



Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений
Россельхозакадемии (ГНУ ВИЗР)
196608, Санкт-Петербург, Пушкин, шоссе Подбельского, 3.

О Т З Ы В

**ведущей организации на диссертацию Щербакова Андрея Васильевича
«Эндوفитные сообщества сфагновых мхов как источник бактерий –
эффективных ассоциантов сельскохозяйственных культур»,
представленную на соискание ученой степени кандидата биологических
наук по специальности 03.02.03– микробиология**

В условиях возрастающей техногенной нагрузки на агроэкосистемы несомненно актуальна задача создания условий, обеспечивающих повышение адаптивных возможностей и стрессоустойчивости растений. В большинстве сельскохозяйственных регионов РФ распространенность таких опасных заболеваний, как корневые гнили, мучнистая и ложная мучнистая роса огурца, фузариоз и ржавчина зерновых культур, фитофтороз картофеля, остается на высоком уровне и зачастую приобретает характер эпифитотий. Отмечается появление новых опасных видов фитопатогенов, часто из числа карантинных объектов, что приводит к чрезвычайно высоким потерям урожая и снижению его качества. В этой связи, безусловно, перспективно направление исследований, связанное с получением новых данных об эндوفитных бактериях, ассоциированных с высшими растениями и обладающих хозяйственно полезными свойствами. Их способность активно колонизировать ризосферу, а также антимикробные и фитостимулирующие свойства могут быть с успехом реализованы в растениеводстве путем создания на их основе новых эффективных биопрепаратов. В литературе практически отсутствуют сведения о бактериях, ассоциированных со

сфагновыми мхами и их роли в функционировании растений и формировании болотных экосистем. Несмотря на многочисленные исследования сфагновых мхов, вопрос о природе их антибиотической активности оставался не изученным. Учитывая фундаментальное значение исследований, проведенных автором, а также перспективы использования природного потенциала бактерий ассоциированных со сфагновыми мхами, можно высоко оценить актуальность представленной работы.

Ознакомление с авторефератом и диссертацией Андрея Васильевича Щербакова оставляет хорошее впечатление. Чувствуется солидная методическая подготовка автора, литература по теме исследования и сопредельным вопросам изучена глубоко и основательно. Материалы диссертации достаточно полно опубликованы в открытой печати, апробированы на конференциях.

Цель работы исходит из ее актуальности, задачи исследования соответствуют поставленной цели.

Научная новизна работы несомненна. Впервые (в России) исследованы эндофитные микроорганизмы, ассоциированные со сфагновыми мхами, собранными в различных географических регионах, изучены их культурально-морфологические, физиолого-биохимические и хозяйственно-ценные свойства. Впервые в мире показано, что более 50% выделяемых эндофитных бактерий, населяющих ткани сфагновых мхов, имеют выраженные антагонистические свойства против широкого спектра фитопатогенных микроорганизмов, чем можно объяснить высокую болезнеустойчивость этих растений. Впервые в России проведена молекулярно-генетическая идентификация штаммов эндофитных бактерий широкого географического происхождения. Показано, что одни и те же виды сфагнов, отобранные в различных географических регионах, служили местообитанием для представителей одних и тех же таксономических групп. Новизна представленной работы в значительной степени обусловлена данными, полученными при изучении способности выделенных эндофитных бактерий активно колонизировать ризосферу сельскохозяйственных растений и оказывать положительное влияние на их рост и развитие.

Практическая значимость работы связана с созданием коллекции штаммов эндофитных бактерий, ассоциированных со сфагновыми мхами, для формирования которой в качестве ключевого критерия был использован комплекс их хозяйственно-ценных свойств. Полученные результаты убедительно доказывают перспективность использования исследуемых штаммов в качестве основы новых биопрепаратов для комплексного использования в растениеводстве. Наиболее перспективные штаммы депонированы во Всероссийской коллекции микроорганизмов сельскохозяйственного назначения. Апробирована технология получения и применения лабораторных образцов биопрепаратов на основе эндофитных бактерий сфагновых мхов.

