (*bphA1*-генов, кодирующих БДО) в микробных сообществах техногеннозагрязненных экосистем является приоритетной задачей при исследовании бактериального деградационного потенциала.

Диссертационная работа выполнена в лаборатории молекулярной микробиологии и биотехнологии в соответствии с планом НИР «ИЭГМ УрО РАН» и является частью исследований, проводимых по теме «Молекулярные механизмы адаптации микроорганизмов к факторам среды» (Регистрационный номер НИОКТР АААА-А19-119112290009-1). Исследования поддержаны проектом Президиума РАН «Молекулярная и клеточная биология» (номер гос. Регистрации в ЦИТиС №01200963682), грантом РФФИ-Урал №16-44-590968-р_урал_а, Региональным конкурсом инновационных проектов по программе «УМНИК», Пермь, 2017.

2. Личное участие соискателя в получении результатов, изложенных в диссертационной работе. При выполнении диссертационной работы Воронина А.О. проявила себя как ответственный и грамотный специалист, способный самостоятельно планировать и проводить научные исследования, критически анализировать полученные результаты. Требования п. 14 Постановления Правительства РФ от 24.09.2013 № 842 (ред. от 01.10.2018) «О порядке присуждения ученых степеней» выполнены, соискатель лично участвовала в получении результатов работы, а также в подготовке публикаций и их представлении на научных конференциях.

3. Степень достоверности результатов проведенных исследований.

Проверка первичной документации комиссией, созданной по приказу директора «ИЭГМ УрО РАН» В.А. Демакова №1252/03-1 от 02.03.2020 г. в составе председателя, в.н.с. лаборатории алканотрофных микроорганизмов, д.б.н. Куюкиной М.С. и членов комиссии с.н.с. лаборатории водной микробиологии, к.б.н. Соломенного А.П., н.с. лаборатории адаптации микроорганизмов, к.б.н. Аховой А.В., показала, что она полностью соответствует материалам исследований, представлена в полном объеме и признана достоверным материалом, который соответствует выполненной работе. Результаты получены на сертифицированном оборудовании, обработаны с помощью лицензионных программ и современных методов статистического анализа, используемые в исследовании методики корректны. С материалами проведенных исследований и достоверностью полученных результатов, подтвержденных статистической обработкой, были ознакомлены рецензенты работы. Выводы диссертационной работы обоснованы и согласуются с полученными результатами.

4. Новизна и практическая значимость диссертации. Впервые в микробных сообществах загрязненных почв, грунтов, водоемов и отходов соледобывающих производств, отобранных на территориях ряда географически удаленных регионов Российской Федерации (Чукотский автономный округ, Пермский край, Самарская область, Республика Крым) изучено разнообразие *bphA1*-генов, детерминирующих начальный этап разложение токсичных органических соединений – бифенила, полихлорированных бифенилов. В бифенил-деградирующих микробных сообществах загрязненных экотопов выявлены *bphA1*-гены, имеющие сходство на уровне 99–100% с гомологичными генами культивируемых активных деструкторов бифенила/ПХБ и “некультивируемых” бактерий. В исследуемых микробных сообществах (Чукотский автономный округ, Пермский край) выявлены новые “*bphA1*-гены”, имеющие низкий процент сходства (на уровне 68,9–90,3%) с известными диоксигеназами,

гидроксимирующими бензольное кольцо ароматических соединений. Выделены и охарактеризованы новые активные бактерии-деструкторы бифенила рода *Pseudomonas* и рода *Rhodococcus*, способные эффективно разлагать моно(ди)хлорированные бифенилы и осуществлять окисление как *орто*-, так и *пара*-хлорированных колец 2,4'-дихлорбифенила. В штаммах-деструкторах бифенила/ПХБ обнаружены плазмиды большого размера (от 280 до 650 т.п.н.) и *bphA1*-гены, гомологичные (уровень сходства 89,8-100%) таковым известных бактерий-деструкторов ПХБ.

Клонированные нуклеотидные последовательности *bphA1*-генов, а также последовательности генов 16S рРНК и *bphA1*-генов новых штаммов-деструкторов депонированы в общедоступную международную базу данных GenBank. Изолированные и охарактеризованные бактерии-деструкторы родов *Rhodococcus* и *Pseudomonas* могут быть использованы при создании биотехнологий, направленных на мониторинг и восстановление загрязненных (хлор)ароматическими соединениями территорий.

