

Отзыв

официального оппонента

доктора биологических наук Коршуновой Татьяны Юрьевны,

на диссертационную работу Кирияновой Татьяны Денисовны

«Функционально-генетическая характеристика бактерий-деструкторов хлор- и гидроксизамещенных бифенилов и их биотехнологический потенциал»,

представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук

по специальности 1.5.11. «Микробиология»

Актуальность темы исследования. Бифенил и его хлорированные производные (полихлорированные бифенилы (ПХБ)) широко использовались во всем мире благодаря своим уникальными химическими и физическими свойствам, что привело к накоплению их значительных запасов. Данные соединения принадлежат к числу наиболее распространенных загрязнителей биосферы. Они слабо подвержены абиотическому разрушению и аккумулируются в экосистемах, а их наличие в организме животных и человека приводит к различным заболеваниям, в том числе онкологическим. Наиболее перспективным методом очистки окружающей среды от указанных ксенобиотиков и их гидроксированных производных (НО-ПХБ), которые признаны вторичными поллютантами, является микробное разложение. Для полной минерализации ПХБ и НО-ПХБ необходимы высокоэффективные микроорганизмы-биодеструкторы, при этом важную роль в процессе деградации играет фермент бифенил 2,3-диоксигеназа (BphA). Моделирование ее структуры позволяет более точно предсказать активность фермента и направленность действия на разные типы ПХБ, что открывает возможности для его модификации и создания штаммов бактерий с высоким биоремедиационным потенциалом. Полученные результаты могут служить основой для разработки биотехнологий очистки и восстановления почв и донных отложений, загрязненных ПХБ и уничтожения их имеющихся запасов.

Все вышеперечисленное обуславливает актуальность диссертационного исследования Кирияновой Т.Д., целью которого было исследование сообществ аэробных бактерий, сформировавшихся под селективным воздействием бифенила и ПХБ, а также оценка функционально-генетического потенциала штаммов-деструкторов хлор- и гидроксизамещенных бифенилов.

Научная новизна диссертационного исследования заключается в следующем:

- получены новые сведения о сукцессионных процессах, протекающих в бактериальных сообществах, выделенных из антропогенно загрязненных почв г. Перми и г. Чапаевска, при воздействии коммерческой смеси ПХБ марки Совол и незамещенного бифенила. Установлено,

что в составе сообществ, сформировавшихся под действием Совола, присутствуют представители классов *Alphaproteobacteria*, *Betaproteobacteria*, *Gammaproteobacteria* и *Chitinophagia*. Давление бифенила привело к снижению биоразнообразия в бактериальных ассоциациях, а штаммы-деструкторы бифенила, выделенные из них, принадлежат классам *Alphaproteobacteria*, *Betaproteobacteria*, *Gammaproteobacteria* и *Actinomycetia*. При этом, способность к разложению бифенила для представителей родов *Bosea* (класс *Alphaproteobacteria*) и *Pseudoxanthomonas* (класс *Gammaproteobacteria*) описана впервые;

- установлено, что эффективность деструкции (моно-тетра)-замещенных хлор/гидроксибифенилов, а также их коммерческих и экспериментальных смесей исследованными штаммами составляла 7-100%. Трансформация субстратов осуществлялась по классическому метаболическому пути окисления бифенила, через образование гидроксилированных производных и хлор-/гидроксибензойных кислот;

- показано, что генетические детерминанты (ген *bphA1*), обуславливающие первичную атаку на молекулу замещенного бифенила у штаммов, выделенных из ассоциаций PN2-S и PN2-B, формируют отдельную ветвь на филогенетическом дереве, а уровень их сходства с генами *bphA1* у описанных в литературе штаммов составил 82,3-99,8%;

- впервые проведен полногеномный анализ штамма *Rhodococcus opacus* CH628 (VKM Ac-3029) – активного биодеструктора хлорированных и гидроксилированных бифенилов, а также их коммерческих и экспериментальных смесей. Выявлены гены/ферменты, участвующие в окислении бифенила и его производных. Разработаны и проанализированы три модели α -субъединицы бифенил 2,3-диоксигеназы (*BphA1*) штамма *R. opacus* CH628.

