

## ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу Пуликовой Елизаветы Петровны «Микробная трансформация азота в техногенно нарушенных почвах чернозёмной зоны юга России», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.19. Почвоведение (биологические науки) и 1.5.15. Экология (биологические науки)

**Актуальность темы диссертационного исследования.** Экологическое благополучие районов угледобычи и переработки минерального сырья в значительной мере обусловлено присутствием почвоподобных образований: эмбриозёмов и хемозёмов, формирующихся естественным путём, а также технозёмов, искусственно созданных путём нанесения на грунт потенциально плодородных пород. Среди них заслуживают внимания рыхлые суглинистые отложения вскрыши каменноугольных разрезов, например покровных лессовидных, в том числе карбонатных суглинков. Лессовидные суглинки в рекультивации рассматриваются как потенциально плодородные породы (Андроханов, Куляпина, Курачев, 2004). Продуктивные свойства почвоподобных образований в значительной мере зависят от наличия в корнеобитаемом слое растений аммиачной и нитратной формы азота. Несмотря на высокий кларк концентрации азота в углях (Перельман, 1972), в почвоподобных телах с наследуемыми углистыми частицами наблюдается недостаток доступного растениям азота. Это вызвано многими причинами: дефицитом аммиака, продуцируемого аммонификаторами, в том числе из ослабленной фиксации азота атмосферы азотфиксаторами; недостатка нитратов из-за низкого содержания возбудителей нитрификации и их ослабленной нитрификационной активности; использованием нитратов денитрификаторами в качестве акцептора электронов для энергообеспечения клеток. В свою очередь, переход нитратов в восстановленные формы азота (например, аммиака) или атомарного азота способствует его эмиссии, возврату в окружающую среду и возможности быть вновь связанным диазотрофами, что чрезвычайно важно для круговорота биофильного элемента. Однако метаболическая активность азотфиксаторов, аммонификаторов, нитрификаторов и денитрификаторов в техногенных экосистемах изучена недостаточно, также как и исследования разнообразия исполнителей этих процессов, экологических и трофических особенностей микробиомов. Это касается и продукции азотной кислоты, образуемой в ходе нитрификации, что важно для высвобождения элементов минерального питания растений из первичных минералов. До сих пор не ясна агрономическая и санитарная роль нитрификаторов на стадии первичного почвообразования, особенно жизнедеятельных особей, как и денитрификаторов *in situ*. Следует сказать, что проблема продуктивности нитрификации привлекает внимание учёных разных стран, в том числе России, исследования этих процессов идут с 18 века. Появляются новые факты о роли нитратов в метаболизме растений и денитрификаторов, их значимости в биохимическом цикле азота формирующихся почвенных экосистем.

Эмбриозёмы и технозёмы углеотвалов и шламонакопителей, как современные объекты локации новообразования почв в техногенных ландшафтах Ростовской области – не исключение. Азот – это элемент с переменной валентностью (от -3 до +5), что обуславливает его подвижность и биофильность. Поэтому исследования миграции азота во вновь формирующихся почвенных экосистемах техногенных ландшафтов на юге России актуальны.

