

УТВЕРЖДАЮ

Ректор федерального
государственного автономного
образовательного учреждения
высшего образования «Пермский
государственный национальный
исследовательский университет»,
кандидат социологических наук
Игорь Анатольевич GERMANOV



Игорь Анатольевич

«28» сентября 2026 г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Пермский государственный национальный исследовательский университет» по диссертационной работе Голышевой Анастасии Анатольевны, представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.11. Микробиология

Диссертация «Механизмы устойчивости почвенных актиномицетов рода *Rhodococcus* к токсическому воздействию тяжелых металлов на примере молибдена и ртути» выполнена на базе кафедры микробиологии и иммунологии биологического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Пермский государственный национальный исследовательский университет» (ПГНИУ) и лаборатории алканотрофных микроорганизмов «Института экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук» («ИЭГМ УрО РАН») – филиала Пермского федерального исследовательского центра Уральского отделения Российской академии наук (ПФИЦ УрО РАН).

В период подготовки диссертации соискатель Голышева Анастасия Анатольевна обучалась в очной аспирантуре на кафедре микробиологии и иммунологии ПГНИУ по направлению подготовки 06.06.01. «Биологические науки» и работала в должности инженера лаборатории алканотрофных микроорганизмов «ИЭГМ УрО РАН» – филиала ПФИЦ УрО РАН.

В 2021 г. с *отличием* окончила магистратуру Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Пермский государственный национальный исследовательский университет» по направлению подготовки «06.04.01. Биология» (диплом № 105931 0102561).

В 2025 г. с окончила аспирантуру Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Пермский государственный национальный исследовательский университет» по направлению подготовки «06.06.01. Биологические науки» (диплом № 105931 0896337; справка о сдаче кандидатских экзаменов № 595 от 28 сентября 2026).

Научный руководитель:

Ившина Ирина Борисовна, академик РАН, доктор биологических наук, профессор, профессор кафедры микробиологии и иммунологии ПГНИУ, заведующая лабораторией алканотрофных микроорганизмов «ИЭГМ УрО РАН» – филиала ПФИЦ УрО РАН.

По итогам обсуждения принято следующее ЗАКЛЮЧЕНИЕ:

Личное участие соискателя в получении результатов, изложенных в диссертации. Научные положения и выводы работы базируются на результатах собственных исследований автора. Соискатель принимал непосредственное участие в подготовке результатов работы к публикации и их представлении на научных конференциях.

Степень достоверности результатов проведенных соискателем ученой степени исследований. Полученные соискателем результаты отвечают поставленным целям и задачам исследования, обоснованы используемыми методами и статистической обработкой данных, подтверждены экспериментально. Выводы логично следуют из представленных данных, являются воспроизводимыми и имеют достаточный уровень достоверности для практического применения и дальнейших фундаментальных исследований.

Новизна и практическая значимость исследований. На основе биоресурсов Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов (акроним коллекции ИЭГМ, УНУ/ЦКП 73559/480868, № 285 во Всемирной федерации коллекций культур, <http://www.iegmcoll.ru>) впервые показана устойчивость актиномицетов к ртути и молибдену при культивировании в двух контрастных средах: богатая питательная среда – мясопептонный бульон, минимальная минеральная среда “*Rhodococcus*–

surfactant” в присутствии *n*-гексадекана в качестве единственного источника углерода и энергии. Из всего массива обследованных культур наиболее устойчивыми к обоим металлам оказались штаммы, принадлежащие к трем экологически значимым видам актиномицетов *R. rhodochrous*, *R. ruber* и *Gordonia rubripertincta*, преимущественно резистентные культуры были ранее изолированы из нефтезагрязнённых почв и промышленных стоков. Клетки актиномицетов более устойчивые до 32 раз в богатой органической среде по сравнению с минеральной средой в присутствии *n*-гексадекана. Доказано, что иммобилизация клеток на необработанных хвойных опилках повышает резистентность бактерий к ионам металлов до 31 раза.

