

Министерство науки и высшего образования  
Российской Федерации

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки  
Институт общей и экспериментальной биологии  
Сибирского отделения Российской академии наук  
(ИОЭБ СО РАН)

Сахьяновой М.ул., 6 Улан-Удэ г., 670047  
Тел.: 8(3012)434211, факс 8(3012)433034;  
E-mail: [ioeb@biol.bscnet.ru](mailto:ioeb@biol.bscnet.ru)  
ОКПО 03533369 ОГРН 1020300902511  
ИНН/КПП 0323039326/032301001



«УТВЕРЖДАЮ»

врио-директора ИОЭБ СО РАН

Л.Л. Убугунов

«21 мая» 2020 г.

02.11.2020 № 15535/ -01-362

На № \_\_\_\_\_

**ОТЗЫВ**

ведущей организации на диссертацию  
Вороиной Анны Олеговны

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

**Актуальность темы диссертации.** За многолетний период интенсивного использования ПХБ в промышленности (химической, нефтяной, горнодобывающей и др.) во многих странах мира огромные количества этих соединений внесены в окружающую среду, и в настоящее время загрязнение этими ксенобиотиками затрагивает всю биосферу. ПХБ в настоящее время используются в основном в электротехническом и гидравлическом оборудовании в различных отраслях промышленности (до 20 % в энергосистемах России). Несмотря на прилагаемые усилия мирового сообщества, направленные на сокращение загрязнения окружающей среды этими трудноразлагаемыми органическими соединениями, загрязнение природных экосистем бифенилами и полихлорированными бифенилами, сохраняется на высоком уровне. Бифенил, являясь компонентом нефти, каменного угля и природного газа, вызывает масштабное загрязнение окружающей среды; свою лепту в загрязнение также вносит его использование в химической промышленности для синтеза многих органических соединений. ПХБ обладают более высокой токсичностью и устойчивостью к физическим и химическим воздействиям и включены ЮНЕП в группу стойких органических загрязнителей (СОЗ). ПХБ способны накапливаться в объектах окружающей среды и передаваться через пищевые цепи; попадая в организм человека они могут вызывать негативные последствия для здоровья, влияя на иммунную, нервную, репродуктивную и эндокринную системы организма. В связи с этим проблема утилизации и очистки загрязненных территорий от данных токсикантов (бифенил/ПХБ) является чрезвычайно важной и актуальной проблемой. Диссертационная работа А.О. Вороиной, направленная на изучение молекулярно-биологических характеристик (разнообразие ключевых генов деструкции бифенила/ПХБ – *bphA1*) микробных сообществ техногенных экосистем географически удаленных областей России, загряз-

ненных стойкими органическими загрязнителями (в том числе бифенилами/ПХБ) и выделение перспективных, с точки зрения биотехнологий, активных бактерий-деструкторов бифенила/ПХБ – является значимой и актуальной.

**Достоверность и научная новизна.** Достоверность полученных результатов диссертационной работы Ворониной А.О. и сделанных на их основе выводов не вызывает сомнений. Результаты, приведенные в диссертационной работе, получены с применением комплекса аналитических, классических микробиологических, современных молекулярно-биологических и биоинформатических методов; характеризуются воспроизводимостью. Достоверность результатов подтверждается статистической обработкой данных, которые позволяют оценить обоснованность полученных результатов и выводов.

Научная новизна работы заключается в следующем: Автором впервые изучено разнообразие ключевых генов деструкции бифенила/ПХБ (*bphA1*) загрязненных территорий ряда географически удаленных промышленных регионов Российской Федерации (Чукотский автономный округ, Пермский край, Самарская область, п-ов Крым) с использованием молекулярно-генетических методов. В микробных сообществах экотопов, загрязненных бифенилом, выявлены *bphA1*-гены, гомологичные генам некультивируемых бактерий. В загрязненных экотопах Чукотского автономного округа и Пермского края обнаружены новые “*bphA1*-гены”, имеющие низкий процент сходства (68,9–90,3 %) с известными генами диоксигеназ, гидроксилирующих бензольное кольцо ароматических соединений.

В ходе исследования автором из загрязненных почв/грунтов водоемов выделены активные бактерии-деструкторы бифенила рода *Pseudomonas* и рода *Rhodococcus*, способные разлагать моно(ди)хлорированные бифенилы, и осуществляющие окисление как *орто*-, так и *пара*-хлорированных колец 2,4'-дихлорбифенилов. Такая способность изолированных штаммов разлагать бифенил и его хлорирпроизводные указывает на перспективность использования их для биотехнологических целей.

**Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций.** Обоснованность научных результатов и выводов базируется на обширном экспериментальном материале, полученном автором в собственных исследованиях. Повторность проведенных опытов – трехкратная, обработка статистических данных осуществлялась с использованием специальных пакетов программ статистической обработки. Научные положения и выводы основаны на анализе результатов представленных

ных данных и материалов собственного исследования, а также на изучении и анализе фундаментальных и прикладных научных работ отечественных и зарубежных авторов (263 литературных источника). Выводы диссертации соответствуют поставленным задачам и согласуются с основными результатами проведенного исследования.

**Значимость для науки и практики выводов и рекомендаций.** Получены новые данные о разнообразии уже известных *bphA1*-генов, а также новых «*bphA1*»-генов. Результат имеет фундаментальное значение, расширяя наши представления о роли культивируемых и некультивируемых бактерий в деградации моно(поли)ароматических соединений и их хлорпроизводных в антропогенно загрязненных экосистемах географически удаленных территорий РФ. Результаты исследования также позволяют оценить вклад представителей родов *Pseudomonas* и *Rhodococcus* в процесс разложения (хлор)ароматических соединений, в том числе бифенила и ПХБ, и восстановлении техногеннозагрязненных территорий РФ. Выделенные и охарактеризованные бактерии-деструкторы могут быть использованы при создании биотехнологий, направленных на мониторинг и восстановление загрязненных (хлор)ароматическими соединениями территорий.

**Структура и содержание диссертации, ее завершенность.** Диссертационная работа А.О. Ворониной носит завершенный характер, построена по традиционному плану и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, двух глав собственных результатов и их обсуждения, заключения, выводов, списков сокращений и цитируемой литературы, приложений. Работа изложена на 209 страницах машинописного текста, иллюстрирована 19 таблицами и 42 рисунками. Работа написана автором лично, изложена хорошим литературным языком. Список использованной литературы включает 263 наименования, из которых 228 ссылок на зарубежные источники.

Во «Введении» приводится обоснование актуальности изучаемой проблемы и проводимых исследований, а также научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы и основные положения, выносимые на защиту.

Глава «Обзор литературы», состоящая из 4 разделов и представленная на 54 страницах, свидетельствует о проведенном анализе изучаемой проблемы. Первый и второй раздел посвящен характеристике исследуемых соединений (бифенила и его хлорированных производных) и процессам их разложения (аэробного и анаэробного) микроорганизмами. В третьем разделе обзора приведена информация об аэробных

бактериях-деструкторах бифенила/ПХБ, данные систематизированы и представлены в виде таблиц. В заключительном разделе отражены сведения о молекулярно-генетических аспектах бактериальной деструкции бифенила/ПХБ, включающие информацию о метаболических путях и ключевых ферментах деструкции, а также геномах и отдельных генах, ответственных за деструкцию. Таким образом, сведения, приведенные соискателем в разделах обзора литературы, логично обосновывают цель и задачи диссертационной работы.

В экспериментальной части (Глава 2 «Материалы и методы исследования») диссертационной работы А.О. Ворониной подробно описаны использованные при выполнении исследований методы, среди которых амплификация генов в режиме реального времени (ПЦР-РВ), клонирование *bphA1*-генов, секвенирование и последующий биоинформационный анализ полученных нуклеотидных последовательностей.

Полученные автором экспериментальные данные изложены в Главе 3 «Разнообразие генов деструкции бифенила/ПХБ в микробных сообществах загрязненных экотопов» и в Главе 4 «Бактерии-деструкторы бифенила/ПХБ».

В Главе 3 приводятся результаты исследований, которые позволяют утверждать, что в микробных сообществах техногеннозагрязненных территорий географически удаленных регионов РФ присутствуют гены гидроксилирующих диоксигеназ, ответственных за разложение токсичных ароматических соединений (в т.ч. бифенила/ПХБ). Исследуемые сообщества характеризуются разнообразием *bphA1*-генов, кодирующих  $\alpha$ -субъединицу бифенил 2,3-диоксигеназы – ключевого фермента деструкции бифенила/ПХБ. В незагрязненной почве с перевала Кыртыкауш (республика Кабардино-Балкария), который можно рассматривать как контроль, гены *bphA1* не были обнаружены.