5. Ценность научных работ соискателя. Исследование бактериальных генов (*bphA1*), ответственных за разложение токсичных (хлор)ароматических соединений – бифенила, полихлорированных бифенилов, выявленных на территориях ряда географически удаленных промышленных регионов РФ, и полученные новые данные о разнообразии *bphA1*-генов, расширяют представление о микробиологическом составе техногеннозагрязненных экотопов и важной роли “некультивируемых” бактерий в деградации моно(поли)ароматических соединений и их хлорпроизводных. Результаты исследования также позволяют оценить вклад бактерий-деструкторов родов *Pseudomonas* и *Rhodococcus* в процесс разложения (хлор)ароматических соединений, в том числе бифенила и ПХБ, и восстановления загрязненных территорий РФ.

6. Специальность, которой соответствует диссертация. Диссертационная работа соответствует п. 3 «Морфология, физиология,

биохимия и генетика микроорганизмов» паспорта специальности 03.02.03 «Микробиология», отрасль наук – биологические науки.

7. Полнота изложения материалов диссертации в работах, опубликованных соискателем. Основной объем диссертационной работы представлен в 16 печатных научных работах, в том числе 4 статьи в журналах из списка ВАК, входящие в национальную библиографическую базу данных научного цитирования РИНЦ, из них 2 в изданиях, входящих в международные системы научного цитирования WoS и Scopus. Материалы диссертации были представлены на 17-ой, Международной Пущинской школе-конференции молодых ученых «Биология – наука XXI века», Пущино, 2013; II Всероссийской школе-конференции молодых ученых «Современные проблемы микробиологии, иммунологии и биотехнологии», Пермь, 2015; Всероссийской научно-практической с международным участием конференции «Наукоемкие биомедицинские технологии: от фундаментальных исследований до внедрения», Пермь, 2016; X Всероссийском с международным участием конгрессе студентов и аспирантов-биологов «Симбиоз – Россия», Казань, 2017; Региональном конкурсе инновационных проектов по программе «УМНИК», Пермь, 2017.

Публикации в изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ:

1. Шумкова, Е.С. Разнообразие ключевых генов деструкции бифенила в микробном сообществе прибрежных донных отложений Анадырского залива / Е.С. Шумкова, А.О. Воронина, Н.В. Кузнецова, Е.Г. Плотникова // Генетика. – 2015. – Т. 51, № 7. – С. 841–846.
2. Ястребова, О.В. Микробное сообщество техногеннозагрязненного грунта района солеразработок (г. Березники) / О.В. Ястребова, А.О. Воронина, Л.Н. Ананьина, Е.С. Корсакова, Е.Г. Плотникова // Вестник Пермского университета. Серия: Биология. – 2018. – №. 2. – С. 188-194.
3. Воронина, А.О. Разнообразие *bphA1*-генов в микробном сообществе техногеннозагрязненной почвы и выделение новых бактерий рода *Pseudomonas* – деструкторов бифенила/хлорбифенилов / А.О. Воронина, Д.О.

Егорова, Е.С. Корсакова, Е.Г. Плотникова // Микробиология. – 2019. – Т. 88, №. 4. – С. 438-449.

4. Воронина, А.О. Деструктор бифенила *Rhodococcus* sp. VR43-1: выделение, молекулярно-биологическая характеристика / А.О. Воронина, Е.Г. Плотникова // Вестник Пермского университета. Серия: Биология. – 2019. – №. 1. – С. 48-55.

Диссертация Ворониной Анны Олеговны «Разнообразие и молекулярно-биологическая характеристика бактерий-деструкторов бифенила (хлорированных бифенилов) техногенных экосистем» рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.03 «Микробиология».

Заключение принято на заседании Проблемной комиссии «ИЭГМ УрО РАН» по специальности 03.02.03 «Микробиология».

Присутствовало на заседании 12 человек из 15 списочного состава комиссии. Результаты голосования «за» – 12 человек (единогласно), «против» – 0 человек, «воздержались» – 0 человек, протокол от № 1 от «18» марта 2020 г.

к.б.н., ученый секретарь

«ИЭГМ УрО РАН»



Козлов Сергей Васильевич



"ИЭГМ УрО РАН"	
Подпись	<u>С.В. Козлов</u>
заверяю	<u>[подпись]</u>
главный специалист по кадрам М.В. Корепанова	