

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 24.1.038.01,  
СОЗДАННОГО НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО  
БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ ИНСТИТУТА  
БИОХИМИЧЕСКОЙ ФИЗИКИ ИМ. Н.М. ЭМАНУЭЛЯ РОССИЙСКОЙ  
АКАДЕМИИ НАУК, ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ  
СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело № \_\_\_\_\_

решение диссертационного совета от 19.10.2022 г., № 8

О присуждении Дятловой Юлии Анатольевне, гражданке Российской Федерации, ученой степени кандидата биологических наук.

**Диссертация** «Метод ИК-фурье-спектроскопии в изучении физиологических аспектов существования бактерий видов *Azospirillum brasilense* и *Azospirillum baldaniorum*» по специальности 1.5.2. Биофизика принята к защите 06 июля 2022 года (протокол заседания № 4) диссертационным советом 24.1.038.01, созданным на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук по адресу: 119334, Российская Федерация, г. Москва, ул. Косыгина, д. 4; приказ Министерства образования и науки № 105/нк от 11 апреля 2012 года.

**Соискатель** – Дятлова Юлия Анатольевна, «18» ноября 1991 года рождения. В 2014 году соискатель окончила Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского» по специальности «Биология». С 20 августа 2014 года по 30 августа 2018 года обучалась в очной аспирантуре Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биохимии и физиологии растений и микроорганизмов Российской академии наук по специальности 03.01.04 «Биохимия» (1.5.4. Биохимия).

С 2018 года по настоящее время работает в лаборатории биохимии Института биохимии и физиологии растений и микроорганизмов – обособленного структурного подразделения Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра «Саратовский научный центр Российской академии наук» в должности младшего научного сотрудника (до 2 ноября 2021 года – Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов Российской академии наук).

**Диссертация выполнена** в лаборатории биохимии Института биохимии и физиологии растений и микроорганизмов – обособленного структурного подразделения Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра «Саратовский научный центр Российской академии наук».

**Научный руководитель** – кандидат биологических наук **Тугарова Анна Владимировна**, старший научный сотрудник лаборатории биохимии Института биохимии и физиологии растений и микроорганизмов – обособленного структурного подразделения Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра «Саратовский научный центр Российской академии наук».

**Официальные оппоненты:**

**Феофанов Алексей Валерьевич**, доктор биологических наук, главный научный сотрудник лаборатории оптической микроскопии и спектроскопии биомолекул Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук;

**Исмаилов Анвар Джураевич**, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории физиологии и биохимии кафедры микробиологии биологического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова»

**дали положительные отзывы на диссертацию.**

**Ведущая организация** – Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский федеральный университет» в своем **положительном отзыве**, подписанном доктором биологических наук, профессором Кратасюк Валентиной Александровной, заведующим кафедрой биофизики и утвержденном проректором по учебной работе Университета, кандидатом психологических наук Денисом Сергеевичем Гуцем, указала, что диссертация представляет собой завершённую научно-квалификационную работу, включающую в себя практически значимые новые методики и алгоритмы, позволяющие корректно использовать высокоинформативный метод ИК-фурье-спектроскопии (ИКФС) в микробиологических исследованиях, а также теоретически и практически значимые данные о биофизических и физиолого-биохимических особенностях таких агроботехнологически важных бактерий как азоспириллы. Впервые предложена оптимальная пробоподготовка, подходящая для образцов планктонной культуры и биопленок, для изучения их методом ИКФС в режиме пропускания. На примере поли-3-гидроксibuтирата (ПГБ) разработан алгоритм анализа ИК-спектров, позволяющий рассчитать относительное количество отдельного макрокомпонента. Показано, что присутствие полярной матрицы (KBr) в объеме образца бактериальной биомассы приводит к кристаллизации неупорядоченной составляющей внутриклеточного сложного полиэфира (ПГБ). Установлено, что образцы выделенного ПГБ характеризуются разной степенью упорядоченности в зависимости от толщины пленки, что связано с присутствием в массе образца молекул воды. В заключении отмечено, что по актуальности, новизне, практической значимости и уровню проведенных исследований диссертационная работа Дятловой Ю.А. отвечает требованиям в пунктах 9–14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» ВАК Минобрнауки России (утверждено Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 № 842, в ред. Постановления Правительства РФ от 11.09.2021 №

1539), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор, Юлия Анатольевна Дятлова заслуживает присвоения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.2. Биофизика.

Соискатель имеет 27 опубликованных работ по теме диссертации, из них: 9 публикаций представлено в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК РФ, из которых 8 – в журналах, входящих в международные базы данных и системы цитирования Web of Science и Scopus; 18 публикаций в российских и международных сборниках трудов и материалов научных конференций.

Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:

1. Tugarova, A.V. Poly-3-hydroxybutyrate synthesis by different *Azospirillum brasilense* strains under varying nitrogen deficiency: A comparative *in-situ* FTIR spectroscopic analysis / A.V. Tugarova, **Yu.A. Dyatlova**, O.A. Kenzhegulov, A.A. Kamnev // Spectrochim. Acta Part A: Mol. Biomol. Spectrosc. – 2021. – Vol. 252. – P. 119458.