Работа выполнена в рамках Российско-Австрийского проекта при финансовой поддержке гранта РФФИ № 09-04-91007_ АНФ.

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследований, экспериментальной части с обсуждением результатов, заключения, выводов, списка литературы, состоящего из 400 источников (из них - 376 иностранных) и приложений. Работа изложена на 179 страницах машинописного текста, содержит 31 рисунок и 44 таблицы.

Обзор литературы включает обширный материал, изложенный на 57 стр., содержащий подробное описание экологической роли, распространенности, видового состава микроорганизмов болотных экосистем: бактериальных ассоциаций, связанных с круговоротом метана, азотфиксаторов, целлюлозолитических микроорганизмов и др. Автором детально освещены вопросы, касающиеся микробиологической деструкции природных полимеров, происходящей в торфах, а также приведены сведения о полезных растительно-микробных системах в сельскохозяйственной биотехнологии, дана оценка основным востребованным и перспективным направлениям ее развития. Обобщены результаты исследований микроорганизмов, ассоциированных с растениями рода *Sphagnum*.

Представленный автором обзор интересен с точки зрения понимания фундаментальных основ взаимодействия микроорганизмов с растениями. Так, на основе анализа источников научной литературы и исследований, положенных в основу диссертационной работы, автором предложена гипотетическая модель, описывающая структурно-функциональную взаимосвязь между растениями сфагновых мхов и эндофитными микроорганизмами, населяющими их ткани.

Глава «Материалы и методы» занимает 21 стр. и содержит описание основных методов, использованных в работе. Автор овладел разнообразными как классическими, так и современными молекулярно-генетическими методами исследований, использовал методы флуоресцентной гибридизации и конфокальной сканирующей лазерной микроскопии.

Глава 3 содержит большой фактический материал и демонстрирует отличную методическую подготовку автора. Полученные результаты убедительно доказывают, что эндофитные бактериальные сообщества локализуются внутри тканей сфагновых мхов, произрастающих в различных географических зонах. Диссертанту удалось выделить из тканей сфагновых мхов более 400 различных бактериальных изолятов, из которых для дальнейших исследований было отобрано 10 изолятов, обладающих высокой биологической активностью (фунгицидной, бактерицидной, ростстимулирующей, фосфатрастворяющей, ферментативной). Несомненный интерес представляют полученные А.В.Щербаковым данные о способности отобранных штаммов продуцировать ауксины, что позволяет объяснить положительное влияние этих штаммов на рост и развитие растений.

Проведенное А.В.Щербаковым изучение колонизационного потенциала отобранных изолятов показало, что тестируемые штаммы

хорошо приживались в ризосфере и на корнях пшеницы, а также на поверхности корней томатов, не уступая, а в ряде случаев превосходя соответствующие показатели контрольного штамма. Показано, что численность жизнеспособных клеток изучаемых штаммов достаточна для обеспечения стимулирующего действия на рост и развитие растительного организма и защиты от фитопатогенных популяций.

Значительная часть материала 3 главы посвящена оценке эффективности применения отобранных штаммов эндофитных бактерий для защиты от болезней и стимуляции роста и развития сельскохозяйственных культур в вегетационных и полевых опытах. Показано, что обработка семян редиса культуральной жидкостью штаммов *Serratia plymuthica* AM24A и *Pseudomonas asplenii* RF13H положительно влияла на массу корнеплодов и накопление зеленой массы растений. Ряд изучаемых штаммов существенно стимулировал рост и развитие растений томата. Инокуляция семян пшеницы бактериями *P. asplenii* RF13H достоверно снижала распространенность заболевания растений корневыми гнилями, вызванными фитопатогенными грибами р. *Fusarium*. Высокий защитный эффект проявили изучаемые штаммы в отношении бактериоза томата, что представляется весьма ценным результатом, поскольку данные заболевания получили в последнее время широкое распространение ввиду ограниченного ассортимента эффективных средств борьбы.

