

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 999.219.02, СОЗДАННОГО  
НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ  
НАУКИ ПЕРМСКОГО ФЕДЕРАЛЬНОГО ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОГО ЦЕНТРА  
УРАЛЬСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК, ФЕДЕРАЛЬНОГО  
ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО ОБРАЗОВАТЕЛЬНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ  
ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ “ПЕРМСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ  
УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ АКАДЕМИКА Е.А. ВАГНЕРА” МИНИСТЕРСТВА  
ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ, ПО ДИССЕРТАЦИИ НА  
СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ ДОКТОРА НАУК

аттестационное дело № \_\_\_\_\_

решение диссертационного совета от 17 июня 2022 г. № 77

О присуждении **Егоровой Дарье Олеговне**, гражданке России, ученой степени доктора биологических наук.

Диссертация **“Аэробные бактерии-деструкторы полихлорированных бифенилов: филогенетическое и функциональное разнообразие, биотехнологический потенциал”** по специальности 03.02.03 Микробиология принята к защите 16.03.2022 г. (протокол заседания № 22/3) диссертационным советом Д 999.219.02, созданным на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Пермского федерального исследовательского центра Уральского отделения Российской академии наук, 614099, г. Пермь, ул. Ленина, 13а, Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования “Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера” Министерства здравоохранения Российской Федерации, 614000, г. Пермь, ул. Петропавловская, 26, приказ о создании диссертационного совета № 171/нк от 02 октября 2018 г.

Соискатель Егорова Дарья Олеговна, “06” мая 1978 года рождения, диссертацию на соискание ученой степени кандидата биологических наук “Исследование аэробных бактерий, разлагающих полихлорированные бифенилы и хлорбензойные кислоты” защитила в 2003 году в диссертационном совете, созданном на базе Института экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук; работает в должности старшего научного сотрудника лаборатории микробиологии техногенных экосистем “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 выполнена в “Институте экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук” – филиале Федерального государственного бюджетного учреждения науки Пермского федерального исследовательского центра Уральского отделения Российской академии наук.

**Научный консультант** – доктор биологических наук Плотникова Елена Генриховна, заведующая лабораторией микробиологии техногенных экосистем “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.

**Официальные оппоненты:** Каюмов Айрат Рашитович, доктор биологических наук, доцент, доцент кафедры генетики Института фундаментальной медицины и биологии Высшей школы биологии центра биологии и педагогического образования Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования “Казанский (Приволжский) федеральный университет”; Коршунова Татьяна Юрьевна, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории биотехнологий Уфимского института биологии – обособленного структурного подразделения Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук; Позднякова Наталия Николаевна, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории экологической биотехнологии Института биохимии и физиологии растений и микроорганизмов – обособленного структурного подразделения Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра «Саратовский научный центр Российской академии наук», дали положительные отзывы на диссертацию.

**Ведущая организация** Федеральное государственное учреждение “Федеральный исследовательский центр “Фундаментальные основы биотехнологии” Российской академии наук” Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского, г. Москва, в своем положительном отзыве, подписанном доктором биологических наук, заведующим лабораторией выживаемости микроорганизмов Юрием Александровичем Николаевым, указала, что диссертация Егоровой Д.О. “Аэробные бактерии-деструкторы полихлорированных бифенилов: филогенетическое и функциональное разнообразие, биотехнологический потенциал”, представленная на соискание ученой степени доктора биологических наук, является законченной научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований разработаны важные теоретические положения в областях экологии, биохимии и генетики экологически и технологически

важной группы аэробных бактерий, деструкторов ПХБ, совокупность достижений автора можно квалифицировать как научное достижение, которое будет способствовать решению проблемы деструкции ПХБ, имеющей важное экологическое, социально-экономическое и хозяйственное значение. Диссертационная работа Егоровой Д.О. полностью соответствует требованиям п. 9 “Положения ВАК РФ”, предъявляемым к докторским диссертациям, а автор диссертации заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук.

