

## ОТЗЫВ

на автореферат диссертационной работы Егоровой Дарьи Олеговны «Аэробные бактерии-деструкторы полихлорированных бифенилов: филогенетическое и функциональное разнообразие, биотехнологический потенциал», представленной на соискание учёной степени доктора биологических наук по специальности 03.02.03 Микробиология

Диссертационная работа Егоровой Дарьи Олеговны посвящена поиску оптимальных экологически безопасных и экономически целесообразных механизмов удаления полихлорированных бифенилов из природных и техногенных объектов, в частности за счет деградационного потенциала природных аэробных бактерий.

Целью исследования являлась комплексная оценка таксономического, функционального и генетического разнообразия аэробных бактерий-деструкторов полихлорированных бифенилов (ПХБ), а также выделение индивидуальных бактерий и ассоциаций, перспективных для применения в экобиотехнологиях, направленных на уничтожение полихлорированных бифенилов, находящихся в окружающей среде и местах складирования.

В диссертационной работе решены следующие задачи:

1. Изучено таксономическое разнообразие бактерий-деструкторов бифенила/хлорированных бифенилов в почвах с различным уровнем техногенного загрязнения.

2. Исследованы особенности утилизации/трансформации различных конгенов ПХБ у изолированных бактериальных штаммов: на уровне анализа функциональных генов (ключевых генов, контролирующих разложение бифенила/ПХБ) и метаболического профиля деструкции хлорбифенилов.

3. Выявлены и всесторонне охарактеризованы активные штаммы-деструкторы, способные осуществлять разложение ПХБ до соединений основного обмена клетки.

4. Исследован деградационный потенциал активных штаммов-деструкторов по отношению к модельным, коммерческим (Delor 103/Трихлорбифенил, Совол) и химически модифицированным смесям ПХБ.

5. Оценена возможность применения охарактеризованных бактерий-деструкторов в экобиотехнологиях, направленных на ремедиацию ПХБ-загрязненных почв и уничтожение невостребованных смесей ПХБ.

Автором получены новые сведения о филогенетическом разнообразии аэробных бактерий-деструкторов бифенила/ПХБ, обитающих в почвах с различным уровнем загрязнения отходами химических производств. Выявлена уникальная способность штаммов *R. wratislaviensis* KT112-7, *R. wratislaviensis* CH625, *R. wratislaviensis* CH628, *R.*

wratislaviensis P1, *R. wratislaviensis* G10, *R. ruber* P25, *Rhodococcus* sp. B7a, *R. erythropolis* G12a, *M. oxydans* B51, осуществлять окисление как орто-, так и пара-замещенного кольца в молекулах ди/три-хлорбифенилов с последующей деструкцией образовавшихся хлорбензойных кислот до соединений основного обмена клетки. Выявлено, что гены *bphA1*, кодирующие  $\alpha$ -субъединицу бифенил 2,3-диоксигеназы (2,3-ДО) бактерий рода *Rhodococcus* имеют существенные различия и характеризуются наибольшим уровнем сходства с генами фенилпропионат 2,3-ДО (97.7–100%) у 2 штаммов, бифенил 2,3-ДО (99.5–100%) у 4 штаммов и бифенил/толуол 2,3-ДО грамположительных бактерий (87.1–99.6%) у 14 штаммов. Впервые на основании нуклеотидной последовательности генов *bphA1*, с применением методов биоинформатического анализа и 3D-моделирования, получены вторичная и третичная структуры  $\alpha$ -субъединицы бифенил 2,3-диоксигеназы (*BphA1*) штаммов *R. ruber* P25 и *R. wratislaviensis* KT112-7. Установлено, что *BphA1* штамма *R. ruber* P25 характеризуется уникальной структурой и не имеет достоверного уровня сходства с известными  $\alpha$ -субъединицами бифенил/толуол/бензол/фенилпропионат 2,3-ДО. Напротив, *BphA1*KT112-7 (ген которой локализован на плазмиде), имеет высокий процент сходства с  $\alpha$ -субъединицей бифенил 2,3-ДО известного штамма-деструктора ПХБ *R. jostii* RHA1. Впервые установлено, что геном штамма *R. wratislaviensis* KT112-7 представлен хромосомой (7587912 пн, GenBank CP072193.1) и двумя мегаплазмидами: *pRHWK1* (281912 пн, GenBank CP072194.1), *pRHWK2* (130937 пн, GenBank CP072195.1). В результате анализа генома показано, что гены бифенильного пути располагаются как на хромосоме (имеют высокую степень сходства с генами деструкции нафталина), так и на плазмидах (высокий уровень сходства с классическими *bph*-генами). Также в геноме штамма KT112-7 выявлены гены, обуславливающие его способность разлагать хлор- и гидрокси-бензойные кислоты до соединений основного обмена клетки. Выявлена способность штаммов родов *Rhodococcus* и *Microbacterium* эффективно разлагать коммерческие и модельные смеси ПХБ, содержащие от 20 до 50 конгенов. Впервые показана возможность аэробной бактериальной трансформации смесей химически модифицированных ПХБ, содержащих в молекуле гидрокси-, метокси-, полиэтиленгликолокси- и аминоэтокси-группы.

Проведенные автором исследования являются важными для развития теоретических представлений о функциональных основах биотрансформации ПХБ, а также в разработке новых подходов, направленных на восстановление окружающей среды и удаление невостребованных ПХБ с учетом требований экологической безопасности.

Актуальность, достоверность, научная новизна и практическая значимость работы Егоровой Д.О. не вызывают сомнений. Результаты диссертации представляют собой законченное научное исследование.

Несомненным достоинством рассматриваемой диссертационной работы является разработка на основе детальное изучение метаболических особенностей и генетического потенциала штаммов-деструкторов, выделенных из различных биотопов, средств и способов ремедиации (патенты РФ № 2562156 и № 2563660). В качестве потенциальных агентов предложены штаммы *M. oxydans* B51, *R. ruber* P25 (патент РФ № 2262531), *R. erythropolis* G12a, *R. wratislaviensis* KT112-7 (патент РФ № 2548804), CH625 (патент РФ № 2585537), CH628, *Rhodococcus* sp. B7a. На основе штаммов *R. wratislaviensis* KT112-7 и *R. wratislaviensis* CH625 разработан микробный препарат «Полихлорокс», предназначенный для очистки ПХБ-загрязненных почв.

Научная новизна проведенных исследований подтверждена публикациями в отечественных и зарубежных изданиях, по материалам диссертационной работы опубликовано 55 статей в российских и международных научных журналах, 5 патентов РФ и 74 тезисов конференций. Полученные результаты прошли неоднократную апробацию на российских и международных конференциях.

В целом, на основании автореферата, можно сделать вывод о том, что диссертационная работа Егоровой Дарьи Олеговны «Аэробные бактерии-деструкторы полихлорированных бифенилов: филогенетическое и функциональное разнообразие, биотехнологический потенциал» по актуальности, новизне, объему проведенных исследований, научной ценности и практической значимости полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013, и отвечает требованиям, предъявляемым к докторским диссертациям, а ее автор, Егорова Дарья Олеговна, заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.02.03 Микробиология.

30 мая 2022 г.

Ведущий научный сотрудник, зав. лабораторией  
биохимии стрессов микроорганизмов  
Федерального исследовательского центра  
«Фундаментальные основы биотехнологии»  
Российской академии наук (ФИЦ Биотехнологии РАН),  
доктор биологических наук,  
Шлеева Маргарита Олеговна

М.О. Шлеева

