

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА

ЮФУ801.01.13,

созданного на базе Академии биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского
федерального государственного автономного образовательного
учреждения высшего образования «Южный федеральный университет»,
по диссертации на соискание ученой
степени кандидата наук

*аттестационное дело № _____
решение диссертационного совета
от 29 сентября 2025 года № 13*

О присуждении Пуликовой Елизавете Петровне, гражданство РФ, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Микробная трансформация азота в техногенно нарушенных почвах черноземной зоны юга России» по специальностям 1.5.19. Почвоведение (биологические науки) и 1.5.15. Экология (биологические науки) принята к защите 25 июля 2025 г. (протокол заседания № 3) диссертационным советом ЮФУ801.01.13, созданным на базе Академии биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Южный федеральный университет», в соответствии с приказом № 239-ОД от 07.07.2025 г.

Соискатель Пуликова Елизавета Петровна, 1997 года рождения, в 2019 г. окончила бакалавриат очной формы обучения федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Южный федеральный университет» по направлению «Биология», в 2021 г. окончила с отличием магистратуру очной формы обучения федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Южный федеральный университет» по направлению 06.04.01 Биология. В 2021 году поступила в аспирантуру очной формы обучения федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Южный федеральный университет» по направлению 06.06.01 – Биологические науки, специальность 1.5.19. Почвоведение, где обучается по настоящее время. С 2021 по настоящее время работает младшим научным сотрудником лаборатории «Биоинженерия почв» Академии биологии и медицины им. Д.И. Ивановского

федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Южный федеральный университет», Минобрнауки России.

Диссертация выполнена на кафедре почвоведения и оценки земельных ресурсов Академии биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Южный федеральный университет», Минобрнауки России.

Научный руководитель – **Минкина Татьяна Михайловна**, доктор биологических наук, профессор, федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Южный федеральный университет», Академия биологии и медицины им. Д. И. Ивановского, кафедра почвоведения и оценки земельных ресурсов, заведующий; **Горовцов Андрей Владимирович**, кандидат биологических наук, федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Южный федеральный университет», Академия биология и медицины им. Д.И. Ивановского, кафедра биохимии и микробиологии, доцент.

Официальные оппоненты:

1. **Степанов Алексей Львович**, доктор биологических наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», кафедра биологии почв, заведующий;

2. **Андроханов Владимир Алексеевич**, доктор биологических наук, федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт почвоведения и агрохимии СО РАН», директор.

дали **положительные отзывы** на диссертацию.

Соискатель имеет 40 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации опубликовано 15 работ, из них в научных изданиях, входящих в базы данных международных индексов научного цитирования Scopus и/или Web of Science, опубликовано 6 работы. Общий объем опубликованных работ 17 печатных листов, из которых вклад автора 10,2 печатных листа. В диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных соискателем научной степени работах.

Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:

1. Heterotrophic nitrification in soils: Approaches and mechanisms / E. P. Pulikova, A. V. Gorovtsov, Ya. Kuzyakov [et al.] // *Soil Biology and Biochemistry*. – 2025. – Vol. 202. – P. 109706. – DOI 10.1016/j.soilbio.2024.109706. K1

2. Effects of bulk forms and nanoparticles of zinc and copper oxides on the abundance, nitrogen cycling and enzymatic activities of microbial communities, morphometric parameters and antioxidant status of *Hordeum vulgare* L. / E. P. Pulikova, F. D. Ivanov, I. A. Alliluev [et al.] // *Environmental Geochemistry and Health*. – 2024. – Vol. 46, No. 12. – P. 494. – DOI 10.1007/s10653-024-02258-y. K1

3. Soil physicochemical and microbial properties affect nitrogen cycling in technogenically transformed coal dump soils / E. P. Pulikova, K. A. Demin, F. D. Ivanov [et al.] // *Applied Soil Ecology*. – 2024. – Vol. 202. – P. 105562. – DOI 10.1016/j.apsoil.2024.105562. K1