Соискатель имеет 166 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации 134 работы, из них в рецензируемых научных изданиях опубликовано 55 работ. Объем научных изданий составляет 617 стр., авторский вклад – 90 %. Сведения об опубликованных работах в диссертации соискателя ученой степени достоверны. Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:

1. Egorova D.O., Demakov V.A., Plotnikova E.G. Bioaugmentation of a polychlorobiphenyl contaminated soil with two aerobic bacterial strains // *Journal of Hazardous Materials*. 2013. V. 261. P. 378–386. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2013.07.067. SCOPUS, Web of Science, Q1

2. Solyanikova I.P., Emelyanova E.V., Shumkova E.S., Egorova D.O., Korsakova E.S., Plotnikova E.G., Golovleva L.A. Peculiarities of the degradation of benzoate and its chloro- and hydroxy-substituted analogs by actinobacteria // *International Biodeterioration & Biodegradation*. 2015. V.100. P. 155–164. DOI: 10.1016/j.ibiod.2015.02.028. SCOPUS, Web of Science, Q1

3. Egorova D.O., Gorbunova T.I., Pervova M.G., Kir'yanova T.D., Demakov V.A., Saloutin V.I., Chupakhin O.N. Biodegradability of hydroxylated derivatives of commercial polychlorobiphenyls mixtures by *Rhodococcus*-strains // *Journal of Hazardous Materials*. 2020. V. 400. Article 123328. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2020.123328. SCOPUS, Web of Science, Q1

4. Gorbunova T.I., Egorova D.O., Pervova M.G., Kyrianova T.D., Demakov V.A., Saloutin V.I., Chupakhin O.N. Biodegradation of trichlorobiphenyls and their hydroxylated derivatives by *Rhodococcus*-strains // *Journal of Hazardous Materials*. 2021. V. 409. Article 124471. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2020.124471. SCOPUS, Web of Science, Q1

5. Solyanikova I.P., Travkin V.M., Rybkina (Egorova) D.O., Plotnikova E.G., Golovleva L.A. Variability of enzyme system of *Nocardioform* bacteria as a basis of their metabolic activity // *J. Environmental Science and Health. Part B*. 2008. V.43. P. 241–252. DOI: 10.1080/03601230701771180. SCOPUS, Web of Science, Q2

6. Егорова Д. О., Горбунова Т. И., Кирьянова Т. Д., Первова М. Г., Плотникова Е. Г. Моделирование структуры  $\alpha$ -субъединицы бифенил диоксигеназы штаммов рода *Rhodococcus* и особенности их деградтивной активности к хлорированным- и

гидроксилированным бифенилам при различных температурах // Прикладная биохимия и микробиология. 2021. Т. 57, № 6. С. 571–582. DOI: 10.31857/S0555109921060027. SCOPUS, Web of Science, Q4

7. Шумкова Е. С., Егорова Д. О., Корсакова Е. С., Дорофеева Л. В., Плотникова Е. Г. Молекулярно-биологическая характеристика бактерий-деструкторов бифенила и идентификация генов  $\alpha$ -субъединицы бифенил 2,3-диоксигеназы // Микробиология. 2014. Т.83, №1. С. 63–71. DOI: 10.7868/S0026365614010133 SCOPUS, Web of Science, Q3

8. Егорова Д. О., Корсакова Е. С., Демаков В.А., Плотникова Е. Г. Деструкция ароматических углеводов штаммом *Rhodococcus wratislaviensis* КТ112-7, выделенным из отходов соледобывающего предприятия // Прикладная биохимия и микробиология. 2013. Том 49, № 3. С. 267–278. DOI: 10.7868/S0555109913030070 SCOPUS, Web of Science, Q4

9. Егорова Д.О., Плотникова Е.Г., Мехаев А.В., Ятлук Ю.Г., Демаков В.А., Чупахин О.Н. Утилизация полихлорбифенилов с использованием химических и биологических процессов // Доклады Академии Наук. 2011. Т.441, №3. С.328–331. DOI: 10.1134/S0012500811110115. SCOPUS, Web of Science, Q3

10. Егорова Д. О., Демаков В. А., Плотникова Е. Г. Разложение смеси (тригекса)хлорированных бифенилов штаммами рода *Rhodococcus* // Прикладная биохимия и микробиология. 2011. Т.47, № 6. С. 655–662. DOI: 10.1134/S0003683811060044. SCOPUS, Web of Science, Q4