Таким образом, на примере отобранных штаммов А.В.Щербаков показал, что эндофитные бактерии сфагнов играют важную роль не только в жизни растения-хозяина, но могут положительно влиять на рост и развитие других растений, в том числе сельскохозяйственных культур, что открывает возможности создания на их основе эффективных биопрепаратов. Эндофитные бактерии сфагнов способны с достаточно высокой плотностью колонизировать ризо- и филлосферу, успешно конкурируя с другими микроорганизмами благодаря биосинтезу биологически активных веществ (фитогормонов, органических кислот и т.д.)

Работа А.В.Щербакова выполнена в весьма широком аспекте – от изучения пространственной локализации, отбора и глубокого изучения физиолого-биохимических особенностей и целевой биологической активности эндофитных бактерий растений сфагновых мхов различного видового состава и разных мест обитания до апробации биологической эффективности лабораторных образцов на основе отобранных штаммов в вегетационных и полевых экспериментах. Полученные результаты позволяют по-новому взглянуть на природу уникальных свойств, которыми обладают сфагновые мхи, и ставят перед исследователями ряд новых задач с целью выяснения тонких механизмов сложных взаимоотношений эндофитных микробных сообществ с высшими растениями. Полученные результаты апробации эффективности свидетельствуют о возможности использования данной группы микроорганизмов для разработки на их основе новых биопрепаратов для растениеводства.

Тем не менее, по данной работе необходимо сделать некоторые замечания.

В таблицах 3.13 и 3.14 на стр.132-133, иллюстрирующих снижение заболеваемости пшеницы и томата, инокулированных изучаемыми штаммами, указана распространенность заболевания, в то время как основной обязательный показатель, характеризующий защитный эффект – это развитие болезни. Рассчитывается как сумма произведений больных растений на соответствующий балл или % поражения, деленная на число больных растений. По одному показателю распространенности заболевания неправомерно делать выводы об эффективности тестируемых штаммов.

Вызывает сомнение формулировка п.3.5.2. Создание стабильной формы лабораторного образца микробиологического препарата. Данную препаративную форму, срок хранения которой составляет всего 2 месяца никак нельзя назвать стабильной. Для создания стабильной препаративной формы требуются дальнейшие исследования по оптимизации ее компонентного состава.

Перечисленные замечания не снижают общую высокую оценку представленной работы. Диссертационная работа А.В.Щербакова «Эндофитные сообщества сфагновых мхов как источник бактерий – эффективных ассоциантов сельскохозяйственных культур» выполнена на высоком научно-методическом уровне, имеет заверченный характер, обладает теоретическим и практическим значением. Обработка полученных материалов проведена с использованием современных статистических методов. Выводы соответствуют цели и задачам проведенных исследований, конкретны и доказательны. По материалам диссертации опубликовано 30 печатных работ, 6 из них – в ведущих рецензируемых научных изданиях ВАК, 3 статьи в ведущих иностранных журналах, 1 глава в книге, получен 1 патент. Автореферат соответствует содержанию диссертации. Работа содержит обширный, оригинальный материал, имеющий большое значение для фундаментальной науки, а также способствующий разработке современных экологически безопасных биотехнологий для растениеводства, и соответствует требованиям, указанным в Положении о присуждении ученых степеней (Постановление правительства РФ от 24 сентября 2013 г. №842), а ее автор, Щербаков Андрей Васильевич безусловно заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.03 – «микробиология».

Ведущий научный сотрудник
лаборатории микробиологической
защиты растений, к.б.н.

И.В.Бойкова

Ведущий научный сотрудник
лаборатории микробиологической
защиты растений, д.б.н.

И.И.Новикова

Подпись руки
удостоверяю



ВЕД. СПЕЦ. ПО КАДРАМ
ПЛАХОВА

Бойковой И.В. и Новиковой И.И.
15.09.2014 г.