

Облікова картка дисертації

I. Загальні відомості

Державний обліковий номер: 0823U100041

Особливі позначки: відкрита

Дата реєстрації: 26-01-2023

Статус: Захищена

Реквізити наказу МОН / наказу закладу:



II. Відомості про здобувача

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Гаврилюк Олеся Анатоліївна

2. Havryliuk Olesia Anatolyivna

Кваліфікація:

Ідентифікатор ORCID ID: Не застосовується

Вид дисертації: доктор філософії

Аспірантура/Докторантура: так

Шифр наукової спеціальності: 091

Назва наукової спеціальності: Біологія. Біологія

Галузь / галузі знань:

Освітньо-наукова програма зі спеціальності: Не застосовується

Дата захисту: 17-11-2022

Спеціальність за освітою: Біотехнології та біоінженерія

Місце роботи здобувача: Інститут мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного Національної Академії
Наук України

Код за ЄДРПОУ: 05417087

Місцезнаходження: вул. Академіка Заболотного, буд. 154, м. Київ, 03143, Україна

Форма власності:

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

III. Відомості про організацію, де відбувся захист

Шифр спеціалізованої вченої ради (разової спеціалізованої вченої ради): ДФ 26.233.002

Повне найменування юридичної особи: Інститут мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного Національної Академії Наук України

Код за ЄДРПОУ: 05417087

Місцезнаходження: вул. Академіка Заболотного, буд. 154, м. Київ, 03143, Україна

Форма власності:

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

IV. Відомості про підприємство, установу, організацію, в якій було виконано дисертацію

Повне найменування юридичної особи: Інститут мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного Національної Академії Наук України

Код за ЄДРПОУ: 05417087

Місцезнаходження: вул. Академіка Заболотного, буд. 154, м. Київ, 03143, Україна

Форма власності:

Сфера управління: Національна академія наук України

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

V. Відомості про дисертацію

Мова дисертації:

Коди тематичних рубрик: 34.27, 87.33.35

Тема дисертації:

1. Поширення купрумрезистентних мікроорганізмів та перспективи їх використання для охорони довкілля
2. Spread of copper-resistant microorganisms and prospects of their application for environmental protection

Реферат:

1. Токсичні сполуки Купруму є одними з найбільш поширених та екологічно небезпечних забруднювачів довкілля. Вони потрапляють у довкілля як у місцях родовищ, так і внаслідок промислової та побутової діяльності людини. Забруднення Купрумом згубно діє на екосистеми. Найбільш потужними джерелами забруднення Купрумом є гірнично-видобувні та гірничо-переробні підприємства, а також стічні води промислових підприємств. На сьогодні, пошук ефективних методів очищення екосистем від сполук Купруму є актуальним для збереження довкілля. Перспективною є розробка мікробних методів знешкодження сполук Купруму. Ці методи потребують виділення та вивчення мікроорганізмів, що стійкі до Купруму у високих концентраціях та здатні взаємодіяти з ним (накопичувати, відновлювати, осаджувати тощо). Скринінг екосистем на наявність таких мікроорганізмів, розуміння їх молекулярних і фізіологічних механізмів стійкості та детоксикації сполук Купруму мають пріоритетне значення для охорони довкілля. Ці знання є