**На диссертацию и автореферат поступили отзывы:** от д.б.н., вед.н.с., зав. лабораторией биохимии стрессов микроорганизмов ФИЦ Биотехнологии РАН Шлеевой М.О. (Москва); д.б.н., профессора, зав. кафедрой “Прикладная биология и микробиология” ФГБОУ ВО “Астраханский государственный технический университет” Сопруновой О.Б. (Астрахань); д.б.н., с.н.с. лаборатории микробиологии ИОЭБ СО РАН Абидуевой Е.Ю. (Улан-Уде); д.б.н., вед. н.с. ФИЦ “Пушинский научный центр биологических исследований Российской академии наук” обособленное подразделение “Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН” Филонова А.Е. (Пушино); д.х.н., зам. директора по научной работе ФГБУН Института органического синтеза им. И.Я. Постовского УрО РНА Бургарт Я.И. (Екатеринбург); д.б.н., вед.н.с. кафедры микробиологии биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова Потехиной Н.В.(Москва).

Все полученные отзывы на автореферат положительные, в них отмечается актуальность, научная новизна, теоретическая и практическая значимость диссертационного исследования, а также высокий общий и методический уровень выполненной работы. В отзыве д.б.н. Абидуевой имеются вопросы, касающиеся

реализации разработок на практике и максимальной концентрации ПХБ и их производных, которую способны разлагать штаммы. В отзыве д.б.н. Филонова Ф.Е. имеется вопрос о плазмидной локализации генов деструкции бифенила. В отзыве д.х.н. Бургарт Я.В. имеется вопрос о возможности применения исследованных штаммов для разложения хлорорганических пестицидов. В отзыве д.б.н. Потехиной Н.В. имеется вопрос о причинах выбора площадок для отбора образцов. Во всех отзывах сделано заключение, что диссертация соответствует требованиям Положения о порядке присуждения ученых степеней, а Д.О. Егорова заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.02.03 Микробиология.

**Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается** высоким уровнем профессиональной компетентности д.б.н. Каюмова А.Р., д.б.н. Коршуновой Т.Ю. и д.б.н. Поздняковой Н.Н. и научными достижениями Института микробиологии им. С.Н. Виноградского РАН в области микробиологии и биотехнологии. Каюмов А.Р. – автор 194 научных публикаций, является ведущим специалистом в области исследования молекулярных и генетических структур бактериальной клетки. Коршунова Т.Ю. является признанным специалистом в области микробиологии, биотехнологии и биоремедиации, имеет свыше 75 публикаций в рецензируемых журналах. Позднякова Н.Н. – специалист в области биохимии клетки, автор 79 научных работ с высоким индексом цитирования. Официальные оппоненты не имеют совместных публикаций с соискателем.

Коллектив Федерального государственного учреждения “Федеральный исследовательский центр “Фундаментальные основы биотехнологии” Российской академии наук” Института микробиологии им. С.Н. Виноградского имеет публикации в ведущих отечественных и зарубежных научных журналах в области физиологии, экологии, генетики и биотехнологии микроорганизмов, отражающие исследования адаптивных реакций бактериальных сообществ и отдельных штаммов аэробных бактерий на присутствие в среде загрязнителей различной химической природы. Соискатель и научный консультант соискателя не работают в данной организации и не являются участниками научно-исследовательских работ, ведущихся в этой организации.

**Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:**

разработана научная концепция о значимой роли аэробных бактерий, выделенных из неисследованных ранее биоценозов, загрязнённых галогенароматическими соединениями и расположенных на территории РФ, в разложении полихлорированных бифенилов - синтетических соединений, высокоопасных для здоровья человека и окружающей среды;

предложены научные гипотезы: 1) в условиях длительного загрязнения соединениями галогенароматического ряда, аэробные бактерии подвергаются селекции, в результате которой преимущественное развитие получают штаммы, обладающие биodeградативным потенциалом в отношении химических соединений, структура которых подобна/идентична представленным в экотопе загрязнителям; 2) появление аэробных бактерий с уникальными свойствами, а именно способных осуществлять разложение полихлорированных бифенилов до соединений, используемых в центральном обмене веществ клетки, обусловлено существенными изменениями на молекулярно-генетическом уровне, произошедшими в результате длительной селекции;

