

Облікова картка дисертації

I. Загальні відомості

Державний обліковий номер: 0823U100405

Особливі позначки: відкрита

Дата реєстрації: 23-06-2023

Статус: Захищена

Реквізити наказу МОН / наказу закладу:



II. Відомості про здобувача

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Дімова Марія Іванівна

2. Dimova Mariia Ivanivna

Кваліфікація:

Ідентифікатор ORCID ID: Не застосовується

Вид дисертації: доктор філософії

Аспірантура/Докторантура: так

Шифр наукової спеціальності: 091

Назва наукової спеціальності: Біологія та біохімія

Галузь / галузі знань:

Освітньо-наукова програма зі спеціальності: Не застосовується

Дата захисту: 18-05-2023

Спеціальність за освітою: Біологія

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 26.233.003

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

Тема дисертації:

1. Мікробіоценози забруднених гексахлорбензолом ґрунтів України та шляхи їх біоремедіації
2. Microbiocenoses of hexachlorobenzene contaminated soils in Ukraine and its bioremediation measures

Реферат:

1. Мікробіоценози чорноземного, темно-каштанового та дерново-підзолистого ґрунтів чутливі до впливу гексахлорбензолу. Чисельність бактерій еколого-функціональних груп за експериментального забруднення дозою ГХБ 10 гранично допустимих концентрацій (ГДК) знижувалась на 10 – 15% порівняно з незабрудненим контролем у всіх трьох типах ґрунтів. За дії найвищої дози забруднення 10 000 ГДК чисельність мікрорганізмів знижувалась на 50 – 90%, від контролю. За дії 10000 ГДК ГХБ швидкість базального дихання зменшувалась у чорноземному, темно-каштановому та дерново-підзолистому ґрунтах відповідно на 50, 47, 36%. За додавання енергетичного субстрату (глюкози) зростала активність субстрат-індукованого дихання, що свідчило про підвищення фізіологічної активності мікроорганізмів. За найбільшого забруднення 10000 ГДК швидкість субстрат-індукованого дихання знижувалась порівняно з контролем у чорноземному та темно-каштановому ґрунтах втричі, дерново-підзолистому – у 2,6 рази. Із ґрунту полігону захоронення