2. Kamnev, A.A. Methodological effects in Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy: Implications for structural analyses of biomacromolecular samples / A.A. Kamnev, A.V. Tugarova, **Yu.A. Dyatlova**, P.A. Tarantilis, O.P. Grigoryeva, A.M. Fainleib, S. De Luca // Spectrochim. Acta Part A: Mol. Biomol. Spectrosc. – 2018. – Vol. 193. – P. 558–564.

3. Kamnev, A.A. Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopic analyses of microbiological samples and biogenic selenium nanoparticles of microbial origin: sample preparation effects / A.A. Kamnev, **Yu.A. Dyatlova**, O.A. Kenzhegulov, A.A. Vladimirova, P.V. Mamchenkova, A.V. Tugarova // Molecules. – 2021. – Vol. 26. – N. 4. – P. 1146.

На автореферат поступило 3 положительных отзыва: 1) отзыв д.ф.-м.н., профессора Кудряшевой Надежды Степановны, ведущего научного сотрудника лаборатории фотобиологии Института биофизики Сибирского отделения Российской академии наук – обособленного подразделения

Федерального исследовательского центра «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук»; 2) отзыв д.б.н. Беловежец Людмилы Александровны, ведущего научного сотрудника лаборатории экологической биотехнологии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Иркутский институт химии им. А.Е. Фаворского Сибирского отделения Российской академии наук; 3) отзыв д.б.н. Белимова Андрея Алексеевича, главного научного сотрудника, и.о. зав. лабораторией ризосферной микрофлоры Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии» Министерства науки и высшего образования РФ. Все отзывы без замечаний.

В отзывах отмечено, что тема диссертации является актуальной и междисциплинарной, в работе предложены перспективная методика и алгоритм для проведения корректного и качественного анализа бактерий в разных физиологических состояниях (планктонная культура и биопленка) методом ИКФС в режиме пропускания. Также были получены важные знания о метаболизме бактерий рода *Azospirillum*, широко применяющихся в агробиотехнологии. Все сделанные выводы обоснованы и соответствуют полученным результатам, имеющим важное как фундаментальное, так и прикладное значение, а работа соответствует специальности 1.5.2. Биофизика.

**Выбор официальных оппонентов и ведущей организации** обосновывается их специализацией по проблеме настоящей диссертационной работы и достижениями в области биофизики, микробиологии и оптической спектроскопии, а также наличием публикаций в соответствующей сфере исследования, что позволяет им оценить научную и практическую ценность диссертации. Оппонент д.б.н. Феофанов А.В. является ведущим специалистом в области оптической микроскопии и спектроскопии биомолекул. Оппонент д.б.н. Исмаилов А.Д. является одним из признанных специалистов в области биофизики и биохимии микроорганизмов, включая

существование бактерий в неблагоприятных условиях, главным образом в различных природных эпитопах. Ведущая организация – Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский федеральный университет» является одним из лидеров в области экологического мониторинга и контроля стрессов в биологических объектах, включая микроорганизмы.

**Диссертационный совет** отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

**разработана** оптимальная пробоподготовка для измерения методом ИК-фурье-спектроскопии (ИКФС) в режиме пропускания микробиологических образцов планктонной культуры и биопленок;

**предложен** алгоритм анализа ИК-спектров, позволяющий рассчитать относительное количество отдельного макрокомпонента по соотношению площадей полос в ИК-спектре на примере поли-3-гидроксibuтирата (ПГБ);

**доказана** перспективность применения метода ИКФС в режиме пропускания для решения различных биоаналитических задач в микробиологии на примере различных штаммов и мутанта бактерий рода *Azospirillum*, находящихся в различном физиологическом состоянии (биопленка и планктонная культура).

**Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:**  
**доказаны** положения, расширяющие возможности применения высокочувствительного современного инструментального метода ИКФС для решения современных биоаналитических задач в области микробиологии;

**применительно к проблематике диссертации результативно использованы** ИК-фурье-спектроскопия в разных режимах для анализа накопления ПГБ и сравнения макрокомпонентного состава образцов различных штаммов и мутанта, а также комплекс микробиологических методов;

**изложены** экспериментальные данные по влиянию сильной полярной матрицы KBr на бактериальные образцы при измерении их методом ИКФС и

показано, что в присутствии КВr происходит изменение положения полос в ИК-спектрах изучаемых объектов;

**установлено**, что образцы выделенного ПГБ характеризуются разной степенью упорядоченности в зависимости от толщины пленки, что связано с присутствием в объеме биополимера молекул воды.