Теоретическое и практическое значение работы. Выполненное исследование расширяет современные научные представления о микробной деструкции хлор- и гидрокси-замещенных бифенилов и вносит вклад в развитие экологически ориентированных биотехнологий. Проведен комплексный анализ функционально-генетических особенностей новых штаммов-деструкторов и экспериментально обоснована их деградирующая активность по отношению к хлорированным и гидроксилированным бифенилам. Наиболее перспективные для практического применения в задачах биоремедиации штаммы *Achromobacter* sp. PNB6, *Brevibacterium* sp. PNB5, *Micrococcus* sp. PNS1, *Ochrobactrum* sp. PNS5, *Rhodococcus opacus* CH628, *Stenotrophomonas* sp. PNS6 депонированы во Всероссийскую коллекцию микроорганизмов под номерами В-3791, Ас-3018, Ас-3022, В-3792, Ас-3029 и В-3793 соответственно.

Получена, аннотирована и размещена в международной базе данных NCBI полная нуклеотидная последовательность генома штамма *R. opacus* CH628 – деструктора хлорбифенилов, коммерческих смесей ПХБ марок Трихлорбифенил и Совол и их

гидроксированных производных (номер JBLZMV0000000000), что открывает новые перспективы для молекулярно-генетических исследований и биоинженерных разработок.

Созданные трехмерные модели ключевого фермента биодеструкции замещенных бифенилов – α -субъединицы бифенил 2,3-диоксигеназы (BphA1) штамма *R. oracius* CH628 позволяют анализировать структурно-функциональные характеристики BphA1 и закладывают основу для последующих *in silico*-экспериментов по модификации ферментативной активности.

Полученные результаты используются при чтении курса лекций «Экотехнологии в природопользовании» в ФГАОУ ВО «ПГНИУ» (г. Пермь).

Степень обоснованности научных положений и выводов. Основные положения и выводы диссертации Кирьяновой Т.Д. базируются на значительном объеме проведенных исследований. Достоверность полученных результатов подтверждена их верификацией с использованием большого разнообразия современных методов микробиологии, молекулярной биологии, биоинформатики, аналитической химии и компьютерного моделирования, характеризующихся высокой специфичностью и воспроизводимостью и выполненными на современном оборудовании, а также статистической обработкой. Выносимые на защиту положения диссертационного исследования подробно представлены в многочисленных публикациях в отечественных и зарубежных журналах, а также обсуждены на международных и всероссийских научных конференциях. Таким образом, достоверность результатов исследования, степень обоснованности положений, заключения и выводов, сформулированных в диссертации, не вызывают сомнений.

Структура и содержание диссертации, ее завершенность. Диссертация написана по общепринятому плану и состоит из введения, обзора литературы, описания объектов и методов исследований, результатов экспериментов и их обсуждения, заключения, выводов и списка цитированной литературы (317 литературных источников, в том числе 302 зарубежных). Работа изложена на 200 страницах машинописного текста, содержит 21 таблицу, 48 рисунков и 2 схемы.

В главе «Введение» обосновывается актуальность выбранной темы, представлены цель, задачи, обозначены научная новизна, практическая и теоретическая значимость работы, сформулированы положения, выносимые на защиту, указан объем и структура диссертации и ее связь с научными программами, а также отмечен личный вклад автора.

В литературном обзоре (глава 1) достаточно подробно представлено современное состояние проблемы, которой посвящено исследование. Дается общая характеристика ПХБ как стойких органических загрязнителей, а также их гидроксированных производных. Описываются различные методы удаления этих поллютантов из окружающей среды, при этом

особое внимание уделяется аэробным бактериям как перспективным биодеструкторам ПХБ и НО-ПХБ. Разбираются новые подходы к биodeградации ПХБ.

Текст главы 2 «Материалы и методы», позволяет получить информацию об объектах изучения и использованных современных микробиологических, молекулярно-генетических, аналитических, биоинформатических методах, а также методах компьютерного моделирования и статистической обработки данных.

Результаты исследований и их обсуждение изложены в главах 3-6, которые посвящены: получению бактериальных ассоциаций с применением в качестве селективного фактора коммерческой смеси ПХБ Совол или бифенила; идентификации штаммов-деструкторов бифенила, выделенных из смешанных бактериальных культур; исследованию способности штаммов трансформировать хлор- и гидроксизамещенные бифенилы; изучению молекулярно-генетических основ бактериальной деструкции хлор- и гидроксизамещенных бифенилов.

В заключении автор обобщает полученные результаты и обсуждает их наиболее значимые моменты.

Диссертационное исследование завершается выводами, соответствующими поставленной цели и задачам.