Изучены специфические особенности проявления токсического эффекта металлов на клетки актиномицетов. Методами микроскопии доказана разнонаправленность клеточных морфометрических реакций: катионы ртути вызывают фрагментацию цитоплазмы, уменьшение длины клеток до 3,5 раз, падение шероховатости до 2,0 раз и деструкцию липофильного слоя стенки; оксианионы молибдена индуцируют увеличение размеров клеток до 1,5 раз, возрастание шероховатости до 1,8 раз и утолщение многослойной оболочки с критическим падением пула внутриклеточного калия и натрия под действием обоих металлов. Выявлено, что катионы ртути индуцируют генерализованный синергизм с ингибиторами трансляции аминокликозидами и тетрациклинами, а молибдат-ионы проявляют выраженный антагонизм с эритромицином. Доказано сопряженное функционирование двухконтурного защитного механизма: экранирование клеток экзополисахаридным матриксом снаружи и депонирование нейтральных липидов-протекторов внутри цитоплазмы. Полученные данные рассматриваются в качестве механизмов адаптации родококков и, как следствие, повышения их устойчивости к токсическому воздействию тяжелых металлов.

С использованием количественной цифровой ПЦР выявлено индуцированное присутствием ртути повышение экспрессии гена *merA*, кодирующего цитоплазматическую флавин-зависимую НАДФН-дисульфидоксидоредуктазу, что свидетельствует о значимой роли данного фермента в восстановление ионов Hg^{2+} до металлической элементарной ртути Hg^0 . Впервые показано, что молекулярный ответ актиномицетов *R. ruber* ИЭГМ 560 на молибдатный стресс реализуется в том числе по механизму отрицательной обратной связи через селективную репрессию оперона *mod*: блокируется приток токсиканта за счет селективной репрессии АТФазы импорта *modC*.

Установлено фундаментальное различие кинетики поглощения металлов. Извлечение молибдена клетками актиномицетов контролируется процессами обратимого энергозависимого биоаккумулирования с последующим защитным эффлюксом до выхода показателей на плато, тогда как удаление ртути обеспечивается сопряжением первичной пассивной биосорбции клеточной стенкой и необратимой ферментативной редукции комплексом MerA. Процесс пассивной сорбции обоих ионов подчиняется кинетической модели псевдовторого порядка.

Ценность научных работ соискателя ученой степени. Полученные сведения расширяют представление о биоинаktivации экотоксикантов актиномицетами и возможности их использования в качестве перспективных агентов для разработки эффективных биотехнологических систем обезвреживания опасных промышленных стоков. Отобраны штаммы *G. paraffinivorans* ИЭГМ 735 и *R. ruber* ИЭГМ 560, способные извлекать в составе иммобилизованного на древесном носителе (сосновые опилки) из имитированных сточных вод до 100% растворённых ионов Cd, Pb, Zn, Ni, Mo, As и до 95,3% – Hg.

Сведения о полных геномах *G. paraffinivorans* ИЭГМ 735 и *R. ruber* ИЭГМ 560 внесены в международную базу данных NCBI по ссылкам доступа https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/NZ_JAJNDG000000000.1 и https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/NZ_JASHLB000000000.1 соответственно. Штаммы *G. paraffinivorans* ИЭГМ 735 и *R. ruber* ИЭГМ 560 по форме «патентное депонирование» переданы во Всероссийскую коллекцию промышленных микроорганизмов под номерами Ac-2215 и Ac-2214 соответственно. Способ извлечения тяжелых металлов, в том числе ртути и молибдена, из сточных вод с помощью иммобилизованного на твердый носитель бактериального консорциума на основе устойчивых к металлам непатогенных актиномицетов *G. paraffinivorans* ИЭГМ 735 и *R. ruber* ИЭГМ 560 защищен Патентом на изобретение РФ № 2818318. Результаты исследования используются в учебных курсах «Биоразнообразие и систематика микроорганизмов» и «Введение в биотехнологию» для студентов Пермского государственного национального исследовательского университета. Информация о штаммах-биоинаktivаторах молибдена и ртути внесена в открытую базу данных Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов (<http://www.iegmc.ru/strains>).

