

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

о соответствии диссертационной работы «Метод ИК-фурье-спектроскопии в изучении физиологических аспектов существования бактерий видов *Azospirillum brasilense* и *Azospirillum baldaniorum*» Дятловой Юлии Анатольевны профилю Диссертационного совета 24.1.038.01 и требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям.

Комиссия в составе – д.х.н., проф. Шишкиной Людмилы Николаевны, д.б.н., проф. Пальминой Надежды Павловны, д.б.н., проф. Розенфельда Марка Александровича – констатирует, что диссертационная работа «Метод ИК-фурье-спектроскопии в изучении физиологических аспектов существования бактерий видов *Azospirillum brasilense* и *Azospirillum baldaniorum*» по теме, постановке задач, методам исследования и полученным результатам соответствует специальности 1.5.2. Биофизика (биологические науки).

Комиссия отмечает следующие **основные научные результаты** диссертационной работы и ее **новизну**:

Дятловой Ю.А. проведено исследование физиологических аспектов существования бактерий видов *Azospirillum brasilense* и *Azospirillum baldaniorum* с использованием ИК-фурье-спектроскопии.

Предложены оригинальная методика пробоподготовки бактериальных образцов в различных физиологических состояниях (планктонная культура и биопленки) для измерения методом ИКФС и алгоритм расчета относительного содержания различных макрокомпонентов на основании соотношения площадей полос на ИК-спектрах (на примере полигидроксibuтирата (ПГБ)). Показано, что использование полярной матрицы (KBr) при подготовке образцов сухой бактериальной биомассы индуцирует кристаллизацию неупорядоченной фракции внутриклеточного ПГБ.

Выявлено, что степень упорядоченности выделенного из бактериальной биомассы ПГБ зависит от толщины подготовленной пленки образца и связана с наличием молекул воды, влияющих на состояние слабых водородных связей между цепями ПГБ в объеме пленки.

Определены условия накопления наибольшего количества ПГБ штаммами *A. brasilense* Sp7, *A. brasilense* Cd и *A. baldaniorum* Sp245, культивируемыми в течение 30 сут при разной степени трофического стресса.

Впервые с применением метода ИКФС проведено сравнительное изучение планктонных культур и биопленок, образованных бактериями штамма *A. baldaniorum* Sp245 и его мутантом. Установлены различия между диким штаммом и его мутантом в обоих

физиологических состояниях. Показано влияние продуктов генов липидного метаболизма (*fabG1* и *fabH1*) на процессы накопления ПГБ на примере штамма-мутанта *A. baldaniorum* Sp245.1610 и его комплементированных производных.

#### **Достоверность полученных результатов**

Диссертационная работа выполнена на высоком экспериментальном и методическом уровне. Достоверность и обоснованность результатов обеспечена тем, что в работе использованы современные методы исследования и сертифицированное научно-исследовательское оборудование; данные экспериментальных измерений статистически обработаны с помощью общепринятой методологии.

#### **Практическая и научная значимость диссертационной работы**

Работа Дятловой Ю. А. представляет ценность как с научной, так и с практической точек зрения. Так, предложены методика пробоподготовки, наиболее адекватная для изучения разнообразных бактериальных образцов методом ИКФС в режиме пропускания, и алгоритм оценки относительного содержания различных макрокомпонентов в бактериальных клетках. Изучен метаболический отклик бактерий рода *Azospirillum* на трофический стресс. На примере штамма *A. baldaniorum* Sp245 и комплементированных производных его мутанта *A. baldaniorum* Sp245.1610 показано влияние продуктов генов липидного метаболизма *fabG1* и *fabH1* на синтез ПГБ, что существенно для устойчивости бактерий в неблагоприятных условиях. Полученные результаты углубляют представления о функционировании защитных механизмов бактерий рода *Azospirillum* и полезны при разработке стратегии использования азоспирилл в агробиотехнологии, а также при создании новых рекомбинантных штаммов азоспирилл, обладающих большей устойчивостью к разнообразным негативным факторам.