4. New Approaches for Assessing the Transformation of Soil Microbial Communities in the Soil Surface Horizons of Rostov-on-Don / E. P. Pulikova, F. D. Ivanov, E. S. Lacynnik [et al.] // *Eurasian Soil Science*. – 2025. – Vol. 58, No. 5. – P. 1-10. – DOI 10.1134/S106422932460386X. K1

5. Microbiological status of natural and anthropogenic soils of the Taganrog Bay coast at different levels of combined pollution with heavy metals and PAHs / E. P. Pulikova, F. Ivanov, A. V. Gorovtsov [et al.] // *Environmental Geochemistry and Health*. – 2023. – Vol. 45, No. 12. – P. 9373-9390. – DOI 10.1007/s10653-022-01405-7. K1

6. Pulikova, E. P. Nitrogen cycling processes in urban soils: stocks, fluxes, and microbial transformations / E. P. Pulikova, A. V. Gorovtsov // *Soils in Urban Ecosystem* / A. Rakshit, S. Ghosh, V. Vasenev, H. Pathak, V. D. Rajput (eds.). – Singapore: Springer Nature, 2022. – P. 101-135. – DOI 10.1007/978-981-16-8914-7_6. – URL: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-981-16-8914-7_6

На диссертацию и автореферат поступило **18** отзывов. Все отзывы положительные. В отзывах подчеркнута актуальность, оригинальность, научная новизна исследования, его теоретическая и практическая значимость.

Отзывы поступили от: д.с.-х.н., доцента кафедры почвоведения, профессора кафедры агрохимии и почвоведения федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Омский государственный аграрный университет имени П.А. Столыпина» **Азаренко Юлии Александровны**; д.с.-х.н., профессора, заведующего кафедрой агрохимии и почвоведения профессор, заведующий кафедрой агрохимии и почвоведения, Учреждения

образования «Белорусская государственная сельскохозяйственная академия» **Персиковой Тамары Филипповны** и к.с.-х.н., доцента кафедры агрохимии и почвоведения Учреждения образования «Белорусская государственная сельскохозяйственная академия» **Царёвой Марии Владимировны**; д.г.н., заведующей лабораторией экологической геохимии и эволюции геосистем Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института геохимии им. А.П. Виноградова Сибирского отделения Российской академии наук **Безруковой Елены Вячеславовны** и к.г.-м.н., научного сотрудника лаборатории экологической геохимии и эволюции геосистем Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института геохимии им. А.П. Виноградова Сибирского отделения Российской академии наук **Бангуева Бориса Александровича**; д.б.н., доцента, заведующей кафедрой геоэкологии и природопользования Тюменского государственного университета **Синдиревой Анны Владимировны**; к.с.-х.н., заведующего кафедрой агрохимии и почвоведения Пермского аграрно-технологического университета **Васильева Андрея Алексеевича**; к.б.н., старшего научного сотрудника, заведующей лабораторией почвенно-экологических исследований Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института экологии горных территорий им. А.К. Темботова Российской академии наук **Горобцовой Ольги Николаевны** и к.б.н., старшего научного сотрудника лаборатории почвенно-экологических исследований Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института экологии горных территорий им. А.К. Темботова Российской академии наук **Темботова Рустама Хасанбиевича**; к.б.н., доцента заведующего кафедрой генетики, микробиологии и биохимии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования Кубанского государственного университета **Худокормова Александра Александровича**; к.б.н., ведущего научного сотрудника лаборатории почвенно-экологических исследований федерального государственного бюджетного научного учреждения «Донецкий ботанический сад» **Агуровой Ирины Владимировны**.

В отзыве д.б.н., ведущего научного сотрудника лаборатории рекультивации почв федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт

почвоведения и агрохимии Сибирского отделения Российской академии наук, доцента по специальности почвоведение **Артамоновой Валентины Сергеевны** отмечено небольшое замечание: «желательно было бы учесть сведения литературы об ассоциативной и симбиотической азотфиксации. Валентина Сергеевна указывает, что данная информация о биологической роли азота расширила бы представления о потенциале аммонификации».