хлорорганічних відходів було ізольовано бактеріальні культури № 46 і 47, резистентні до ГХБ і здатні до його деструкції. За морфологічними ознаками ізоляти № 46 і 47 є грамнегативними паличками розмірами $0,4 \times 2,5$ мкм і $0,3 \times 2,1$ мкм, відповідно. Встановлено наступні фізіолого-біохімічні властивості досліджуваних ізолятів: аеробні, каталазопозитивні та оксидазопозитивні, здатні до підлучення лактату та сукцинату, проявляють тірозинариламідазну, пірролідон-ариламідазну активності, нездатні асимілювати малонат, цитрат натрія, глюкозу, лактозу, трегалозу та інші цукри, відсутня продукція сірководню. Хемотаксономічні властивості було визначено за спектром жирних кислот загальних клітинних ліпідів. Виявлення у жирнокислотному спектрі обох ізолятів таких маркерних кислот, як 2-гідроксигексадеканової (C16:0 2ОН) та 3-гідроксидеканової (C10:0 3ОН) у межах 2 – 5% від загального вмісту жирних кислот, підтвердили їх приналежність до представників роду *Comamonas*. Характерним для виду *C. testosteroni* є вміст (2 – 7%) 2-гідроксигексадеканової (C16:0 2ОН), тетрадеканової (C14:0) (< 1%) кислот. Філогенетичний аналіз генів послідовності 16S рРНК показав, що ізолят № 47 має подібність на 98,05 до штаму *Comamonas testosteroni* LMG 1800 (депонований референтний штам у базі GenBank), а ізолят № 46 споріднений до *Comamonas testosteroni* LMG 1800 на 97,77%, що дає підстави віднести ці два ново виділені штами до виду *Comamonas testosteroni*. Штами зареєстровано в Українській колекції мікроорганізмів під номерами УКМ В-400 та В-401, депоновано у базі GenBank під номерами MW861636 та MW861637. Також було проведено вивчення їх здатності до деструкції цього пестициду. Після 7-ми добового культивування у рідкому середовищі LB з додаванням 10, 20 і 50 мг/л ГХБ, його концентрації зменшились відповідно у культуральній рідині *C. testosteroni* УКМ В-400 на 70,2%, 64,0%, 58,5%, а *C. testosteroni* УКМ В-401 – на 70,1%, 68,7%, 56,2%. Отже, нами вперше встановлено здатність представників виду *C. testosteroni* знижувати концентрацію ГХБ. Індекс ненасиченості ліпідів мембрани для штамів *C. testosteroni* УКМ В-400 і В-401 у чистому контролі культури становив 0,52 і 0,6, а за дії дози 20 мг/л ГХБ знизився відповідно до 0,36 і 0,56. Фізіологічна реакція *C. testosteroni* В-400 і В-401 на присутність ГХБ відрізнялася більш високим порівняно з контролем вмістом у бактеріальних клітинах первинних продуктів перекисного окиснення ліпідів – дієнових кон'югатів (за дози 20 мг/л ГХБ у штаму В-400, а у штаму В-401 – у всіх дослідних варіантах). Вміст вторинних продуктів – триєнових кон'югатів і третинних продуктів – основ Шиффа був значно значно нижчим за токсичного навантаження ГХБ, що свідчить про активацію механізмів резистентності. У вегетаційних дослідах з експериментальним забрудненням ґрунту було показано, що внесення культуральної рідини досліджуваних штамів позитивно впливало на розвиток рослин томатів, що підтверджувалося підвищенням усіх біометричних показників. У варіантах із ГХБ забрудненням з подальшою інтродукцією культуральної рідини бактерій стійкість до *Clavibacter michiganensis* УКМ Ас-629 підвищувалась на 8 – 16%. Стійкість томатів до *Alternaria alternata* УКМ F-16866 у варіантах з біоаугментацією незабрудненого ґрунту зростала на 32%, від контролю з незабрудненим ґрунтом. Рівень ураження мікозом листя томатів у варіантах із біоаугментацією забрудненого ГХБ ґрунту зменшився на 20 – 28%, порівняно з забрудненим контролем, де штами не було застосовано. У польових умовах після застосування комплексної біоремедіації кукурудзи-ремедіанта та штаму *C. testosteroni* УКМ В-400 протягом вегетаційного періоду, зниження вмісту ГХБ у ґрунті становило 82%, у варіанті з монокультурою *C. testosteroni* УКМ В-400 – 70%, а застосування фіторемедіанта дало зниження на 27,3%.

2. The microbiocenoses of chernozem, dark-kastanozem, and sod-podzolic soils are sensitive to the hexachlorobenzene influence. The number of ecologically functional groups of bacteria was reduced by 10-15% compared to the control in all three types of soil under experimental contamination with HCB dose of 10 maximum permissible concentrations (MPC). Under influence of the highest HCB dose (10 000 MPC) the microbial quantity was decreased by 50 – 90% of the control. Under the action of 10,000 MPC HCB, the rate of basal respiration decreased by 50, 47, and 36%, respectively, in chernozem, dark-kastanozem, and sod-podzolic soils. With the addition of glucose, the substrate-induced respiration activity increased, which indicated an increase in the physiological activity of microorganisms. At the highest level of pollution with 10,000 MPC, the rate of substrate-induced respiration decreased three times compared to the control in chernozem and dark-kastanozem soils, and 2.6 times in sod-podzolic soils. Bacterial cultures 46 and 47 were isolated from organochlorine wastes landfill to

