

ОТЗЫВ

Официального оппонента на диссертационную работу

Щербакова Андрея Васильевича

«Эндоеитные сообщества сфагновох мхов как источник бактерий – эффективных ассоциантов сельскохозяйственных культур», представленную на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.03 – микробиология.

Диссертация А.В. Щербакова посвящена изучению пространственной локализации и выделению эндоеитных бактерий растений сфагновох мхов различного видового состава и разных мест обитания, молекулярно-генетической идентификации штаммов широкого географического происхождения, их фенотипической характеристике, изучению хозяйственно-ценных свойств (ростстимулирующих, фитопротекторных и т. д.), а также отбору перспективных штаммов для дальнейшего создания на их основе высокоэффективных микробиологических препаратов для сельского хозяйства.

Актуальность работы связана с тем, что она затрагивает одну из важных проблем современной с/х микробиологии – оценку потенциала микроорганизмов, ассоциированных с растениями, в данном случае со сфагновоыми мхами, для их возможного применения в разработке высокоэффективных микробиологических препаратов для растениеводства. В последнее время в мировой практике разработан ряд биопрепаратов, основу которых составляют полезные штаммы эндоеитных и ризобактерий. В некоторых случаях применение биопрепаратов позволяло значительно увеличить продуктивность растений и качество продукции, а также защитить растения от болезней, заменяя, таким образом, химические пестициды. Таким образом, разработка микробных препаратов и удобрений на основе эндо-

фитных бактерий является актуальным направлением с/х микробиологии. Автором показана способность микроорганизмов, выделенных из растений сфагновых мхов, активно колонизировать сельскохозяйственные культуры и оказывать благоприятное влияние на их рост и развитие.

Научная новизна работы состоит в том, что автором впервые в России выделены микроорганизмы, ассоциированные со сфагновыми мхами из различных, удаленных географических регионов Евразийского континента, проведена молекулярно-генетическая идентификация штаммов широкого географического происхождения, 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, что, предположительно, и обеспечивает уникальные свойства сфагновых мхов противостоять развитию бактериальных и грибных заболеваний. Установлено, что одни и те же виды сфагновых мхов, отобранные в различных географических регионах, являются местообитаниями для представителей одних и тех же таксономических групп. Впервые в мире показано, что эндофитные бактерии, выделенные из тканей сфагновых мхов, способны активно взаимодействовать с культивируемыми в сельском хозяйстве растениями и оказывать положительное влияние на их рост и развитие. Впервые в мире созданы эффективные лабораторные образцы микробиологических препаратов на основе эндофитных бактерий, выделенных из сфагновых мхов.

Практическая значимость работы. Создана коллекция штаммов эндофитных микроорганизмов, характеризующихся наличием важных, хозяйственно-ценных свойств, таких как антагонизм по отношению к фитопатогенным грибам и бактериям, ростстимуляция, способность к мобилизации малодоступных для растения соединений фосфора, ферментативная активность и др. Наиболее перспективные штаммы депонированы во Всероссийской коллекции микроорганизмов

сельскохозяйственного назначения. Апробирована технология получения и применения лабораторных образцов микробных препаратов на основе эндофитных бактерий сфагновых мхов.

Структура и объем. Диссертационная работа А.В. Щербакова изложена на 179 страницах, состоит из введения, 3 глав, заключения, выводов, списка литературы и приложения. Диссертация включает 44 таблицы и проиллюстрирована 31 рисунком высокого качества. Список цитированной литературы включает 400 источников, из которых 376 иностранных.

Первая глава (Обзор литературы) посвящена анализу опубликованной к настоящему времени информации об экологической роли, распространении, видовом составе микроорганизмов болотных экосистем. Обобщены результаты исследований микроорганизмов, ассоциированных с растениями рода *Sphagnum*. Рассмотрены материалы о полезных растительно-микробных системах в сельскохозяйственной биотехнологии. Изложены результаты и перспективы практического использования эндофитных бактерий. Выделены наиболее востребованные направления, связанные с исследованием, разработкой и применением высокоэффективных микробиологических препаратов для растениеводства. Представленная информация более чем достаточна для понимания результатов работы.

Вторая глава (Материалы и методы) диссертации посвящена описанию методик сбора, обработки и анализа имеющегося материала. Образцы сфагновых мхов отбирали в ходе экспедиций на территории трех географически удаленных регионов: Австрийских Альп, Ленинградской области и Западной Сибири. Для обработки материалов использовались современные методы молекулярной биологии, флуоресцентной *in situ* гибридизации (FISH), конфокальной сканирующей лазерной микроскопии (CSLM) и пр., что позволяет считать представленные результаты корректными и репрезентативными. В

главе также обсуждаются особенности методов работы, существенные для каждого из экспериментов с целью создания оптимальных условий их проведения. Сведения об использованных методах изложены подробно и дают полное представление о ходе определений. В целом, методология экспериментов полностью адекватна поставленным задачам исследования.