В отзыве д.б.н., главного научного сотрудника федерального государственного бюджетного учреждения науки Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологий Российской академии наук **Даниловой Альбины Афанасьевны** были заданы вопросы: «Если нитрификация неактуальна для ненарушенных экосистем, то природа зачем-то ее создала? В totally нарушенных системах нитрификация становится фактором самозащиты микробиома от воздействия поллютантов?».

В отзыве д.б.н., заведующей лабораторией механобиологии живых систем Института экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук, филиала федерального государственного бюджетного учреждения науки Пермский федеральный исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук **Криворучко Анастасии Владимировны** был поставлен вопрос: «В рекультивированных техноземах склона углеотвала шахты Аютинской снижено содержание загрязнителей, однако численность нитрификаторов не восстановлена. По-видимому, это связано с низким содержанием органического углерода. Является ли этот процесс необратимым? Возможна ли полная рекультивация таких почв и увеличение количества нитрифицирующих микроорганизмов?».

В отзыве д.б.н., директора Института экологии, биотехнологии и природопользования федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Казанский федеральный университет», **Селивановской Светланы Юрьевны** и к.б.н., доцента кафедры биотехнологии **Курынцевой Полины Александровны** возник вопрос и замечание: «Насколько новым является утверждение, что засоление и подкисление почвы увеличивают подвижность ТМ и усиливают их отрицательное действие на

процессы нитрификации, которое вынесено как положение на защиту? Рисунок 3 состоит из двух блоков, в первом представлен процент классифицированных бактерий и грибов на уровне семейств, а во втором уже на уровне родов. Вероятно, неправильная подрисуночная подпись».

В отзыве к.б.н., ведущего научного сотрудника лаборатории экологии почв Института проблем экологии и недропользования государственного научного бюджетного учреждения «Академия наук Республики Татарстан» **Кулагиной Валентины Ивановны** указаны вопросы: «Какая растительность распространена на почвах углеотвалов в местах отбора образцов? В связи с чем из метагеномного датасета почвы потребовалось удалять человеческую ДНК? Как она попала в почву?».

В отзыве д.б.н., доцента, профессора кафедры общего почвоведения факультета почвоведения федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова» **Копчик Галины Николаевны** отмечено несколько комментариев редакционного характера: «При изложении обзора литературы желательно дать хотя бы несколько ссылок на предшествующие работы в области исследования. Неудачно сформулирована фраза «Значение рН в техногенно нарушенных почвах варьирует от нейтральной до щелочной». Видимо, реакция среды варьирует от нейтральной до щелочной. Под емкостью катионного обмена понимают суммарное количество положительных зарядов обменных катионов, которые компенсируют отрицательные заряды ППК. Это не следует упускать в единицах измерения – ммоль(+)/100 г вместо ммоль/100 г».

В отзыве к.б.н., доцента, заведующего лабораторией биогеохимии, доцента кафедры химии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Тульский государственный педагогический университет им. Л.Н. Толстого» **Переломова Леонида Викторовича** отмечен ряд небольших недостатков: «В автореферате часто встречается словосочетание «трансформация азота». Из текста не ясно - идет ли речь о трансформации соединений азота или трансформации цикла азота. После заголовка «Глава 3»,

перед названием главы должна стоять точка. На странице 11 в нижнем абзаце концентрация цинка в почвах выражена в разных единицах - г/кг и мг/кг. На странице 14 седьмой строке снизу очевидно речь идет о бенз(а)пирене, а не о бенз[g,h,i]перилене».

В отзыве к.б.н., старшего научного сотрудника лаборатории физиологии микроорганизмов Института биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина Российской академии наук, обособленного подразделения Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических исследований Российской академии наук», **Делеган Янины Адальбертовны** отмечен: «Предлагаемый подход, безусловно, интересен с фундаментальной точки зрения, однако возможность его использования в реальных условиях нуждается в более детальном изучении по следующей причине: накопительная культура нестабильна с точки зрения наработки биомассы в промышленных объёмах, её параметры (в частности, численность каждого из компонентов) сложно поддаются контролю. В качестве рекомендации для дальнейшей работы автора можно предложить перейти от применения накопительной культуры к консорциуму, полностью состоящему из индивидуальных штаммов, поддерживаемых в виде чистых культур и нарабатываемых отдельно. При таком подходе смешивание компонентов консорциума происходит в чётко определённых пропорциях, что делает процесс деградации ПАУ в почве более воспроизводимым и стабильным. Рисунки №2 и 9 были бы более удобны для восприятия, если бы шрифт на них был крупнее».