Обязательные ссылки на авторов или источник заимствования материалов или отдельных результатов. В диссертации соискатель ссылается на авторов и источники заимствования материалов или отдельных

результатов, указывает о результатах, полученных в соавторстве, в чем соблюдается пункт п. 14 Постановления Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 (ред. от 01.10.2018 г.) «О порядке присуждения ученых степеней».

Соответствие диссертации научной специальности по действующей номенклатуре специальностей научных работников.

По тематике, методам исследования, предложенным новым научным положениям, по объему и новизне полученных автором данных диссертационная работа соответствует паспорту специальности научных работников 1.5.11. Микробиология (биологические науки) и области исследования паспорта специальности: п. 5 (Физиология и метаболизм микроорганизмов, в том числе физиология и физико-химические параметры роста микроорганизмов).

Полнота изложения материалов диссертации в работах, опубликованных соискателем ученой степени. Соискатель имеет 16 печатных работ, в том числе 4 статьи в журналах международных цитатно-аналитических баз, а также 1 патент Российской Федерации. Наиболее значимые из работ, опубликованных по представленной теме:

1. Ivshina I.B., Kuyukina M.S., Litvinenko L.V., **Golysheva A.A.**, Kostrikina N.A., Sorokin V.V., Mulyukin A.L. Bioaccumulation of molybdate ions by actinobacterial genera *Dietzia*, *Gordonia*, and *Rhodococcus* // *Ecotoxicology and Environmental Safety*. – 2024. – V. 274. – Article 116190. (WoS, Scopus, IF 6,6, Q1).

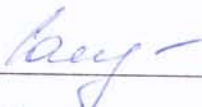
2. **Golysheva A.A.**, Litvinenko L.V., Ivshina I.B. Diversity of mercury-tolerant microorganisms // *Microorganisms*. – 2025. – V. 13, No. 6. – Article 1350. (Scopus, WoS, IF 4,7, Q2).

3. **Golysheva A.**, Anastasiia Krivoruchko A., Ivshina I. Draft genome sequence of a promising bioremediation agent *Gordonia paraffinivorans* IEGM 735 // *Microbiology Resource Announcements*. – 2026. – V. 15, No. 3. – Article e0105925. (WoS, Scopus, IF 0,6, Q3).

4. Патент РФ 2818318. **Голышева А.А.**, Литвиненко Л.В., Ившина И.Б. Имобилизованная микробная ассоциация *Gordonia paraffinivorans* и *Rhodococcus ruber* – активный аккумулятор тяжелых металлов. Приоритет изобр. 13.12.2023 г. Зарег. в Госреестре изобр. РФ 02.05.2024 г. Бюл. № 13.

Диссертация Голышевой Анастасии Анатольевны «Механизмы устойчивости почвенных актиномицетов рода *Rhodococcus* к токсическому воздействию тяжелых металлов на примере молибдена и ртути» рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата наук по специальности 1.5.11. Микробиология.

Заключение принято на заседании кафедры микробиологии и иммунологии федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Пермский государственный национальный исследовательский университет». Присутствовало на заседании 23 чел. из 23 списочного состава. Результаты голосования: «за» – 23 чел., «против» – 0 чел., «воздержались» – 0 чел. Протокол заседания кафедры микробиологии и иммунологии № 1 от 22 сентября 2026 г.



Председатель

Сайдакова Евгения Владимировна,
доктор биологических наук,
профессор кафедры
микробиологии и иммунологии
биологического факультета ПГНИУ



Секретарь

Криворучко Анастасия Владимировна,
доктор биологических наук,
профессор кафедры
микробиологии и иммунологии
биологического факультета ПГНИУ



УТВЕРЖДАЮ

Директор ПФИЦ УрО РАН,

чл.-корр. РАН, д.ф.-м.н.

