

ОТЗЫВ

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

Актуальность темы диссертационного исследования. Техногенное загрязнение поллютантами нарушает баланс азотного цикла, что приводит к увеличению эмиссии парниковых газов и потери минеральных форм азота. Изучение динамики трансформации азота в почвах и использование микробных консорциумов может стать ключевым инструментом для восстановления почвенного покрова, загрязненного тяжелыми металлами и полициклическими ароматическими углеводородами (ПАУ). Совместное применение ПАУ-деградирующих и нитрифицирующих микроорганизмов демонстрирует потенциал для эффективной ремедиации почв. Для разработки способов ремедиации техногенно нарушенных почв необходимо изучить адаптационный потенциал почвенного сообщества нитрифицирующих микроорганизмов в условиях загрязнения поллютантами. Установление механизмов адаптации микробных сообществ к длительному экстремальному загрязнению позволит в дальнейшем восстановить активность чувствительных к загрязнению микроорганизмов – автотрофных нитрификаторов или заменить их более устойчивой альтернативной группой – гетеротрофными нитрификаторами. В связи с вышеизложенным, актуальность темы диссертации Е.П. Пуликовой не вызывает сомнений. Елизавета Петровна Пуликова сосредоточилась на изучении почв черноземной зоны, техногенно нарушенных почв углеотвалов (эмбриоземов и техноземов) и бывшего шламонакопителя (хемоземов) Ростовской области, однако использованные подходы и полученные на их основе результаты по азотному циклу представляют интерес для широкого спектра почв.

Обоснованность и достоверность научных положений, выводов и рекомендаций. Исследования проводились с соблюдением требований к закладке и проведению опытов и применением современных общепринятых в почвоведении и микробиологии методов. Диссертационная работа выполнена на междисциплинарном уровне, охватывающем целый спектр научных дисциплин, таких как экология, почвоведение, микробиология и биоинформатика. В работе исследованы физические, химические, физико-химические и биологические свойства техногенно нарушенных почв, в том числе изучено влияние почвенных факторов на состав и функции микробных сообществ. С экологической точки зрения рассмотрены механизмы взаимодействия микробных групп — автотрофных и гетеротрофных нитрификаторов и денитрификаторов, обеспечивающих деградацию ПАУ и ремедиацию загрязненных почв. В связи с этим, защита работы по двум специальностям — почвоведению и экологии представляется вполне обоснованной.

Научная новизна и практическая значимость работы. Впервые проанализирована активность ферментов гетеротрофной нитрификации — диоксигеназы пировиноградного оксима и нитроалканоксидазы в почвах. Изучен адаптационный потенциал сообщества нитрифицирующих микроорганизмов в экстремально загрязненных почвах. Отмечено доминирование аммоний-окисляющих архей в незагрязненных почвах и почвах углеотвалов и комаммокс бактерий, гетеротрофных нитрификаторов в хемоземах бывшего шламонакопителя. Диссертантом предложен новый подход ремедиации почв, согласно которому деградация ПАУ усиливается за счет образования нитрата, как акцептора электрона, нитрифицирующими микроорганизмами. Получен микробный консорциум из автотрофных нитрификаторов и денитрификатора, применение которого позволяет эффективно восстанавливать загрязненные ПАУ почвы.

Объем и структура диссертации. Диссертация состоит из введения, 7 глав, выводов, списка литературы и приложения. Работа изложена на 143 страницах, содержит 15 таблиц, 35 рисунков. Список литературы включает 292 источника, из них 269 на иностранных языках.

Анализ диссертации по главам. Первая глава диссертации посвящена обзору научной литературы по теме исследования (стр. 11-27). В обзоре описаны основные процессы цикла азота: аммонификация, азотфиксация, денитрификация и нитрификация. Автор справедливо уделил внимание менее изученному процессу гетеротрофной нитрификации в техногенно нарушенных почвах. Рассмотрено влияние ТМ и ПАУ на процессы цикла азота, а также на состав микробиома и адаптационные механизмы микробного сообщества к высоким концентрациям поллютантов.

Во второй главе «Объекты исследования» (стр. 28-32) представлена краткая характеристика района исследований: техногенно нарушенных почв углеотвалов (технозема и эмбриозема), почв бывшего шламонакопителя (хемозема), фоновых (незагрязненных) почв (чернозема обыкновенного карбонатного и лугово-черноземной почвы). Представлена схема и описаны условия проведения вегетационного эксперимента для определения влияния краткосрочного загрязнения тяжелыми металлами на активность нитрификации.

В третьей главе приводятся описания методов исследования (стр. 33-44). Используемые в работе методы являются стандартизированными и широко применяются как в России, так и за рубежом. В работе применены физические, химические и физико-химические методы анализа почвы: pH, гранулометрический состав, содержание обменных кальция и магния, сухого остатка, ТМ и ПАУ, общего углерода и азота, водорастворимых форм азота, микробиологические методы для определения численности аммонификаторов, денитрификаторов, активности уреазы, нитрификации и денитрификации, и молекулярно-биологические методы полногеномного секвенирования. Описан способ выделения денитрифицирующих и ПАУ-деградирующих и получения накопительной культуры нитрификаторов, тестирование их устойчивости к ТМ и ПАУ. Диссертантом поставлен эксперимент по изучению деградации ПАУ консорциумом нитрификаторов и ПАУ деструкторов в техногенно нарушенной почве углеотвала.

