

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию Леонтьевской Елены Алексеевны «Структура эпифитно-сапрофитных бактериальных комплексов зерновых и овощных культур», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.03 – микробиология

Представляемая вашему вниманию диссертация Леонтьевской Елены Алексеевны посвящена изучению одной из самых актуальных проблем, а именно, возможности поддержания созданных человеком экосистем – агроценозов в биологически активном состоянии. Использование широкого спектра биоцидов для борьбы с болезнями растений способствует увеличению урожая, с одной стороны, но с другой, приводит к загрязнению сельскохозяйственных угодий этими опасными ядохимикатами. В настоящее время все чаще внимание исследователей привлекает создание и применение биопрепаратов из симбиотических и ассоциативных микроорганизмов, которые могут обеспечивать растение-хозяина питательными веществами и защищать их от поражения фитопатогенами. Вот почему важной составляющей для их максимальной эффективности является знание состава и свойств микробных комплексов всех компонентов агроценоза.

Поставленные в настоящей работе задачи охватывают широкую область исследований, включая изучение таксономической структуры и численности бактериальных комплексов овощных и зерновых культур разных по структуре агроценозов и, что особенно важно, поиск антагонистов фитопатогенов среди микроорганизмов, выделенных из разных ярусов именно этих агроценозов. Исследования предполагают выявление механизмов антагонистической активности доминантных форм бактерий против возбудителей болезней данных видов растений и, кроме того, определение влияния нарушения режимов землепользования на состав бактериальных комплексов почв.

Проведенная работа включает микробиологический анализ огромного числа бактериальных сообществ из филлосферы, ризосферы и почвы овощных и зерновых культур из разных агроценозов в онтогенезе этих растений. Использование классических микробиологических методов позволило определить родовой состав и количественные изменения в бактериальных сообществах, а также выявить доминантные таксоны для каждого вида растений и почвы под ними. Уточнить таксономическое положение некоторых групп бактерий, которые трудно определяются фенотипическими методами, стало возможным путем применения современных молекулярно-биологических методов. Так, например, использование ПЦР дало

основание отнести некоторых представителей рода *Aquaspirillum*, также как и протеобактерий к роду *Pseudomonas*.

Широкий аналитический охват объектов исследования позволил составить перечень всех таксонов выделенных бактерий, посчитать частоту встречаемости и частоту доминирования разных родов бактерий в изучаемых эконисах. Было показано, что родовая принадлежность бактерий, определенных классическими таксономическими методами, представлена типичными формами эпифитных и почвенных микроорганизмов. С помощью MALDI-TOF MS метода определена видовая принадлежность штаммов созданной бактериальной коллекции из изучаемых агроценозов. Она представлена 17 видами, которые относятся к типичным представителям филлосферы, ризосферы и почвы.

Одной из важнейших задач работы является определение характера взаимодействия микробных сообществ из филлосферы, ризосферы и почвы с фитопатогенами и возможность защиты растений от болезней, вызываемых ими. У всех 56 штаммов из созданной в процессе работы бактериальной коллекции была проверена антагонистическая активность в отношении трех типичных бактериальных фитопатогенов. Она была максимальной почти у 25 % штаммов и обусловлена образованием антибиотиков феназиновой природы, что было показано методом ВЭЖХ. Часть из этих штаммов-антагонистов обладала достаточно высокой бактериолитической активностью, что свидетельствовало об еще одном механизме защиты растения от патогенов.

Работа выполнена на высоком методическом уровне с использованием как традиционных микробиологических, так и современных молекулярно-биологических методов идентификации бактерий, что позволило по-новому оценить состав бактериальных сообществ агроценозов. Для подобных агроценозов в литературе практически нет данных об их изменениях в зависимости от стадии онтогенеза растений.

Такое комплексное исследование разнообразия и численности бактериальных сообществ агроценозов проведено впервые и позволило сделать важный вывод, что таксономический состав бактерий практически не зависит от вида растения, а изменяется в процессе онтогенеза растения и смены экологических условий. Доминирующие на овощах и зерновых культурах бактерии-антагонисты способны защищать их от фитопатогенов. Научно-практическая значимость работы определяется тем, что имеющиеся в коллекции бактериальные штаммы с высокой антибиотической активностью могут быть востребованы в практике получения биопрепаратов, повышающих устойчивость сельскохозяйственных культур.

Диссертант показала хорошее знание литературы и способность к анализу собственных данных на ее основе. Работа написана хорошим научным языком. Сформулированные автором основные научные положения и выводы новы, достоверны и хорошо аргументированы.

Несомненным достоинством работы является изложение полученного экспериментального материала. При огромном его количестве, что неизбежно в процессе выполнения такой задачи, как определение состава и численности микробных сообществ агроценозов, все данные тщательно проанализированы, сгруппированы и представлены в таблицах и на рисунках таким образом, что позволило сформулировать выводы предельно четко и ясно. В результате диссертация получилась очень компактной и лаконичной, а заключение и выводы полностью отражают решение поставленных задач.

Однако к работе имеется ряд замечаний:

- на стр.5 среди положений, вынесенных на защиту, автор пишет о санитарной роли микробных сообществ почвы, хотя здесь и далее в тексте речь идет именно о санитарной роли самой почвы;

- на рис. 29, иллюстрирующем литическую активность штаммов, их номера на чашках не соответствуют ни одному из номеров штаммов, которые перечислены в таблицах 6 – 9;

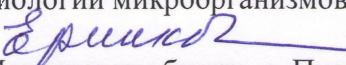
- на стр. 65 непонятно по каким показателям и именно какие 6 штаммов из 15 с максимальной антагонистической активностью были отобраны для определения их видовой принадлежности на основании последовательности 16S рРНК.

Однако указанные замечания не снижают ценности работы. Диссертация Е.А. Леонтьевской является самостоятельным завершенным исследованием, содержащим решение актуальной научной задачи и свидетельствующим о личном вкладе автора в науку. Достоверность полученных данных не вызывает сомнения, выводы диссертационной работы теоретически обоснованы, автореферат адекватно отражает содержание работы.

Основные результаты исследований опубликованы в 11 работах, среди которых 3 статьи в журналах, рекомендованных ВАК. Результаты диссертационного исследования докладывались на 6 научных конференциях, 4 из которых являются международными. Данные публикации подтверждают высокую квалификацию соискателя.

По своей актуальности, научно-методическому уровню, новизне полученных результатов и практической значимости диссертационная работа Леонтьевской Е.А. «Структура эпифитно-сапрофитных бактериальных комплексов зерновых и овощных культур» полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», ут-

вержденного постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 года № 842 предъявляемым к кандидатским диссертациям, а её автор достоин присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.03 – микробиология.

Старший научный сотрудник лаборатории микробной энзимологии
Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН»
Канд.биол. наук  И.Т. Ермакова

Почтовый адрес 142290, Московская область, г. Пущино, пр-кт Науки, 5
Телефон (4967) 31 85 76

Электронный адрес ermakova@ibpm.pushchino.ru

Наименование организации полное/краткое ФГБУН «Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН» / ИБФМ РАН

08 декабря 2014 г.

Подпись к.б.н. Ермаковой И.Т. удостоверяю
Ученый секретарь ИБФМ РАН
Д.б.н.

Решетилова Т.А.