Третья глава (Результаты исследований и обсуждение) очень обширна, в ней представлены все полученные автором результаты и проводится их обсуждение. В начале главы автор приводит характеристику и географию отбора образцов сфагновых мхов. Комбинация методов флюоресцентной *in situ* гибридизации и конфокальной лазерной микроскопии, а также компьютерная трехмерная реконструкция, позволили детерминировать представителей различных таксономических группировок внутри тканей сфагнума, т.е. автор приходит к выводу о том, что эндофитные бактерии являются характерными обитателями гаметофитов сфагнума. Важным моментом, выявленным в ходе исследований, является формирование бактериальными эндофитами микроколоний внутри гиалоцитов сфагнума, существующих в тесной взаимосвязи с растением-хозяином. Акцент исследований в данной диссертационной работе был сделан на микроорганизмах, хорошо зарекомендовавших себя в сельскохозяйственной микробиологии - представителях родов *Gamma-* и *Beta-* протеобактерий. Всего в ходе работы из тканей сфагновых мхов было выделено более 400 изолятов культивируемых форм эндофитных бактерий, ряд которых обладает хозяйственно-ценными свойствами. Скрининг изолятов с комплексом хозяйственно-ценных свойств позволил отобрать ряд перспективных штаммов эндофитных бактерий сфагнов. Молекулярно-генетическая идентификация выявила широкое разнообразие выделенных микроорганизмов. Сравнение таксономического состава различных природных популяций гетеротрофных бактерий, ассоциированных со сфагновыми мхами, показало общие закономерности численности различных группировок бактерий. Изучение фунгицидной

активности полученных изолятов бактерий, выделенных из тканей сфагновых мхов, позволило установить, что доля штаммов, способных подавлять развитие фитопатогенных грибов, довольно высока и составляет около 60% от общего числа бактерий. В результате был отобран ряд штаммов, характеризующихся наиболее выраженными фунгицидными и бактерицидными свойствами. Опираясь на полученные результаты, автор отмечает высокий антагонистический потенциал бактерий, ассоциированных со сфагновыми мхами, в отношении бактериальных и грибных фитопатогенов. По результатам исследований дан положительный ответ на ключевой вопрос диссертационной работы: способны ли эндофитные бактерии, выделенные из сфагновых мхов, колонизировать растения сельскохозяйственного значения и оказывать положительное влияние на их рост и развитие. Установлено, что выделенные перспективные штаммы способны активно заселять ризосферу и ризоплану сельскохозяйственных культур. Это свидетельствует о высоком потенциале использования эндофитных бактерий, выделенных из сфагновых мхов, в создании микробиологических препаратов для сельскохозяйственного производства. Автором были разработаны и оптимизированы технологические параметры культивирования ряда перспективных штаммов-продуцентов, а также подобрана оптимальная среда для получения максимально высоких титров бактериальной суспензии. Кроме того, автором приводятся данные об эффективности применения лабораторных образцов микробиологических препаратов не только в микровегетационных, но и полевых экспериментах.

Выводы полностью раскрывают суть содержащихся в 3 главе результатов исследования и соответствуют цели и задачам диссертации.

В целом, диссертация А.В. Щербакова является законченной научно-исследовательской работой, выполненной на высоком методическом уровне и имеющей как фундаментальное, так и практическое значение. Материалы

диссертации изложены в 31 научной работе, в том числе: 9 - в ведущих рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК, из них 3 статьи в ведущих иностранных журналах и апробированы на научных конференциях.

Диссертация А.В. Щербакова содержит ряд недостатков,:

1. Первая глава перегружена информацией, не имеющей прямого отношения к предмету данного исследования, что затрудняет восприятие материала. Так, например, излишне подробно охарактеризованы микроорганизмы болотных экосистем, связанные с круговоротом метана. Тем более, что в заключении к обзору литературы автор закономерно сосредотачивается именно на бактериях, ассоциированными со сфагновыми мхами.
2. В главе 2 иногда даются названия методов и подробно описывается ход определений, но не дается информация для чего эти методы применяются - раздел 2.2 Флуоресцентная *in situ* гибридизация (FISH) и конфокальная сканирующая лазерная микроскопия (CSLM).
3. В начале главы 3 приведена характеристика и география отбора образцов сфагновых мхов. Однако глава 3 предполагает изложение результатов исследования и их интерпретацию. Гораздо логичнее было дать вышеуказанную информацию в главе «Материал и методы», что обычно и делается, тем более, что некоторые сведения такого рода в главе 2 есть.
4. Глава 3 имеет слишком большой объем, что затрудняет восприятие результатов. По характеру представленного материала ее следовало бы разделить как минимум на 2 главы, по отдельности представив результаты полевых исследований и модельных экспериментов.
5. При формулировании выводов автор явно поскромничал. Много было сделано впервые в России и в мире, в выводах об этом ни слова. Следовало бы некоторые выводы начинать со слова «Впервые».

Сделанные замечания не имеют принципиального характера и ни в какой мере не снижают значимость диссертационной работы А.В. Щербакова «Эндوفитные сообщества сфагновых мхов как источник бактерий – эффективных ассоциантов сельскохозяйственных культур».

Автореферат диссертации полностью отражает основное содержание, актуальность, практическую значимость, научную новизну и выводы диссертационной работы.

Работа производит впечатление продуманного и законченного исследования. Тематика работы, формулировка ее цели и постановка задач, научная новизна, использованные методы, а также практическая значимость полученных результатов отвечают требованиям, предъявляемым ВАК к кандидатским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.03 – микробиология.

Старший научный сотрудник
ФГБУН Институт озероведения РАН
кандидат биологических наук

Капустина Л.Л.

9 сентября 2014 г.

*Татьяна
Заварева*

*руководитель
секретарь-референт*

Кандидат наук Л.Л.

Зна Н.Т. Зеленина