Олег Анатольевич Плехов



«28» сентября 2026 г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Федерального государственного бюджетного учреждения науки Пермского федерального исследовательского центра Уральского отделения Российской академии наук (ПФИЦ УрО РАН) по диссертационной работе Голышевой Анастасии Анатольевны, представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.11.

Микробиология

Диссертация «Механизмы устойчивости почвенных актиномицетов рода *Rhodococcus* к токсическому воздействию тяжелых металлов на примере молибдена и ртути» выполнена на базе кафедры микробиологии и иммунологии биологического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Пермский государственный национальный исследовательский университет» (ПГНИУ) и лаборатории алканотрофных микроорганизмов «Института экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук» («ИЭГМ УрО РАН») – филиала Пермского федерального исследовательского центра Уральского отделения Российской академии наук (ПФИЦ УрО РАН).

В период подготовки диссертации соискатель Голышева Анастасия Анатольевна обучалась в очной аспирантуре на кафедре микробиологии и иммунологии ПГНИУ по направлению подготовки 06.06.01. «Биологические науки» и работала в должности инженера лаборатории алканотрофных микроорганизмов «ИЭГМ УрО РАН» – филиала ПФИЦ УрО РАН.

В 2021 г. с *отличием* окончила магистратуру Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Пермский государственный национальный исследовательский

университет» по направлению подготовки «06.04.01 Биология» (диплом № 105931 0102561).

В 2025 г. с окончила аспирантуру Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Пермский государственный национальный исследовательский университет» по направлению подготовки «06.06.01 Биологические науки» (диплом № 105931 0896337; справка о сдаче кандидатских экзаменов № 595 от 28 сентября 2026).

Научный руководитель:

Ившина Ирина Борисовна, академик РАН, доктор биологических наук, профессор, профессор кафедры микробиологии и иммунологии ПГНИУ, заведующая лабораторией алканотрофных микроорганизмов «ИЭГМ УрО РАН» – филиала ПФИЦ УрО РАН.

По итогам обсуждения принято следующее ЗАКЛЮЧЕНИЕ:

Личное участие соискателя в получении результатов, изложенных в диссертации. Научные положения и выводы работы базируются на результатах собственных исследований автора. Соискатель принимал непосредственное участие в подготовке результатов работы к публикации и их представлении на научных конференциях.

Степень достоверности результатов проведенных соискателем ученой степени исследований. Полученные соискателем результаты отвечают поставленным целям и задачам исследования, обоснованы используемыми методами и статистической обработкой данных, подтверждены экспериментально. Выводы логично следуют из представленных данных, являются воспроизводимыми и имеют достаточный уровень достоверности для практического применения и дальнейших фундаментальных исследований.

Новизна и практическая значимость исследований. На основе биоресурсов Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов (акроним коллекции ИЭГМ, УНУ/ЦКП 73559/480868, № 285 во Всемирной федерации коллекций культур, <http://www.iegmc.ru>) впервые показана устойчивость актиномицетов к ртути и молибдену при культивировании в двух контрастных средах: богатая питательная среда – мясопептонный бульон, минимальная минеральная среда “*Rhodococcus-surfactant*” в присутствии *n*-гексадекана в качестве единственного источника углерода и энергии. Из всего массива обследованных культур наиболее устойчивыми к обоим металлам оказались штаммы, принадлежащие к трем экологически значимым видам актиномицетов *R. rhodochrous*, *R. ruber* и *Gordonia rubripertincta*, преимущественно резистентные культуры были

ранее изолированы из нефтезагрязнённых почв и промышленных стоков. Клетки актиномицетов более устойчивые до 32 раз в богатой органической среде по сравнению с минеральной средой в присутствии *n*-гексадекана. Доказано, что иммобилизация клеток на необработанных хвойных опилках повышает резистентность бактерий к ионам металлов до 31 раза.