В четвертой главе (стр. 45-52) подробно описаны свойства чернозема обыкновенного, лугово-черноземной почвы, техногенно нарушенных почв

углеотвалов и хемозема бывшего шламонакопителя. Представлены физические, химические, физико-химические свойства: рН, CaCO_3 , ЕКО, сухой остаток, гранулометрический состав; валовое содержание ТМ и содержание подвижных форм ТМ, содержание ПАУ. В почвах углеотвалов шахты Майской и Аютинской города Шахты Ростовской области было обнаружено умеренно-опасное и чрезвычайно опасное загрязнение ТМ, согласно рассчитанному суммарному показателю загрязнения поллютантами.

В пятой главе (стр. 53-71) представлен анализ численности аммонификаторов, денитрификаторов, активности уреазы, нитрификации и денитрификации в эмбриоземе и техноземе углеотвалов шахт Ростовской области. Впервые изучен микробиом чернозема обыкновенного, эмбриозема и технозема почв Ростовской области, особенное внимание диссертант уделил анализу сообщества нитрифицирующих микроорганизмов, а также генам металлорезистентности. Выявлены отрицательные корреляции с активностью процессов цикла азота и содержанием ТМ.

В шестой главе (стр. 72-90) детально изучены процессы автотрофной и гетеротрофной нитрификации в экстремально загрязненной почве бывшего шламонакопителя. Проведен анализ состава сообщества нитрифицирующих микроорганизмов и их активности с использованием молекулярных и ингибиторных методов. Собранные геномы из метагеномов проанализированы на наличие генов, ответственных за автотрофное питание, нитрификацию, денитрификацию, и генов металлорезистентности, что отражает адаптационный потенциал сообщества нитрификаторов в экстремально загрязненных почвах. В геномах нитрификаторов из загрязненных почв было обнаружено более 20 генов резистентности к тяжелым металлам. Диссертантом предположены механизмы детоксикации токсичных азотсодержащих соединений в экстремально загрязненных почвах.

В седьмой главе (стр. 90-99) представлена характеристика выделенного штамма ПАУ-деструктора и полученной накопительной культуры нитрификаторов. У культур отмечено не только наличие генов, ответственных за процессы денитрификации и нитрификации, но и протестирована активность

этих процессов. Активность нитрификации накопительной культуры была протестирована в присутствии доминирующих поллютантов. Для подтверждения выдвинутой гипотезы о стимуляции деградации ПАУ нитрификаторами заложен модельный эксперимент, в результате которого было обнаружено, что совместное внесение *Enterobacter ludwigii* и накопительной культуры нитрификаторов значительно ускорило разложение ПАУ за короткий период.

В целом, диссертация Пуликовой Е.П. выполнена на высоком научно-методическом уровне, грамотно изложена, однако не лишена некоторых недостатков, которые оппонент считает нужным отметить.

1. В актуальности диссертант упоминает потенциал нитрификаторов в секвестрации диоксида углерода, однако в дальнейшем этот процесс в диссертации не рассматривается.
2. В главе 6 упоминается факт значительного колебания влажности в хемоземах бывшего шламонакопителя озера Сорное. Исследовалось ли влияние влажности на процессы нитрификации и содержание водорастворимых форм азота?
3. Объясните, каким образом сообщество накопительной культуры нитрификаторов изменилось в сторону увеличения доли нитрифицирующих бактерий с 19% до 38% в течение года культивирования?

Перечисленные вопросы и замечания не снижают общую очень высокую оценку работы и имеют рекомендательный характер.

Общее заключение. Диссертационная работа Пуликовой Елизаветы Петровны на тему «Микробная трансформация азота в техногенно нарушенных почвах черноземной зоны юга России» представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.19 Почвоведение (биологические науки) и 1.5.15. Экология (биологические науки) является законченным научно-исследовательским трудом, выполненным автором самостоятельно на высоком научном уровне.

Полученные результаты, сделанные выводы и сформулированные положения научно обоснованы, достоверны, имеют существенную научную значимость и практическую ценность. Автореферат диссертации достаточно полно отражает содержание диссертации.

Результаты исследования представлены на российских и международных научных конференциях. По теме диссертационного исследования опубликовано 6 работ, входящих в международные библиографические и реферативные базы данных Scopus и Web of Science, 5 из которых опубликованы в журналах первого и второго квартилей.

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, безусловно заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.19. Почвоведение (биологические науки) и 1.5.15. Экология (биологические науки).

Официальный оппонент:

Степанов Алексей Львович, доктор биологических наук по специальности 03.00.27 – почвоведение (биологические науки), профессор, заведующий кафедрой биологии почв факультета почвоведения Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова.

05 сентября 2025 года



И.о. декана факультета почвоведения МГУ
имени М.В.Ломоносова чл.-корр. РАН

П.В.Красильников



Россия, 119991, Москва, Ленинские горы, д.1, стр.12, факультет Почвоведения
Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова.

Тел. +7(495)939-24-58, e-mail: stepanov_aleksey@mail.ru