Известно, что на поверхности вскрышных и вмещающих пород в районах угледобычи Кузбасса, КАТЭКа, Западного и Восточного Урала пул жизнеспособных микроорганизмов, участвующих в азотфиксации, аммонификации, нитрификации и денитрификации диагностируется в первое десятилетие освоения. Априори эта тенденция присуща и сообществу данных микроорганизмов в техногенных экосистемах Восточного Донбасса. Однако многие аспекты биогеохимии азота во вновь образуемых почвенных экосистемах в окружении почв чернозёмного типа не раскрыты, требуют комплексного подхода и экологической «привязки», поскольку главные процессы в геохимии азота – окислительно-восстановительные микробиологические. А возбудители конкретных процессов преобразования соединений азота в среде обитания чрезвычайно чувствительны к изменению рН, присутствию органического углерода, тяжёлых металлов и других экотоксикантов, аэрации, гидротермическим условиям. В этой связи, полученные диссертантом сведения о разнообразии жизнеспособных аммонификаторов, нитрификаторов и денитрификаторов, присутствующих в техногенных местообитаниях на территории Ростовской области, являются новыми и своевременными. Они углубляют знания об экологии возбудителей этих процессов, об адаптации нитрозных и нитробактерий к техногенному загрязнению, о генетическом потенциале их устойчивости к ряду тяжёлых металлов и ПАУ. Такая информация важна для понимания мобильности азота в пределах углеотвалов и прогнозирования его поведения в ходе почвообразования. Особого внимания заслуживают сведения о заселении почвоподобных тел хемолитотрофными и гетеротрофными нитрификаторами, а также денитрификаторами, их участии в бактериальном закреплении С- и N-, в продуцировании летучих органических соединений, что расширяет знания об эмиссии аммиака, молекулярного азота, закиси азота микробного происхождения в техногенных ландшафтах.

**Обоснованность и достоверность научных положений, выводов и рекомендаций.** Набор современных методов идентификации микроорганизмов в почвоподобных образованиях угольных отвалов и шламонакопителе, как и определения геохимического состава сред обитания возбудителей процессов трансформации азота совпадает с таковым для анализа зрелых полнопрофильных почв чернозёмной зоны юга России. Это позволило автору диагностировать комбинации жизнеспособных видов в сообществах микроорганизмов разного генетического потенциала. Научные положения, вынесенные на защиту, являются обоснованными применительно к почвам Ростовской области и подтверждаются большим объемом экспериментальных данных. Предложенное автором использование консорциума денитрифицирующих бактерий, деградирующих ПАУ, и автотрофных нитрификаторов для увеличения эффективности ремедиации техногенно нарушенных почв за счет образования нитрата как акцептора электронов, логично, аргументировано, подкреплено убедительными фактами и может быть рекомендовано для разработки природоподобных технологий рекультивации в регионе.

**Научная новизна и практическая значимость работы.** Впервые для техногенных почв Ростовской области проведен сравнительный анализ консорциумов микроорганизмов, участвующих в аммонификации, нитрификации и денитрификации. Диссертантом получены новые сведения о взаимозависимости процессов аммонификации и нитрификации, нитрификации и денитрификации. При этом автор акцентирует особое внимание на роль потоков аммиака и нитратов в «зарождении» малого круговорота азота в техногенных ландшафтах.

Диссертантом решены поставленные задачи по изучению биоразнообразия жизнеспособного пула микробов, потенциально участвующих в трансформации азотистых соединений в разных экологических условиях на полигонах угледобычи в Ростовской области. Выявлены генетические особенности устойчивости микроорганизмов к тяжёлым металлам и ПАУ. Полученные новые сведения должны быть учтены при разработке технологий ускоренного восстановления биологической активности в корнеобитаемом слое формирующихся почв в условиях техногенеза.

**Объем и структура диссертации.** Диссертационная работа состоит из введения, 7 глав, выводов, списка литературы, приложения. Работа изложена на 143 страницах, содержит 15 таблиц, 35 рисунков. Список литературы включает 292 источника, из них 269 на иностранных языках. Полученный материал апробирован на различных отечественных конференциях, в том числе международного уровня.

**Анализ диссертации по главам.** Первая глава диссертации (стр. 11 - 28) посвящена обзору научной литературы (преимущественно зарубежной) по теме исследования и включает анализ информации о техногенном загрязнении на микроорганизмы, осуществляющие минерализацию азотсодержащих органических соединений.

Во второй главе «Объекты исследования» (стр. 28 - 32) представлена характеристика исследованных участков на поверхности углеотвалов и бывшего шламонакопителя, а также сведения о модельном эксперименте, наборе испытанных микроорганизмов – деструкторах ПАУ и нитрификаторах.