Изучены специфические особенности проявления токсического эффекта металлов на клетки актиномицетов. Методами микроскопии доказана разнонаправленность клеточных морфометрических реакций: катионы ртути вызывают фрагментацию цитоплазмы, уменьшение длины клеток до 3,5 раз, падение шероховатости до 2,0 раз и деструкцию липофильного слоя стенки; оксианионы молибдена индуцируют увеличение размеров клеток до 1,5 раз, возрастание шероховатости до 1,8 раз и утолщение многослойной оболочки с критическим падением пула внутриклеточного калия и натрия под действием обоих металлов. Выявлено, что катионы ртути индуцируют генерализованный синергизм с ингибиторами трансляции аминокликозидами и тетрациклинами, а молибдат-ионы проявляют выраженный антагонизм с эритромицином. Доказано сопряженное функционирование двухконтурного защитного механизма: экранирование клеток экзополисахаридным матриксом снаружи и депонирование нейтральных липидов-протекторов внутри цитоплазмы. Полученные данные рассматриваются в качестве механизмов адаптации родококков и, как следствие, повышения их устойчивости к токсическому воздействию тяжелых металлов.

С использованием количественной цифровой ПЦР выявлено индуцированное присутствием ртути повышение экспрессии гена *merA*, кодирующего цитоплазматическую флавин-зависимую НАДФН-дисульфидоксидоредуктазу, что свидетельствует о значимой роли данного фермента в восстановление ионов Hg^{2+} до металлической элементарной ртути Hg^0 . Впервые показано, что молекулярный ответ актиномицетов *R. ruber* ИЭГМ 560 на молибдатный стресс реализуется в том числе по механизму отрицательной обратной связи через селективную репрессию оперона *mod*: блокируется приток токсиканта за счет селективной репрессии АТФазы импорта *modC*.

Установлено фундаментальное различие кинетики поглощения металлов. Извлечение молибдена клетками актиномицетов контролируется процессами обратимого энергозависимого биоаккумулирования с последующим защитным эффлюксом до выхода показателей на плато, тогда как удаление ртути обеспечивается сопряжением первичной пассивной биосорбции клеточной стенкой и необратимой ферментативной редукции

комплексом MerA. Процесс пассивной сорбции обоих ионов подчиняется кинетической модели псевдвторого порядка.

Ценность научных работ соискателя ученой степени. Полученные сведения расширяют представление о биоинактивации экотоксикантов актиномицетами и возможности их использования в качестве перспективных агентов для разработки эффективных биотехнологических систем обезвреживания опасных промышленных стоков. Отобраны штаммы *G. paraffinivorans* ИЭГМ 735 и *R. ruber* ИЭГМ 560, способные извлекать в составе иммобилизованного на древесном носителе (сосновые опилки) из имитированных сточных вод до 100% растворённых ионов Cd, Pb, Zn, Ni, Mo, As и до 95,3% – Hg.

Сведения о полных геномах *G. paraffinivorans* ИЭГМ 735 и *R. ruber* ИЭГМ 560 внесены в международную базу данных NCBI по ссылкам доступа https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/NZ_JAJNDG000000000.1 и https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/NZ_JASHLB000000000.1 соответственно. Штаммы *G. paraffinivorans* ИЭГМ 735 и *R. ruber* ИЭГМ 560 по форме «патентное депонирование» переданы во Всероссийскую коллекцию промышленных микроорганизмов под номерами Ас-2215 и Ас-2214 соответственно. Способ извлечения тяжелых металлов, в том числе ртути и молибдена, из сточных вод с помощью иммобилизованного на твердый носитель бактериального консорциума на основе устойчивых к металлам непатогенных актиномицетов *G. paraffinivorans* ИЭГМ 735 и *R. ruber* ИЭГМ 560 защищен Патентом на изобретение РФ № 2818318. Результаты исследования используются в учебных курсах «Биоразнообразие и систематика микроорганизмов» и «Введение в биотехнологию» для студентов Пермского государственного национального исследовательского университета. Информация о штаммах-биоинактиваторах молибдена и ртути внесена в открытую базу данных Региональной профилированной коллекции алканотрофных микроорганизмов (<http://www.iegmc.ru/strains>).