В Главе 4 представлены данные о выделенных бактериях-деструкторах бифенила/ПХБ родов *Pseudomonas* и *Rhodococcus*, характеризующихся наличием гена *bphA1*, и их подробной характеристики на морфо-физиологическом и молекулярно-генетическом уровнях. Результаты анализа деструкции хлорированных бифенилов исследуемыми бактериальными штаммами свидетельствуют о их способности эффективно разлагать моно- и дихлорированные бифенилы. Активность штаммов по отношению к хлорированным бифенилам указывает на перспективность их использования в биотехнологических целях.

В заключении отражены наиболее важные достижения диссертационной работы. Выводы, сделанные автором на основании полученных результатов, соответствуют поставленным задачам, подтверждены экспериментальными и теоретическими материалами.

**Подтверждение опубликования основных результатов диссертации в научной печати.** По теме диссертации опубликованы 16 печатных работ, в том числе 4 статьи в журналах из списка ВАК, индексируемые РИНЦ, из них 2 статьи в журналах Микробиология (Microbiology) и Генетика (Russian Journal of Genetics), индексируемые международными базами научного цитирования Web of Science и Scopus.

**Соответствие содержания автореферата основным положениям диссертации.** Содержание автореферата полностью отражает основные положения и выводы диссертационной работы.

**Достоинства и недостатки диссертационной работы, оценка научной работы соискателя в целом, замечания по работе, вопросы.**

Работа представляет собой цельное завершённое исследование. Автор продемонстрировал хорошее знание состояния проблемы в мире. Впечатляет объём освоенных методов и выполненных исследований. Работа достаточно апробирована на всероссийских и международных конференциях, представлена в печатных работах.

В то же время, при ознакомлении с диссертационной работой возникли некоторые вопросы и замечания:

- 1) С какой целью в работе проводилось определение плазмид, ведь далее не доказано, где локализованы гены, ответственные за биодegradацию бифенила/ПХБ – на плазмиде или на хромосоме у штаммов, несущих плазмиду;
- 2) Стр. 9 – не согласны с термином «микробиологический состав», на наш взгляд правильнее «состав прокариот» или «состав микробного сообщества»;
- 3) На карте (рис. 10) было бы логично дать цифровые обозначения мест отбора проб;
- 4) Нет ссылок в тексте на рис. 12 и таблицу 5;
- 5) В тексте имеются отдельные досадные опечатки (стр. 92, 116)

В целом, перечисленные замечания не существенны и не влияют на общую положительную оценку работы.

**Заключение.** Диссертация Ворониной Анны Олеговны «Разнообразие и молекулярно-биологическая характеристика бактерий-деструкторов бифенила (хлорирован-

ных бифенилов) техногенных экосистем» является завершенной научно-квалификационной работой и соответствует п. 3 «Морфология, физиология, биохимия и генетика микроорганизмов» паспорта научной специальности 03.02.03 «Микробиология».

Диссертационная работа по актуальности, новизне и значимости в полной мере удовлетворяет требованиям 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 – Воронина Анна Олеговна – заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.03 «Микробиология».

Отзыв на диссертацию А.О. Ворониной обсужден и одобрен на семинаре лаборатории микробиологии ФГБУН Институт общей и экспериментальной биологии Сибирского отделения Российской академии наук (протокол № 5 от 30 октября 2020 г.).

Сведения об организации: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт общей и экспериментальной биологии Сибирского отделения Российской академии наук» (ИОЭБ СО РАН). Адрес: 670047, г. Улан-Удэ, ул. Сахьяновой, 6.

Телефон (3012) 43-42-1, факс (3012)43-30-34

E-mail: ioeb@biol.bscnet.ru

Заведующий лабораторией  
микробиологии  
ИОЭБ СО РАН,  
кандидат биологических наук

Бархутова Дарима Дондоковна

Ученый секретарь,  
старший научный сотрудник  
лаборатории микробиологии  
ИОЭБ СО РАН,  
кандидат биологических наук

Козырева Людмила Павловна

Подписи Бархутовой Д.Д.  
Козыревой Л.П. заверяю  
ведущий специалист отдела кадров  
ИОЭБ СО РАН



Иметхенова Елизавета Дагваевна