

## **ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА**

**на диссертационную работу Вороной Анны Олеговны**

**«Разнообразие и молекулярно-биологическая характеристика бактерий-деструкторов бифенила (хлорированных бифенилов) техногенных экосистем», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.03 – Микробиология**

### **Актуальность темы диссертации**

В настоящее время остро стоит проблема загрязнения химическими соединениями различных ниш окружающей среды. Зачастую такие соединения не разлагаются достаточно продолжительное время и оказывают токсическое воздействие на флору и фауну экосистем, а также могут опосредованно оказывать влияние на биосферу в целом. Актуальной является проблема загрязнения окружающей среды стойкими органическими загрязнителями – (поли)хлорированными бифенилами (ПХБ). На сегодняшний день, примерно, треть произведенных ПХБ попали в окружающую среду, остальные две трети до сих пор находятся в связанном состоянии в виде отходов производства. Так по некоторым оценкам на территории ряда предприятий Поволжского и Уральского регионов сосредоточено несколько тысяч тонн ПХБ. ПХБ способны адсорбироваться на органических веществах почвы и за счет наличия носителя перемещаться вниз по профилю, загрязняя поверхностные и грунтовые воды, а также аккумулироваться в тканях растений и животных, следовательно, данная экологическая проблема нуждается в пристальном внимании и принятии мер по очистке загрязненных территорий. Бифенил, по сравнению с его хлорпроизводными, обладает меньшей токсичностью, тем не менее, данное соединение является мутагеном, а его длительное воздействие на организм человека может привести к неблагоприятным последствиям для здоровья.

Известно, что одним из наиболее перспективных способов снижения содержания опасных соединений (в том числе, таких как бифенил и ПХБ) в окружающей среде является их переработка с использованием метаболического потенциала природной микрофлоры. Описана способность некоторых таксонов грамположительных бактерий к утилизации широкого спектра полиароматических соединений. Так, бактерии рода *Rhodococcus* могут использовать в качестве ростового субстрата широкий спектр ароматических загрязнителей (таких как нафталин, фенантрен, бифенил и его хлорированные производные). Аналогичные характеристики описаны и для представителей грамотрицательных бактерий рода *Pseudomonas*.

### **Достоверность и новизна результатов и выводов**

Достоверность научных результатов и выводов, сформулированных в

диссертации, не вызывает сомнения и определяется значительным объемом проведенных экспериментов, а также использованием широкого спектра классических микробиологических и современных молекулярно-генетических методов исследования. Эксперименты грамотно спланированы и выполнены, а математическая обработка результатов выполнена с привлечением адекватных методов статистического анализа.

Оценивая новизну проведенного исследования, представляется необходимым отметить следующие ключевые моменты:

1. Автором впервые с использованием молекулярно-генетических методов показано разнообразие ключевых бактериальных генов деструкции бифенила/ПХБ (*bphA1*-гены) на загрязненных территориях ряда географически удаленных промышленных регионов РФ, что существенно расширяет представление о микробиологическом составе техногеннозагрязненных экотопов и ключевой роли некультивируемых бактерий, ответственных за деградацию моно(поли)ароматических соединений и их хлорпроизводных.
2. Впервые на загрязненных территориях Чукотского автономного округа и Пермского края выявлено наличие новых *bphA1*-генов, имеющих низкое сходство с известными генами диоксигеназ, гидроксилирующих бензольное кольцо ароматических соединений.
3. Автором изолированы из загрязненных почв и водоемов штаммы родов *Pseudomonas* и *Rhodococcus*, способные разлагать моно(ди)хлорированные бифенилы.

#### **Значимость для науки и практики полученных автором диссертации результатов**

Диссертационное исследование А.О. Ворониной сочетает в себе значимые фундаментальные научные достижения и результаты, ориентированные на практическое использование в микробиологии и медицине. Полученные данные расширяют представления о микроорганизмах-деструкторах бифенилов. Проведенные исследования указывают на перспективность использования штаммов родов *Pseudomonas* и *Rhodococcus* в биотехнологических процессах мониторинга и восстановления загрязненных территорий.