Таким образом, диссертация Кирьяновой Т.Д. представляет собой целостную научную работу, которая содержит результаты, имеющие значительную теоретическую и практическую значимость.

Подтверждение опубликования основных результатов в научной печати. По материалам диссертации опубликовано 15 печатных работ, включая 7 статей в журналах, входящих в международные цитатно-аналитические базы WoS и SCOPUS, а также 1 статью в журнале из Перечня ВАК РФ.

Соответствие содержания автореферата основным положениям диссертации. Содержание и оформление автореферата соответствует требованиям ВАК Минобрнауки РФ и в достаточной степени отражает основные положения и выводы диссертационной работы.

Однако при всех отмеченных положительных моментах имеется **ряд замечаний и вопросов** к диссертационной работе:

1. Стр. 26. «Положение атомов хлора и их количество могут влиять на степень деструкции конгенеров ПХБ. Более эффективно, в большинстве случаев, подвергаются биodeградации ПХБ с атомами хлора на пара-позициях». В чем причина этого явления? Кроме того, в настоящей работе, как и в большинстве других исследований по биodeградации конгенеров ПХБ речь идет о разложении низко- или среднехлорированных бифенилов. Почему микробное разложение высокохлорированных соединений затруднено?

2. С чем связан интерес к искусственным смесям ПХБ заявленного состава? Для чего

были химически модифицированы коммерческие смеси ПХБ Совол и Трихлорбифенил?

3. Почему при изучении способности ассоциации PN2-B разлагать монохлорированные и дихлорированный бифенилы, а также коммерческие смеси ПХБ использовали именно такие начальные концентрации – 94,5 мг/л для монохлорбифенила, 22,3 мг/л для дихлорбифенила, 13,8 мг/л для коммерческих смесей ПХБ?

4. Учитывая общий высокий уровень диссертационной работы, хотелось бы, чтобы секвенирование нуклеотидной последовательности гена 16S рРНК штаммов-деструкторов ПХБ было проведено по 2 праймерам, а сами микроорганизмы идентифицированы до вида.

5. Замечания по оформлению работы:

- имеются разночтения при указании масштаба на рисунках 18, 20, 35, 36 и в подписуточных надписях к ним;

- на стр. 109 в тексте дана ссылка на рисунок 18 вместо 21. На стр. 151 неправильно указан номер рисунка в подписуточной надписи (44 вместо 46). Кроме того, на этом рисунке его части обозначены как А, Б, В, а в подписуточной надписи – А, Б, С;

- на стр. 116 имеется ссылка на статью Егоровой и соавт., 2021, которая не приведена в списке литературы;

- отсутствует единообразие при оформлении списка использованной литературы как на русском, так и на английском языке.

Вышеупомянутые вопросы и замечания, в целом, не влияют на общую положительную оценку диссертационной работы Кирьяновой Т.Д., в которой получены значимые для науки и практики результаты.

Заключение о соответствии диссертации и автореферата требованиям «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 в действующей редакции.

Диссертационная работа Кирьяновой Т.Д. «Функционально-генетическая характеристика бактерий-деструкторов хлор- и гидроксизамещенных бифенилов и их биотехнологический потенциал» является завершенной научно-квалификационной работой, в которой предложено решение важной научно-практической задачи поиска микроорганизмов, способных разлагать ПХБ, а также оценки их биохимических и генетических особенностей, что является ключевым шагом для создания эффективных биопрепаратов для очистки окружающей среды от данных стойких органических загрязнителей. По актуальности избранной темы, объему выполненных исследований, научной новизне полученных результатов и их практической значимости данная работа соответствует требованиям пункта пп. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением

Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 (в действующей редакции), а ее автор, Кирьянова Татьяна Денисовна, заслуживает присуждения ей искомой ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.11. «Микробиология».

27 октября 2025 г.

Заведующая лабораторией биотехнологий,
ведущий научный сотрудник УИБ УФИЦ РАН,
доктор биологических наук

 Коршунова Татьяна Юрьевна

Уфимский Институт биологии – обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук (УИБ УФИЦ РАН).

450054, г. Уфа, проспект Октября, 69, лит. Е.

Тел./факс: (347) 235-62-47; e-mail: ib@anrb.ru.

Подпись Коршуновой Т.Ю. заверяю.

Ученый секретарь УИБ УФИЦ РАН

д.б.н., доц. Уразгильдин Р.В.