Глава три (стр. 33-44) посвящена методам исследования, обоснованию предпочтительности использования тех или иных методик. В работе подробно излагаются традиционные и современные подходы определения физико-химических, агрохимических, микробиологических свойств почвоподобных образований. Представлена информация о способе выделения денитрификаторов-деструкторов ПАУ, а также о применении метода метагеномики, набора программ статистической обработки данных.

В главе 4 (стр. 45-54) приводится характеристика физических, химических свойств исследованных почвоподобных образований и эволюционно сложившихся почвах-чернозёме обыкновенном карбонатном и лугово-чернозёмной почве. Приводятся сведения о сульфатном и сульфатно-хлоридном засолении почвоподобных тел, последствии лессовидного суглинка в рекультивационных целях, содержании в них тяжёлых металлов и ПАУ.

Глава 5 (стр. 53-71) информирует о результатах анализа активности и численности микроорганизмов, вовлечённых в процессы аммонификации, нитрификации и денитрификации в новообразуемых почвах на поверхности углеотвалов. Представлены данные о содержании жизнеспособных клеток аммонифицирующих, нитрозных и денитрифицирующих микроорганизмов, ферментативной активности. Представлена метагеномная оценка микробных сообществ в техногенных экосистемах. Рассматривается связь микробиологических показателей с почвенными свойствами.

Глава 6 (стр. 72-99) посвящена выявлению влияния длительного и краткосрочного загрязнения хемозёмов тяжёлыми металлами на интенсивность нитрификации на поверхности бывшего шламонакопителя. Анализируется активность нитрификации в незагрязнённых и загрязнённых почвах: активность образования нитрита и нитрата из разных источников N: аммония, нитропропана и пировиноградного оксима. Обилие

нитрифицирующих микроорганизмов сравнивается на уровне филумов и порядков в хемоземах шламонакопителя и лугово-черноземной почве. Приводятся гены, ответственные за нитрификацию в собранных геномах бактерий лугово-черноземных почв и хемоземов: гены представителей автотрофной нитрификации и гены гетеротрофных нитробактерий. Сравниваются также гены, обеспечивающие фиксацию  $\text{CO}_2$  в собранных геномах нитрификаторов в незагрязненных и загрязненных почвах. В модельном эксперименте испытано краткосрочное воздействие Zn на активность нитрификации.

Глава 7 (стр.90-99) раскрывает участие нитрифицирующих и денитрифицирующих микроорганизмов в деградации ПАУ. Диссертант впервые демонстрирует метагеном накопительной культуры нитрификаторов, приводит анализ генов денитрификатора-деструктора ПАУ.

Полученные результаты автора удачно продемонстрированы на рисунках, данные обработаны статистически, не вызывают сомнения. Выводы диссертанта базируются на достоверной информации и соответствуют поставленным задачам.

**Тем не менее, к работе имеются некоторые вопросы и замечания:**

1. Автор хорошо владеет иностранной литературой по теме исследования, но, к сожалению, не использует сведения исследователей отечественных академических школ по изучению аммонификации, нитрификации, денитрификации эмбриозёмов и технозёмов других регионов России, в том числе Донбасса, Урала, Сибири. Например, в Институте почвоведения и агрохимии СО РАН (Новосибирск) подобные работы проводятся с прошлого века. Вопросами метагеномики микроорганизмов, в том числе деструкторов ПАУ техногенных экосистем многие годы занимаются в академических институтах Урала. Особенности микробных сообществ, участвующих в пополнении азота в техногенных экосистемах районов угледобычи, посвящены многочисленным работам украинских учёных советского и постсоветского периода, но диссертант не ссылается на них. Сравнительный анализ полученных автором данных с результатами других исследователей увеличил бы ценность работы. Желательно было бы сослаться на работы отечественных микробиологов, например С.И. Виноградского - основателя работ по нитрификации, а также классиков отечественной геохимии и экологической микробиологии - М.А. Глазовской, Т.В. Аристовской, Е.Н. Мишустина.