В отзыве к.б.н., заведующего лабораторией биологии почв, старшего научного сотрудника федерального государственного бюджетного научного учреждения Федеральный исследовательский центр «Почвенный институт им. В.В. Докучаева» **Семенова Михаила Вячеславовича** указано: «Описание инкубационного эксперимента с почвами недостаточно детализировано. Неясно, когда именно измерялись концентрации ПАУ в контрольных образцах – до инкубации или после нее, как это сделано для остальных вариантов. Также не до конца понятно, проводилась ли инкубация контрольной почвы с добавлением

нитрата калия (как в опытных вариантах) или без него. Это имеет принципиальное значение, так как именно от этого зависит, связано ли снижение концентрации ПАУ с активностью внесенных микроорганизмов или с действием нитрата как акцептора электронов и фактора, воздействующего на нативные микробные сообщества почв».

В отзыве к.б.н., научного сотрудника отдела почвоведения Института биологии Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук, обособленного подразделения Федерального исследовательского центра «Коми научный центр Уральского отделения Российской академии наук» **Дневой Светланы Валентиновны** возникли вопросы: «За счет каких механизмов представители рода *Nitrospira* более устойчивы к изменениям влажности почвы и высокому содержанию ТМ в хемоземах? Для получения накопительной культуры нитрификаторов были выбраны рода *Nitrosomonas* и *Nitrospira* из техногенно нарушенного чернозема участка М7. Это аборигенные микроорганизмы данной почвы. Можно ли будет использовать эту накопительную культуру для ремедиации других загрязненных участков углеотвалов шахт Майской и Аютинской? Что лучше использовать для разложения ПАУ: *Enterobacter* + накопительная культура нитрификаторов или *Enterobacter* + нитрит калия?».

Выбор официальных оппонентов обосновывается их компетентностью в соответствующей отрасли науки, что подтверждается многочисленными публикациями авторов по рассматриваемой в диссертационной работе проблеме.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

установлено, что активность автотрофной нитрификации в техногенно нарушенных почвах углеотвалов является более чувствительной к загрязнению ТМ по сравнению с активностью ферментов цикла азота: нитратредуктазы, нитритредуктазы и уреазы. Засоление и подкисление почвы увеличивают подвижность ТМ и усиливают их отрицательное действие на процессы нитрификации. В черноземе обыкновенном, лугово-черноземной почве и почвах углеотвалов доминируют аммоний-окисляющие археи Nitrososphaerota;

обосновано, что многолетнее экстремальное загрязнение почв полностью изменяет состав нитрифицирующего сообщества: среди автотрофов доминируют комаммокс бактерии Nitrospirota, а среди гетеротрофов – бактерии, окисляющие

пировиноградный оксим. В геномах нитрификаторов отмечается высокое обилие генов *copB*, *cusAB*, *czcABC*, *zntA*, *zurT*, ответственных за синтез белков системы экспорта ТМ из клетки.

доказано, что при краткосрочном загрязнении Zn лугово-черноземной почвы активность нитрификации снижается значительно, чем при длительном экстремальном загрязнении Zn хемоземов бывшего шламонакопителя.

предложена методика, согласно которой деградация ПАУ усиливается за счет образования нитрифицирующими микроорганизмами акцептора электрона – нитрата. Получен микробный консорциум из автотрофных нитрификаторов и денитрификатора, применение которого позволяет эффективно восстанавливать загрязненные ПАУ почвы за счет деградации фенантрена и пирена.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что с использованием стандартизированных методов исследования физических, химических и физико-химических свойств почвы, ферментативных, культуральных и метагеномных подходов были исследованы почвы черноземной зоны юга России: лугово-черноземная почва, чернозем обыкновенный, технозем, эмбриозем и хемозем.

Впервые проанализирована активность ферментов гетеротрофной нитрификации – диоксигеназы пировиноградного оксима и нитроалканоксидазы в почвах.