необхідними для розробки природоохоронних біотехнологій очищення купрумвмісних стічних вод та забруднених Купрумом ґрунтів. Резистентні та неадаптовані до Купруму мікроорганізми можуть бути використані для розробки промислових біотехнологій. Вперше експериментально підтверджено положення термодинамічного прогнозування про можливість росту та взаємодії мікроорганізмів з розчинними сполуками Купруму(II) за його надвисоких, одномолярних (63546 мг/л Cu^{2+}) концентрацій. Вперше проведено скринінг природних екосистем п'яти географічних регіонів земної кулі (України, Антарктиди, Арктики, Ізраїлю та Південної Америки) на наявність купрумрезистентних мікроорганізмів. Показано їх широке розповсюдження та визначено кількісні показники стійкості до токсичних сполук Купруму. Виявлено, що у зразках ґрунту, глини і піску у значній кількості (від $n \times 10^2$ до $n \times 10^4$ КУО/г) присутні мікроорганізми, стійкі до Купруму у надвисоких концентраціях (1000 – 15500 мг/л) за культивування на агаризованому поживному середовищі. Виділено 9 бактеріальних купрум-резистентних штамів (*Pseudomonas lactis* UKR1, *P. panacis* UKR 2, *P. veronii* UKR 3 і UKR4, *Staphylococcus succinus* Cop98, *Pantoea agglomerans* Cop101, *Bacillus mycoides* Cop102, *B. megaterium* Cop99, *B. velezensis* Cop41) та 1 штам дріжджів (*Rhodotorula mucilaginosa* UKR5), що здатні рости у присутності 1 моль/л, тобто 63546 мг/л Cu^{2+} у рідкому поживному середовищі. Вперше секвеновано геноми чотирьох штамів *Pseudomonas lactis* UKR1, *P. panacis* UKR 2, *P. veronii* UKR 3 і UKR4, що стійкі до 1 моль/л Cu^{2+} та показано здатність *Pseudomonas lactis* UKR1 взаємодіяти зі сполуками Купруму за усіма термодинамічно допустимими шляхами: іммобілізація (акумуляція в клітинах, відновлення до нерозчинних сполук та осадження без зміни валентного стану) та мобілізація. Геномні послідовності надстійких до Купруму штамів *Pseudomonas lactis* UKR1, *Pseudomonas panacis* UKR2, *Pseudomonas veronii* UKR3 та *Pseudomonas veronii* UKR4 зареєстровані у базі даних DDBJ/ENA/GenBank з номером доступу до біопроекту PRJNA565195 та номерами доступу до геномів – VVXW000000000, VVXV000000000, VVXU000000000, VVXT000000000 відповідно. Проведено початковий скринінг геномів, що показав наявність генетичних детермінант, які кодують стійкість до Купруму – білки A, B, D, купрум-експортуюча АТФаза *copA3*, мідний шаперон *copZ*, а також двокомпонентна регуляторна система *cusRS*. Доведено здатність неадаптованого до Cu^{2+} облигатно-анаеробного водень-синтезувального штаму *Clostridium butyricum* 92 іммобілізувати Cu^{2+} з ефективністю 88,0–99,2% у концентраційному діапазоні 50 – 200 мг/л Cu^{2+} . Проте ефективність іммобілізації Cu^{2+} надстійким до Купруму штамом *P. lactis* UKR1 становила лише 18–76,8% за вихідної концентрації 200 мг/л Cu^{2+} . Вперше встановлено можливість регуляції видів взаємодії мікроорганізмів зі сполуками Купруму на прикладі штаму *P. lactis* UKR1. Доведено високу ефективність іммобілізації Cu^{2+} за відновлення до нерозчинного Cu_2O а також осадження Cu^{2+} без зміни валентного стану неадаптованими до Купруму низькопотенціальними воденьсинтезувальним та метаногенним угрупованнями. Теоретично обґрунтовано та підтверджено експериментально високу ефективність акумуляції рослинами іонів токсичних металів внаслідок їх стереохімічної аналогії з макроелементами. У вегетаційних умовах доведено ефективність використання тютюну справжнього *Nicotiana tabacum* L. сорту Djubek для вилучення сполук зазначених металів з контамінованих ґрунтів за високої вихідної концентрації кожного з металів – 500 мг/кг ґрунту.

2. Toxic copper compounds are one of the most spread and ecologically hazardous contaminants of the environment. They are released into the environment in the places of its deposits and as a result of human industrial and household activities. Environmental pollution with copper compounds has a detrimental effect on ecosystems. The most powerful sources of copper pollution are mining sites, as well as wastewater of industrial enterprises. Nowadays, the development of the effective methods of ecosystems purification is relevant for the preservation of the environment. The development of microbial methods of toxic copper detoxification is promising. These methods require the isolation and investigation of microorganisms that are resistant to copper in high concentrations and are able to interact with it (accumulate, reduce, precipitate, etc.). Screening ecosystems for the presence of such microorganisms and understanding their molecular and physiological mechanisms of resistance and detoxification of hazardous copper compounds are of priority importance for environmental protection. These knowledges are necessary for the development of environmental protection biotechnologies for the purification of copper-containing wastewater and copper-contaminated soils. The position of the