**Значение полученных соискателем результатов исследования для практики** подтверждаются тем, что:

**разработана** новая методика пробоподготовки бактериальных образцов, учитывающая их сложность, для измерения методом ИКФС в режиме пропускания;

**определены** условия, при которых происходит максимальное накопление ПГБ у бактерий штаммов *A. baldaniorum* Sp245, *A. brasilense* Sp7 и *A. brasilense* Cd;

**представлен** алгоритм, позволяющий рассчитать относительное содержание ПГБ в бактериальном образце.

**Оценка достоверности** результатов исследования выявила следующее:

**для экспериментальных работ** результаты получены на сертифицированном оборудовании с применением современных микробиологических методов исследования, стандартных методик обработки результатов; обоснован выбор анализа накопления ПГБ по соотношению площадей соответствующих полос в ИК-спектрах;

**теория** об изменении степени упорядоченности ПГБ в зависимости от толщины пленки, вызванном присутствием молекул воды в объеме образца полимера, основывается на имеющихся литературных данных о структуре ПГБ и экспериментальных данных, полученных методом ИКФС;

**идея** базируется на анализе и обобщении литературных данных по использованию метода ИКФС при анализе различных бактериальных образцов в микробиологических исследованиях;

**использованы** авторские данные и данные, полученные и опубликованные другими исследователями, по рассматриваемой тематике;

**установлено** соответствие авторских результатов с результатами, представленными в независимых источниках по использованию ИК-фурье-спектроскопии в изучении бактериальных культур и их отдельных макрокомпонентов;

**использованы** современные методы исследования и обработки данных экспериментальных измерений, в том числе специального программного обеспечения – OMNIC, используемого для обработки и анализа ИК-спектров. Научные положения, результаты и выводы, полученные в диссертации, достоверны и полностью подтверждаются экспериментальными данными, а также получили признание в виде научных публикаций и апробации.

**Личный вклад соискателя** состоит в непосредственном участии на всех этапах работы. Все данные и выводы, представленные в диссертационной работе, были получены либо лично автором, либо при его непосредственном участии на всех этапах исследования, включая планирование и проведение экспериментов, анализ и обсуждение полученных данных, а также обработку, оформление и публикацию результатов.

В ходе защиты диссертации были заданы вопросы и высказаны следующие критические замечания:

1. Почему при анализе ИК-фурье-спектров не был использован обычный в спектроскопии подход: с вычитанием базовой линии, деконволюцией, гауссовым распределением и дальнейшим выделением и анализом уже индивидуальных пиков? Например, при полосе  $1725\text{ см}^{-1}$ , соответствующей поли-3-гидроксибутирату (ПГБ), явно наблюдается вклад не от одной полосы.

2. Для полученных значений  $\beta$  при расчете относительного количественного содержания поли-3-гидроксибутирата (ПГБ) рассчитывалась только абсолютная стандартная ошибка. Почему не проводилось дополнительной статистической обработки результатов?

Соискатель Дятлова Ю.А. ответила на заданные вопросы и привела собственную аргументацию по критическим замечаниям:

1. В работе были проведена статистическая обработка полученных ИК-фурье-спектров с использованием встроенного статистического пакета анализа программы OMNIC, которая включает, в частности, автоматическую коррекцию базовой линии, благодаря заложенным в программе алгоритмам. Деконволюция и дальнейший анализ выделенных пиков не был использован при анализе полосы при  $1725\text{ см}^{-1}$ , так как при расчете относительного содержания ПГБ в бактериях не рассматривались различия в соотношении упорядоченной и аморфной составляющих.

2. В данном исследовании, как и во всей работе, эксперименты проводились минимум трижды, в каждом было минимум три биологических повторности каждого варианта, ИК-фурье-спектры измерялись минимум трижды с каждого образца. Усреднение ИК-фурье-спектра проводилось из 64-х разверток.

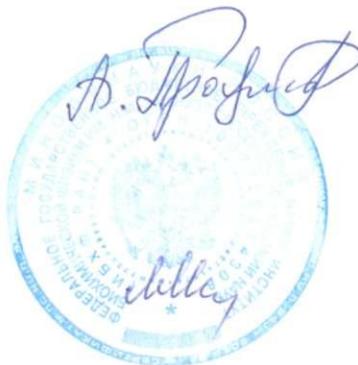
**Диссертация** Дятловой Юлии Анатольевны «Метод ИК-фурье-спектроскопии в изучении физиологических аспектов существования бактерий видов *Azospirillum brasilense* и *Azospirillum baldaniorum*» представляет собой завершённую научно-квалификационную работу и отвечает требованиям в пунктах 9–14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» ВАК Минобрнауки России (утверждено Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 № 842, в ред. Постановления Правительства РФ от 26.09.2022 № 1690), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук.

На заседании 19 октября 2022 года диссертационный совет принял решение: за диссертационную работу, посвященную вопросу применения метода ИК-фурье-спектроскопии в изучении физиологических аспектов существования бактерий видов *Azospirillum brasilense* и *Azospirillum baldaniorum*, содержащей решение актуальных задач по заданной тематике,

присудить Дятловой Юлии Анатольевне ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 22 человек, из них 7 докторов наук по специальности 03.01.02. – биофизика (1.5.2. Биофизика), участвовавших в заседании, из 27 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за – 22, против – 0, недействительных бюллетеней – 0.

Председатель  
диссертационного совета, д.х.н.



Трофимов А.В.

Ученый секретарь  
диссертационного совета, к.х.н.

Мазалецкая Л.И.

19 октября 2022 г.