Обязательные ссылки на авторов или источник заимствования материалов или отдельных результатов. В диссертации соискатель ссылается на авторов и источники заимствования материалов или отдельных результатов, указывает о результатах, полученных в соавторстве, в чем соблюдается пункт п. 14 Постановления Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 (в действующей редакции) «О порядке присуждения ученых степеней».

Соответствие диссертации научной специальности по действующей номенклатуре специальностей научных работников.

По тематике, методам исследования, предложенным новым научным положениям, по объему и новизне полученных автором данных

диссертационная работа соответствует паспорту специальности научных работников 1.5.11. Микробиология (биологические науки) и области исследования паспорта специальности: п. 5 (Физиология и метаболизм микроорганизмов, в том числе физиология и физико-химические параметры роста микроорганизмов).

Полнота изложения материалов диссертации в работах, опубликованных соискателем ученой степени. Соискатель имеет 16 печатных работ, в том числе 4 статьи в журналах международных цитатно-аналитических баз, а также 1 патент Российской Федерации. Наиболее значимые из работ, опубликованных по представленной теме:

1. Ivshina I.B., Kuyukina M.S., Litvinenko L.V., **Golysheva A.A.**, Kostrikina N.A., Sorokin V.V., Mulyukin A.L. Bioaccumulation of molybdate ions by actinobacterial genera *Dietzia*, *Gordonia*, and *Rhodococcus* // *Ecotoxicology and Environmental Safety*. – 2024. – V. 274. – Article 116190. (WoS, Scopus, IF 6,6, Q1).

2. **Golysheva A.A.**, Litvinenko L.V., Ivshina I.B. Diversity of mercury-tolerant microorganisms // *Microorganisms*. – 2025. – V. 13, No. 6. – Article 1350. (Scopus, WoS, IF 4,7, Q2).

3. **Golysheva A.**, Anastasiia Krivoruchko A., Ivshina I. Draft genome sequence of a promising bioremediation agent *Gordonia paraffinivorans* IEGM 735 // *Microbiology Resource Announcements*. – 2026. – V. 15, No. 3. – Article e0105925. (WoS, Scopus, IF 0,6, Q3).

4. Патент РФ 2818318. **Голышева А.А.**, Литвиненко Л.В., Ившина И.Б. Имобилизованная микробная ассоциация *Gordonia paraffinivorans* и *Rhodococcus ruber* – активный аккумулятор тяжелых металлов. Приоритет изобр. 13.12.2023 г. Зарег. в Госреестре изобр. РФ 02.05.2024 г. Бюл. № 13.

Диссертация Голышевой Анастасии Анатольевны «Механизмы устойчивости почвенных актиномицетов рода *Rhodococcus* к токсическому воздействию тяжелых металлов на примере молибдена и ртути» рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата наук по специальности 1.5.11. Микробиология.

Заключение принято на заседании Проблемной комиссии «Института экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН» – филиала Пермского федерального исследовательского центра УрО РАН по специальности 1.5.11. Микробиология.

Присутствовало на заседании 11 чел. из 14 списочного состава Проблемной комиссии «ИЭГМ УрО РАН» - филиала ПФИЦ УрО РАН.

Результаты голосования:

«за» – 11 чел.

«против» – 0 чел.

«воздержалось» – 0 чел.

Протокол № 3 от «22» сентября 2026 г.



Секретарь

Егорова Дарья Олеговна,
доктор биологических наук,
зам. директора по научным
вопросам «ИЭГМ УрО РАН» –
филиал ПФИЦ УрО РАН



"ИЭГМ УрО РАН"	
Подпись	<u>Егорова Д.О.</u>
заверяю	<u>М</u>
главный специалист по кадрам М.В.Корепанова	