Основные результаты диссертационной работы изложены в 27 печатных работах, 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.

#### **Список основных печатных работ:**

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. 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.

3. Tugarova, A.V. Bacteria as cell factories for producing selenium nanoparticles: their synthesis by the rhizobacterium *Azospirillum brasilense* and characterization / A.A. Tugarova, P.V. Mamchenkova, Yu.A. Dyatlova, A.A. Kamnev // *New Biotechnol.* – 2018. – . S44. – S18–S20.

4. 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 A Mol Biomol Spectrosc.* – 2018. – Vol. 193. – P. 558–564.

5. Tugarova, A.V. FTIR and Raman spectroscopic studies of selenium nanoparticles synthesised by the bacterium *Azospirillum thiophilum* / A.V. Tugarova, P.V. Mamchenkova, Yu.A. Dyatlova, A.A. Kamnev // *Spectrochim. Acta Part A: Mol. Biomol. Spectrosc.* – 2018. – Vol. 192. – P. 458–463.

6. Tugarova, A.V. Biochemical study of selenite bioconversion by *Azospirillum brasilense* / A.V. Tugarova, P.V. Mamchenkova, Yu.A. Dyatlova, A.A. Kamnev // *FEBS Open Bio.* – 2018. – Vol. 8. – Suppl. 1. – P. 479–480.

7. Kamnev, A.A. FTIR spectroscopic studies of selenite reduction by cells of the rhizobacterium *Azospirillum brasilense* Sp7 and the formation of selenium nanoparticles / A.A. Kamnev, P.V. Mamchenkova, Yu.A. Dyatlova, A.V. Tugarova // *J. Mol. Struct.* – 2017. – Vol. 1140. – P. 106–112.

8. Tugarova, A.V. FTIR spectroscopic study of biofilms formed by the rhizobacterium *Azospirillum brasilense* Sp245 and its mutant *Azospirillum brasilense* Sp245.1610 / A.V. Tugarova, A.V. Shelud'ko, Yu.A. Dyatlova, Yu.A. Filip'echeva, A.A. Kamnev // *J. Mol. Struct.* – 2017. – Vol. 1140. – P. 142–147.

9. Паршина, В.В. ИК-фурье-спектроскопический анализ накопления поли-3-гидроксibuтирата клетками *Azospirillum brasilense* при различной продолжительности культивирования и концентрации аммония в питательной среде / В.В. Паршина, Ю.А. Дятлова, А.В. Тугарова // *Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология.* – 2018. – Т. 18. – №. 3. – С. 331–335.

Публикации основных научных результатов диссертации соответствуют требованиям пунктов 11 и 13 «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).

Диссертационная работа Дятловой Ю. А. «Метод ИК-фурье-спектроскопии в изучении физиологических аспектов существования бактерий видов *Azospirillum brasilense* и *Azospirillum baldaniorum*» полностью соответствует требованиям пунктам 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).

На основании вышеизложенного комиссия рекомендует Диссертационному совету 21.1.038.01 принять к защите диссертационную работу Дятловой Юлии Анатольевны «Метод ИК-фурье-спектроскопии в изучении физиологических аспектов существования бактерий видов *Azospirillum brasilense* и *Azospirillum baldaniorum*» на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.2. Биофизика.

Комиссия рекомендует утвердить в качестве **официальных оппонентов**:

– доктора биологических наук **Феофанова Алексея Валерьевича**, главного научного сотрудника 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;

– доктора биологических наук **Исмаилова Анвара Джураевича**, ведущего научного сотрудника лаборатории физиологии и биохимии кафедры микробиологии биологического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова».

В качестве **ведущей организации** предлагается федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский федеральный университет».

Председатель комиссии:

д.х.н., профессор

Л.Н. Шишкина

Члены комиссии:

д.б.н., профессор

Н.П. Пальмина

д.б.н., профессор

М.А. Розенфельд