доказано, что почвы, загрязненные хлорорганическими соединениями, являются источником выделения штаммов, обладающих высоким деградативным потенциалом в отношении ПХБ, в частности, штаммов родов *Microbacterium*, *Rhodococcus* и *Pseudomonas*; уникальное строение и сочетание генов/ферментов у изолированных природных штаммов обуславливает их способность к глубокой трансформации ПХБ и разложению образующихся при этом метаболитов до соединений основного обмена клетки; наличие D-плазмид в клетках бактерий-деструкторов создает основу для горизонтального переноса *bph*-генов; разложение коммерческих смесей ПХБ торговых марок Трихлорбифенил/Delor 103 и Совол (начальная концентрация 100–600 мг/л, время деструкции 8–14 сут), а также модельной смеси ПХБ (начальная концентрация 32 мг/л, время деструкции 3 сут) на 95–100% осуществляют штаммы *Rhodococcus* sp. MD1, MD2, B7a, *R. erythropolis* G12a, *R. ruber* P25, *R. wratislaviensis* KT112-7, *Microbacterium oxydans* B51 и *Pseudomonas* sp. MD8; бактериальные ассоциации, изолированные из ПХБ-загрязненных почв, разлагают Трихлорбифенил/Delor 103 (13.8 мг/л, время деструкции 8 сут) и Совол (55 мг/л, время деструкции 8 сут) на 99.38–99.97%; штаммы *R. ruber* P25 и *R. wratislaviensis* KT112-7 проявляют деградативную активность по отношению к химически модифицированным смесям ПХБ, содержащим гидрокси-, метокси-, полиэтиленгликолюкси-, аминоэтокси-хлорированные бифенилы, что может быть использовано для решения проблемы утилизации ПХБ в рамках междисциплинарного подхода, сочетающего в себе этапы химической трансформации ПХБ и бактериальной деструкции полученных производных; бактериальные культуры, перспективные для использования в биотехнологиях восстановления ПХБ-загрязненных почв: штаммы *Microbacterium oxydans* B51 и *R. ruber* P25 в условиях искусственно загрязненной почвы разлагают модельные и коммерческие смеси ПХБ в концентрации 1667–16667 ПДК (100–1000 мг/кг почвы), штаммы *Rhodococcus* sp. B7a, *R. erythropolis* G12a – 4667 ПДК (280 мг/кг почвы) ПХБ; внесение штаммов *R. wratislaviensis* KT112-7, CH625, CP628 в почву, длительное время загрязненных коммерческими смесями ПХБ в концентрации 14–

8083 ПДК (0.84–485 мг/кг почвы), обуславливает снижение содержания загрязнителя до 0.8–25 ПДК (0.048–1.5 мг/кг почвы) за три месяца;

введены уточняющие дополнения в трактовки старых понятий, а именно расширены представления о генетических структурах (генах, оперонах), обуславливающих потенциал ПХБ-деградирующих бактерий, а также о строении и свойствах ферментов штаммов рода *Rhodococcus*, осуществляющих трансформацию ПХБ и основных интермедиатов.

**Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:**

доказаны положения, расширяющие представления об аэробной бактериальной деструкции полихлорированных бифенилов; раскрыты молекулярно-генетические механизмы, обуславливающие способность штаммов родов *Rhodococcus*, *Pseudomonas* и *Microbacterium* окислять как индивидуальные конгенеры ПХБ, так и их смеси; впервые показана возможность аэробной бактериальной трансформации смесей химически модифицированных ПХБ, содержащих в молекуле гидрокси-, метокси-, полиэтиленгликолокси- и аминоэтокси-группы; применительно к проблематике диссертации эффективно использован комплекс классических микробиологических, биохимических, а также современных молекулярно-генетических и аналитических методов; изложены доказательства, подтверждающие перспективность междисциплинарного подхода, а именно сочетанного применения химической функционализации ПХБ и последующей бактериальной деструкции, в разработке методов уничтожения опасных поллютантов.

**Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:**

создана рабочая коллекция штаммов, проявляющих деградативную активность к ПХБ и их возможным метаболитам, представители которой депонированы в официальных коллекциях всероссийского и регионального уровней, а данные о последовательности генов 16S рРНК, функциональных генов и полногеномной последовательности штамма *R. wratislaviensis* КТ112-7 включены в международную базу GenBank;

разработаны и защищены патентами РФ способы ремедиации почв, загрязненных ПХБ и схожими по химической структуре поллютантами, и потенциальные агенты для данных разработок - штаммы рода *Rhodococcus*,

на основе штаммов *R. wratislaviensis* КТ112-7 (патент РФ №2548804) и *R. wratislaviensis* СН6 (патент РФ №2585537) разработан препарат «Полихлорокс» для очистки ПХБ-загрязненных почв. Результаты диссертационного исследования внедрены в учебный процесс кафедры биогеоценологии и охраны природы Пермского государственного национального исследовательского университета.

**Оценка достоверности результатов исследования выявила:**

использованы современные, адекватные поставленным задачам бактериологические, биохимические и аналитические методы, результаты экспериментов получены на сертифицированном оборудовании методами спектрофотометрии, ВЭЖХ и ГХ хромато-масс спектрометрии, молекулярно-генетические исследования проведены на современном оборудовании; эксперименты проведены не менее чем в трехкратной повторности, результаты исследований обработаны с использованием лицензионных программ, современных методов статистического анализа; идея базируется на обобщении передового международного опыта, проведено сравнение авторских данных, полученных ранее по рассматриваемой тематике для интерпретации полученных результатов; теория построена на известных, проверяемых сведениях, согласуется с опубликованными данными по теме диссертации.

**Личный вклад соискателя состоит в:**

выборе и формулировании проблемы, постановке цели и задач исследования, планировании и непосредственном участии в экспериментах, анализе фактического материала и обобщении результатов, интерпретации экспериментальных данных, участии в апробации результатов исследования, подготовке научных публикаций и патентов.

**В ходе защиты диссертации были высказаны следующие критические замечания:** потребовалось более подробно объяснить физико-химические особенности полихлорированных бифенилов, их влияние на жизнеспособность клеток, а также доступность для ферментных систем в зависимости от степени хлорирования молекулы полихлорбифенилов, раскрыть механизмы взаимодействия почвенной микрофлоры и внесенных штаммов-деструкторов, оценить перспективы дальнейшей эволюции бактериальных систем в присутствии полихлорированных бифенилов, обосновать возможность горизонтального переноса генов деструкции полихлорбифенилов, уточнить возможность кометаболизма полихлорбифенилов в присутствии более доступных источников углерода, раскрыть биологический смысл плазмидного расположения генов бифенильного оперона, сравнить рентабельность биологических методов ремедиации и физико-химических методов уничтожения полихлорированных бифенилов. Соискатель ответил на задаваемые ему в ходе заседания вопросы и привел собственную аргументацию, опираясь на полученные в работе экспериментальные результаты, а также данные, опубликованные в доступной литературе, в том числе в обзорных работах, касающихся физиологических, биохимических и генетических особенностей штаммов аэробных бактерий-деструкторов полихлорированных бифенилов, физико-химической структуры полихлорбифенилов и их производства и использования в промышленных



масштабах, применения аэробных бактерий как основных агентов природоподобных технологий.

На заседании **17 июня 2022 года** диссертационный совет принял решение за разработку теоретических положений, совокупность которых можно квалифицировать как научное достижение в области микробиологии, присудить **Егоровой Д.О.** ученую степень **доктора** биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 15 человек, из них 5 докторов наук по специальности 03.02.03 Микробиология (биологические науки), участвующих в заседании, из 21 человека, входящего в состав совета, дополнительно введены в разовую защиту 0 человек, проголосовали: за **15**, против *нет*, недействительных бюллетеней *нет*.

Зам. председателя диссертационного совета  
Д 999.219.02, д.м.н., профессор



Горовиц Эдуард Семенович

Ученый секретарь диссертационного совета  
Д 999.219.02, д.б.н.

Максимова Юлия Геннадьевна

17.06.2022