2. В диссертации отсутствуют ссылки на собственные отечественные публикации, хотя диссертант активно апробировал свои результаты внутри страны на разных конференциях. Помимо этого, по ходу текста диссертации приводятся ссылки лишь на некоторые работы, опубликованные на английском языке в иностранных журналах.

3. К сожалению, в работе отсутствует анализ физико-химических свойств лессовидного суглинка, не акцентировано внимание на его мощность в разных позициях склона, на возможное влияние подстилающей породы, проявляющей признаки наследования в эмбриозёме.

4. Не ясно из текста происхождение лессовидного суглинка. Автор пишет, что «...он имеет низкое содержание Сорг, потому что суглинок изъят из горизонта С». Возникает вопрос, каким образом?

5. В Приложении представлено высокое содержание Са и Mg в суглинке. Как они повлияли на нитрификацию в склоновых позициях? И проявили ли себя, как антагонисты Zn и Cu?

6. Значения рН формирующихся почв на поверхности угольного отвала шахты «Майская» варьировали в широких пределах от 4,04 до 8,80. С какими минералами это может быть связано? Почему на фоне подкисления эмбриозёма в подножье отвала проявились высокие показатели содержания углерода -  $C_{орг}$  и  $C^{700}$ ?

7. В главе 5 диссертант назвал рис. 8 и 9, как «обилие аммонификаторов и денитрификаторов», но на самих рисунках представил «численность», что не корректно в том и другом случае, поскольку речь идёт не о жизнедеятельных микроорганизмах, а о жизнеспособных. Диссертант приводит число КОЕ (колониеобразующих единиц) жизнеспособных зачатков на питательной среде, а в реальной обстановке, диссертант численность не определял. Данные прямого микроскопирования отсутствуют. Поэтому термин «обилие» и термин «численность» не удачны. Это относится и к названию главы 5 «...численность микробиоты...».

Отмеченные замечания и вопросы ни в коей мере не подвергают сомнению достоверность результатов и выводов рассматриваемой диссертации, носят преимущественно рекомендательный характер.

**Общее заключение.** Диссертация Пуликовой Е.П. является законченным научно-исследовательским трудом, выполненным автором самостоятельно на высоком научном уровне. Полученные результаты, сделанные выводы и сформулированные положения научно обоснованы, достоверны, подтверждены значительным фактическим материалом и его статистической обработкой, имеют существенную научную значимость и практическую ценность. Работа соответствует уровню требований, предъявляемых к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук. Автореферат диссертации достаточно полно отражает содержание диссертации.

Диссертационная работа и автореферат отвечают требованиям «Положения о присуждении ученых степеней в ЮФУ» (№66-ОД от 29.03.2024 г.), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор, Пуликова Елизавета Петровна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.19. Почвоведение (биологические науки) и 1.5.15. Экология (биологические науки).

**Официальный оппонент:**

Официальный оппонент: **Андроханов Владимир Алексеевич**,  
Доктор биологических наук по специальности 03.00.27 – Почвоведение (биологические науки), директор Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт почвоведения и агрохимии СО РАН».

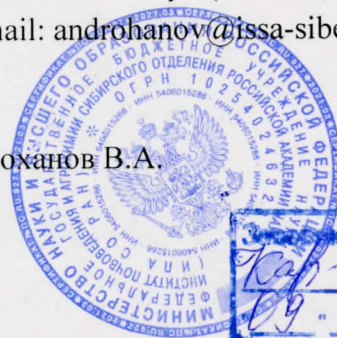
09 сентября 2025 г.

Адрес места работы:

630090, Россия, Новосибирск, пр. Академика Лаврентьева, 8/2. Института почвоведения и агрохимии Сибирского отделения Российской академии наук (ИПА СО РАН)

Тел: +7 (383) 363-90-25, +7(903) 997-82-10; e-mail: androhanov@issa-siberia.ru

Андроханов В.А.



Зав. канцелярией  
Коп - Казакова СВ  
09.09.25