Проанализирована активность автотрофной и гетеротрофной нитрификации в загрязненных почвах для сравнения устойчивости данных процессов к воздействию поллютантов.

Обнаружено, что при длительном экстремальном загрязнении Zn в почве формируется сообщество нитрификаторов с доминированием комаммокс-бактерий Nitrospirota и бактерий, окисляющих пировиноградный оксим.

Применительно к проблематике диссертации результативно:

использован комплекс современных методов, применяемых в биологии: атомно абсорбционной спектрометрии для определения ТМ, высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) для определения ПАУ, полногеномного секвенирования и биоинформатический анализ, статистический и корреляционный анализ;

изложены результаты определения физических, химических, физико-химических свойств почвы, содержания ТМ и ПАУ, активности процессов цикла азота, обилия почвенных микроорганизмов, количества генов устойчивости к ТМ;

раскрыты взаимосвязи между физическими, химическими, физико-

химическими свойствами почвы, содержанием ТМ и ПАУ и активностью, обилием почвенных микроорганизмов;

изучены особенности структуры сообществ почв нитрификаторов в техногенно нарушенных почвах и их адаптационный потенциал;

проведен сравнительный анализ активности нитрификации и генов, ответственных за резистентность к ТМ в техногенно нарушенных почвах: эмбриоземах, техноземах и хемоземах.

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

определены токсичность ПАУ и ТМ для накопительной культуры нитрификаторов, структура микробного сообщества техногенно нарушенных почв, гены, ответственные за адаптацию нитрификаторов к высокому содержанию ТМ и токсичных соединений азота;

представлены данные, свидетельствующие об эффективности использования предложенного консорциума из денитрифицирующих и деградирующих ПАУ бактерий и автотрофных нитрификаторов для увеличения эффективности ремедиации техногенно нарушенных почв за счет образования нитрата как акцептора электронов. Результаты исследования адаптационного потенциала нитрифицирующих микроорганизмов могут быть полезны для создания биопрепарата, содержащего нитрификаторов толерантных к тяжелым металлам.

Оценка достоверности результатов исследования выявила воспроизводимость результатов исследования уровня загрязнения почвы тяжелыми металлами и полициклическими ароматическими углеводородами, активности и численности микроорганизмов, участвующих в азотном цикле, а также обилия микроорганизмов, генов, связанных с азотным циклом и металлорезистентностью в почвах чернозёмной зоны юга России. Теоретическая база опирается на проверенные и известные данные, которые согласуются с опубликованными экспериментальными материалами по теме диссертации. Результаты подтверждены повторяемостью экспериментов и соответствием опубликованным независимым исследованиям; использованы современные валидированные методики анализа.

Личный вклад соискателя проявляется в активном участии на всех стадиях подготовки диссертации, выполнении экспериментов и лабораторно-аналитических исследований, обработке и обобщении полученных данных, а также

в сборе и систематизации литературной информации и подготовке основных публикаций по теме. Формулирование темы, целей, задач, объектов, методов и структуры исследования осуществлено соискателем совместно с научными руководителями. Формулировка выводов и основных положений для защиты, а также подготовка основных публикаций выполнены лично автором при направляющем и корректирующем участии научных руководителей.

На заседании 29 сентября 2025 года диссертационный совет отметил, что рассматриваемая диссертация соответствует критериям раздела 2 «Положения о присуждении ученых степеней в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Южный федеральный университет» и принял решение за решение научной задачи, имеющей значение для развития соответствующей отрасли знаний, присудить Пуликовой Е.П. ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 16 человек, из них 6 докторов наук по специальности 1.5.19. Почвоведение (биологические науки) и 3 доктора наук по специальности 1.5.15. Экология (биологические науки), участвовавших в заседании, из 14 человек, входящих в состав совета, дополнительно введены на разовую защиту 3 человека, проголосовали: за – 16, против – нет, недействительных бюллетеней – нет.

Председатель
диссертационного совета

Ученый секретарь
диссертационного совета

30.09.2025 г.



Безуглова Ольга Степановна

Бурачевская Марина Викторовна