show resistance to HCB and the ability to decompose it. According to morphological properties, isolates # 46 and # 47 are aerobic gram-negative rods with sizes $0.4 \times 2.1 \mu\text{m}$ and $0.3 \times 2.1 \mu\text{m}$, respectively. Aerobic, catalase-positive and oxidase-positive. Following biological properties were established: ability to alkalize lactate and succinate, tyrosine arylamidase, pyrrolidone-arylamidase activities, inability to assimilate malonate, sodium citrate, glucose, lactose, trehalose and other sugars, inability to hydrogen sulfide production. Detection of such marker acids as 2-hydroxyhexadecanoic (C16:0 2OH) and 3-hydroxydecanoic (C10:0 3OH) in the fatty acid spectrum of both isolates # 46 and # 47 in the 2 – 5% range from the total fatty acids content confirmed its belonging to representatives of the genus *Comamonas*. *Comamonas testosteroni* is characterized by the content (2 – 7%) of 2-hydroxyhexadecanoic (C16:0 2OH), tetradecanoic (C14:0) (< 1%) acids. Phylogenetic analysis of the 16S rRNA sequence genes showed that isolate #47 is similar up to 98.05% to *Comamonas testosteroni* strain LMG 1800 (deposited reference strain in the GenBank database), and isolate #46 is related to *Comamonas testosteroni* LMG 1800 to 97.77%, to give reasons to attribute these two newly isolated strains belong to the species *Comamonas testosteroni*. The strains are registered in the Ukrainian Collection of Microorganisms under numbers UCM B-400 and B-401, deposited in the GenBank database under numbers MW861636 and MW861637. The ability to degrade this pesticide was studied. The ability of *C.testosteroni* UCM B-400, B-401 to decompose HCB was revealed, which is evidenced by this pesticide residual concentrations compared to the initial content in the culture liquid. After 7 days cultivation in a liquid LB medium with the HCB addition in the concentrations: 10, 20 and 50 mg/l, the corresponding decrease was for *C.testosteroni* UCM B-400 by 70.2%, 64.0%, 58.5 %, and for *C.testosteroni* UCM B-401 – 70.1%, 68.7%, 56.2%. The membrane lipid unsaturation index for *C. testosteroni* UCM B-400 and B-401 strains in pure culture control was 0.52 and 0.6, and under the influence with 20 mg/l HCB dose decreased to 0.36 and 0.56 respectively. The physiological reaction of *C. testosteroni* B-400 and B-401 to the HCB presence was higher compared to the control by the content of primary products of lipid peroxidation – diene conjugates in bacterial cells (at a dose of 20 mg/l of HCB in the B-400 strain, and in the B-401 strain – in all experimental variants). The content of secondary products – triene conjugates and tertiary products – Schiff bases were significantly lower than the toxic load of HCB, which indicates the activation of resistance mechanisms. In vegetation experiments with experimental soil contamination, it was shown that the introduction of culture liquid of the studied strains had a positive effect on the development of tomato plants, which was confirmed by an increase in all biometric indicators. In variants with HCB contamination with the subsequent introduction of bacterial culture liquid, an increase in resistance to *Clavibacter michiganensis* UCM As-629 was observed to 8 – 16 %. Resistance to *Alternaria alternata* UCM F-16866 in variants with bioaugmentation of uncontaminated soil was up to 32%. It was also observed that the resistance of tomato leaves in variants with bioaugmentation of HCB-contaminated soil also increased to 20 – 28%, compared to the contaminated control, without strains applying. In the field conditions as a result of the application of complex bioremediation of the remediator corn variety Olena and the strain *C. testosteroni* UCM B-400, the decrease in the HCB concentration in the soil was 82%, in the variant with the monoculture of *C. testosteroni* UCM B-400 – 70%, and the using phytoremediator resulted in a decrease to 27,3%.

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 ОПІВ:

Впровадження результатів дисертації:

Зв'язок з науковими темами:

VI. Відомості про наукового керівника/керівників (консультанта)

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Іутинська Галина Олександрівна
2. Iutinska Galina Oleksandrivna

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

VII. Відомості про офіційних опонентів та рецензентів

Офіційні опоненти

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Копилов Євген Павлович
2. Kopylov Yevhen Pavlovych

Кваліфікація: д.б.н., 03.00.16, 03.00.16

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. Гнатуш Світлана Олексіївна

2. Hnatush Svitlana Oleksijivna

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

Рецензенти

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Патика Володимир Пилипович

2. Patyka Volodymyr P.

Кваліфікація: д.б.н., 03.00.07, 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. Громозова Олена Миколаївна

2. Gromozova Olena Mikolaivna

Кваліфікація: д. б. н., 03.00.14

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**

Підгорський Валентин Степанович

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

Підгорський Валентин Степанович

**Відповідальний за підготовку
облікових документів**

Реєстратор

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



Юрченко Т.А.