#### **Содержание диссертации, ее завершенность, публикации автора в научной печати**

Диссертация построена по традиционному плану и состоит из введения, обзора литературы, описания объектов и методов, 2-х глав собственных исследований, обсуждения, заключения и выводов. Список цитируемой литературы включает 263 наименований работ отечественных и преимущественно зарубежных авторов. Работа достаточна по объему (изложена на 207 страницах), проиллюстрирована 42 рисунками и 19 таблицами.

Введение содержит доводы в пользу актуальности выбранной темы. Этот раздел включает формулировку цели и задач работы, ее научную новизну и практическую значимость.

В литературном обзоре представлено состояние научной проблемы, которой посвящена диссертация, а в конце данного раздела определены приоритетные направления собственного исследования.

В главе 4 (Объекты и методы исследования) изложенный материал позволяет получить исчерпывающее представление об объектах и использованных подходах и дает возможность в дальнейшем при необходимости получить воспроизводимые результаты в подобных исследованиях. Внушителен спектр использованных методов и методик, представленных сочетанием испытанных временем традиционных бактериологических методов и современных биохимических и молекулярно-генетических подходов. Полученные результаты подвергались адекватной статистической обработке.

Результаты исследований приведены в 2-х главах. Первым значимым результатом является характеристика биodeградативного потенциала микробных сообществ географически удаленных территорий РФ. В качестве маркера для выявления микроорганизмов-деструкторов в объектах окружающей среды использован ген *bphA1*, который является ключевым геном деструкции бифенила.

В исследованиях показано, что в микробных сообществах техногеннозагрязненных почв и сточных вод присутствуют гены, гомологичные *bphA1*-генам активных деструкторов бифенила и некультивируемых бактерий. Кроме этого, обнаружены в ряде территорий новые *bphA1*-гены с низкой степенью гомологии с известными генами диоксигеназ. Автор предполагает перспективность использования штаммов родов *Pseudomonas* и *Rhodococcus* в биотехнологических целях.

Работу завершает «Заключение», в краткой форме обобщающее результаты проведенного исследования и расставляющее наиболее значимые акценты. Выводы диссертации основаны на результатах собственных исследований автора, достоверны и обоснованы.

#### **Замечания и вопросы**

Существенных недостатков у оппонируемой работы не выявлено, а указанные частные замечания никак не изменяют ее общую положительную оценку.

При прочтении работы у оппонента возникли следующие вопросы:

1. Почему при анализе деструкции монохлорированных бифенилов (2-ХБ и 4-ХБ) для штаммов *Rhodococcus* spp. KBB16 и VR31-1 была выбрана

концентрация 96 мг/л, а для штамма *Pseudomonas* sp. VRP2-6 – 250 мг/л?

2. Можно ли утверждать, что штаммы *Rhodococcus* spp. KBB16, VR31-1 и *Pseudomonas* sp. VRP2-6 являются активными-деструкторами полихлорированных бифенилов, если их деградативный потенциал был продемонстрирован лишь на 2,4'-дихлорбифениле?

### **Опубликованные результаты диссертации в научной печати**

Материалы диссертации опубликованы в научной печати, всего опубликовано 16 работ, в том числе 4 – в изданиях, рекомендованных ВАК, из них 2 статьи – в журналах, цитируемых в международной базе Scopus.

### **Содержание автореферата**

Содержание и оформление автореферата соответствует требованиям ВАК Минобрнауки РФ и в достаточной мере отражает основные положения диссертации.

### **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Диссертационная работа Ворониной Анны Олеговны по объему и научно-методическому уровню выполненных исследований является законченной научно-квалификационной работой, отражающей новые фундаментальные знания, которые вносят существенный вклад в микробиологию и экологию природных систем. По актуальности тематики, научной новизне, теоретической и практической значимости, а также обоснованности выводов диссертационная работа соответствует п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 года № 842 (ред. от 01.10.2018), предъявляемых к кандидатским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.03 – Микробиология.

Официальный оппонент,

доцент кафедры микробиологии и вирусологии ФГБОУ ВО «Пермского государственного медицинского университета им. академика Е.А. Вагнера» МЗ РФ, кандидат медицинских наук по специальности 14.03.09 – клиническая иммунология, аллергология

614990, г. Пермь, ул. Екатерининская, д. 85  
+7(342)236-44-85, AGodovalov@gmail.com

10 ноября 2020 г.

Годовалов Анатолий Петрович