thermodynamic prognosis about the possibility of growth and interaction of microorganisms with soluble copper(II) compounds at extremely high, one-molar (63546 mg/L) concentrations was confirmed experimentally for the first time. The natural ecosystems of five geographical regions of the globe (Ukraine, Antarctica, the Arctic, Israel, and South America) were screened for the presence of copper-resistant microorganisms. Their wide distribution was shown and the quantitative parameters of resistance to toxic copper compounds were determined. It was determined that there are microorganisms in the studied samples of soil, clay and sand, resistant to copper in extremely high concentrations (1000 – 15500 mg/L) in a significant amount (from $n \times 10^2$ to $n \times 10^4$ CFU/g) during cultivation in the agar nutrient medium. Nine new copper-resistant bacterial strains (*Pseudomonas lactis* UKR1, *P. panacis* UKR 2, *P. veronii* UKR 3 and UKR4, *Staphylococcus succinus* Cop98, *Pantoea agglomerans* Cop101, *Bacillus mycoides* Cop102, *B. megaterium* Cop99, *B. velezensis* Cop41) and 1 yeast strain (*Rhodotorula mucilaginosa* UKR5) were isolated capable to grow in the presence of 1 M or 63,546 mg/L Cu^{2+} in a liquid nutrient medium. For the first time, the genomes of the four strains of *Pseudomonas lactis* UKR1, *P. panacis* UKR 2, *P. veronii* UKR 3 and UKR4 resistant to 1 mol/L Cu^{2+} were sequenced. The ability of *Pseudomonas lactis* strain UKR1 to interact with copper compounds via all thermodynamically acceptable pathways (immobilization (accumulation in cells, reduction precipitation to insoluble compounds and precipitation without valency changing) as well mobilization) was shown. Genomic sequences of highly resistant strains of *Pseudomonas lactis* UKR1, *Pseudomonas panacis* UKR2, *Pseudomonas veronii* UKR3 and *Pseudomonas veronii* UKR4 have been deposited in the DDBJ/ENA/GenBank database with bioproject accession number PRJNA565195 and genome accession numbers – VWXW000000000, VWXV000000000, VWXU000000000, VWXT000000000, respectively. Initial screening of the four genomes for genes encoding copper resistance mechanisms was shown the presence A, B, D proteins, copper-exporting ATPase copA3, copper chaperone copZ, as well as the two-component regulatory system cusRS. The ability of the unadapted to Cu^{2+} strict anaerobic hydrogen-synthesizing strain *Clostridium butyricum* 92 to adapt and immobilize Cu^{2+} with the efficiency of 88,0–99.2% in the concentration range of 50–200 mg/L Cu^{2+} has been proven. However, the efficiency of Cu^{2+} immobilization by the highly resistant to copper *P. lactis* strain UKR1 was 18.0–76.8% at the initial concentration of 200 mg/L Cu^{2+} . For the first time, the possibility of regulation of types of the microorganisms interaction with copper compounds was established on the example of *P. lactis* strain UKR1. The high effectiveness of the copper immobilization via reduction to insoluble Cu_2O as well as precipitation of Cu^{2+} without valence changing by unadapted diversified hydrogen-synthesizing and methanogenic microbial communities has been proven. The high efficiency of the toxic metals ions accumulation by plants due to their stereochemical analogy with macroelements has been theoretically substantiated and experimentally confirmed. The effectiveness of using tobacco *Nicotiana tabacum* L. variety Djubek for the removal of specified metals from contaminated soils at a high initial concentration of each metal – 500 mg/kg soil has been proven in the vegetation conditions. The copper-resistant and unadapted microorganisms can be used for the development of industrial biotechnologies.

Державний реєстраційний номер ДіР:

Пріоритетний напрям розвитку науки і техніки:

Стратегічний пріоритетний напрям інноваційної діяльності:

Підсумки дослідження:

Публікації:

Наукова (науково-технічна) продукція:

Соціально-економічна спрямованість:

Охоронні документи на ОПВ:

Впровадження результатів дисертації:

Зв'язок з науковими темами:

VI. Відомості про наукового керівника/керівників (консультанта)

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Говоруха Віра Михайлівна
2. Hovorukha Vira M.

Кваліфікація: к. б. н., 03.00.07

Ідентифікатор ORCID ID: Не застосовується

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи:

Код за ЄДРПОУ:

Місцезнаходження:

Форма власності:

Сфера управління:

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Марійчук Руслан Тарасович
2. Mariychuk Ruslan T.

Кваліфікація: к. х. н., 02.00.01

Ідентифікатор ORCID ID: Не застосовується

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи:

Код за ЄДРПОУ:

Місцезнаходження:

Форма власності:

Сфера управління:

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

VII. Відомості про офіційних опонентів та рецензентів

Офіційні опоненти

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Козировська Наталія Олексіївна
2. Kozyrovska Natalia O.

Кваліфікація: к. б. н., 03.00.03

Ідентифікатор ORCID ID: Не застосовується

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи:

Код за ЄДРПОУ:

Місцезнаходження:

Форма власності:

Сфера управління:

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Іваниця Володимир Олексійович

2. Ivanitsya Volodymyr O.

Кваліфікація: д. б. н., 03.00.07

Ідентифікатор ORCID ID: Не застосовується

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи:

Код за ЄДРПОУ:

Місцезнаходження:

Форма власності:

Сфера управління:

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

Рецензенти

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Курдиш Іван Кириллович

2. Kurdish Ivan Kyrylovych

Кваліфікація: д. б. н., 03.00.20

Ідентифікатор ORCID ID: Не застосовується

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи:

Код за ЄДРПОУ:

Місцезнаходження:

Форма власності:

Сфера управління:

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Білявська Людмила Олексіївна
2. Biliavska Liudmyla O.

Кваліфікація: д. б. н., 03.00.07

Ідентифікатор ORCID ID: Не застосовується

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи:

Код за ЄДРПОУ:

Місцезнаходження:

Форма власності:

Сфера управління:

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

VIII. Заключні відомості

**Власне Прізвище Ім'я По-батькові
голови ради**

Патика Володимир Пилипович

**Власне Прізвище Ім'я По-батькові
головуючого на засіданні**

Патика Володимир Пилипович

**Відповідальний за підготовку
облікових документів**

Реєстратор

**Керівник відділу УкрІНТЕІ, що є
відповідальним за реєстрацію наукової
діяльності**



Юрченко Т.А.