

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию Загрядской Юлии Александровны «Влияние базидиальных грибов лесных биотопов на почвенные бактериальные сообщества», представленной к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.03. – микробиология.

1. Актуальность темы диссертации.

Природные богатства России выдвигают её на особое, ведущее место в мировом сообществе. Уникальные запасы ископаемых, водные и почвенные ресурсы позволяют при разумной их эксплуатации обеспечить высокий уровень жизни не только современному населению, но и его потомкам. Тем не менее, до настоящего времени мы этого не наблюдаем. Основная причина кроется в недостаточной научной проработке эксплуатации природных ресурсов, отстраненности научных специалистов от управления природными богатствами, низкой изученности закономерностей формирования и функционирования микробных сообществ в почвенном ценозе.

В связи с этим диссертационная работа Загрядской Ю. А. посвященная оценке бактериальных сообществ в естественных местообитаниях, остающихся пока еще мало изученными, таких как гифосфера, микоризосфера, а также плодовые тела базидиомицетов представляет несомненный интерес. Актуальность выполненной работы обусловлена получением новых данных, восполняющих существующий пробел в знаниях о структуре микробного комплекса почв лесных биотопов. Очень важными являются также и сведения о том насколько оригинальными могут быть микробные сообщества гифо- и микоризосферы, по сравнению с почвенными и специфичны ли бактериальные сообщества гифосферы базидиомицетов разных морфологических и эколого-трофических групп. Полученные сведения дают информацию не только о структуре этого сложного сообщества (грибы, бактерии, растения и почва), но и будут полезны для понимания функций всех его компонентов.

2. Общая методология и методика исследования.

Несмотря на сложность и достаточную широту поставленных задач, которые связаны с анализом гетерогенных, поликомпонентных почвенных систем Ю.А.Загрядской удалось создать четкую систему комплексного анализа микробных сообществ используя классические методы почвенной микробиологии, моделирование биологических систем, кластерный анализ и метод главных компонент. Планируемое количество измерений и анализов обеспечило достоверность полученных данных.

3. Степень обоснованности и достоверности каждого из полученных научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации.

Автором проведен серьезный анализ научной литературы (165 источников), а также детально в течение 2010-2013 годов исследовано 87 образцов почвы, что позволило достоверно решить поставленную в диссертации задачу – выявить влияние базидиальных макромицетов на почвенные бактериальные комплексы в лесных биоценозах. В результате появляется возможность понять специфику воздействия базидиальных грибов на формирование бактериальных сообществ и биоценотические связи, складывающиеся между грибами и бактериями.

Проведенная работа, в основном, носит описательный характер, однако это вполне закономерно и оправданно на данном этапе исследований. Несомненным достоинством работы является грамотный отбор образцов для исследования и представительная выборка. Автором проведено детальное изучение бактериальных комплексов образцов гифосферы, микоризосферы и плодовых тел 34 видов базидиомицетов, относящихся к 20 семействам, трем морфологическим и эколого-трофическим группам. Установлена общая численность бактерий с помощью прямого микроскопирования, определена численность и таксономическая структура сапротрофных бактериальных комплексов всех изученных мест обитания.

Ю.А.Загрядской было показано, что базидиомицеты различных морфологических групп оказывают разное воздействие на общую численность бактерий в их гифосфере. Так, в гифосфере большинства афиллофороидных и гастероидных базидиомицетов общая численность бактерий увеличивалась, по сравнению с контролем, тогда как в гифосфере большинства агарикоидных,

напротив, уменьшилась. Автор, основываясь на литературных данных, различия в численности связывает с продукцией антибактериальных веществ некоторыми видами базидиомицетов. Использование красителя L7012, позволяющего дифференцировать мертвые и живые бактериальные клетки, также показало существование двух групп базидиомицетов с разным характером действия на бактерии. К сожалению, жизнеспособность бактериальных клеток была оценена в гифосфере только 5 базидиомицетов. Низкая выборка не позволяет сделать уверенное заключение, что снижение численности может быть связано с гибеллю бактериальных клеток.

Полученные данные по оценке таксономической структуры и их математическая обработка свидетельствуют о значительном сходстве сапротрофных бактериальных комплексов гифосфера базидиомицетов, принадлежащих к разным морфологическим и эколого-трофическим группам. В то же время использование метода флуоресцентной гибридизации *in situ* показало, что бактериальные сообщества гифосфера трех изученных видов базидиомицетов существенно различаются между собой и отличаются от бактериальных сообществ контрольной почвы. Впервые были обнаружены представители филумов *Verrucomicrobia* и *Planctomycetes*, содержание которых было различным в гифосфере изученных базидиомицетов.

Сравнительный анализ образцов микоризосфера, гифосфера и контрольной почвы агарикоидных базидиомицетов, формирующих эктомикоризу, выявил различия в численности и таксономическом составе бактериальных комплексов. Так, численность сапротрофных бактерий в микоризосфере и гифосфере эктомикоризных грибов была выше, чем в контрольной почве. В контрольной почве и гифосфере всех изученных видов доминировали грамположительные бактерии, в микоризосфере — увеличивалась доля грамотрицательных бактерий. Полученные данные свидетельствуют о значительном влиянии микоризованных корней растений на сапротрофные почвенные бактерии и это влияние гораздо существеннее, чем влияние гифосфера.

Автором было установлено, что плодовые тела базидиомицетов, также как и гифо- и микоризосфера, являются местом обитания миллиардов бактериальных клеток, тем самым поддерживая численность и разнообразие бактериального

комплекса лесных биотопов. Структура сапротрофного бактериального комплекса плодовых тел зависела от способа их разложения (автолиз или присутствие личинок мицетофилид). Сравнительный анализ показал, что структуры бактериальных комплексов сапротрофных бактерий плодовых тел базидиомицетов сходны между собой и с комплексами микоризосферы, но отличаются от комплексов гифосферы своих видов.

Интересны данные модельного эксперимента по адгезии бактерий на гифах базидиомицетов, которые свидетельствуют о явной зависимости этого процесса от родовой принадлежности бактерии и вида базидиомицета.

Полученные автором результаты и их сопоставление с данными литературы свидетельствуют о существенном вкладе базидиомицетов в структуру микробного сообщества лесных экосистем.

4. Научная новизна.

Впервые проведено исследование бактериальных комплексов гифосферы и микоризосферы 34 видов базидиомицетов. Показано значительное отличие бактериальных комплексов микоризосферы от гифосферы и контрольной почвы. Показано, что структура сапротрофного бактериального комплекса плодородных тел базидиомицетов зависит от способа их разложения и характеризуется доминированием бактерий родов *Aeromonas* и *Vibrio* и бактерий рода *Pseudomonas*.

5. Выводы и рекомендации.

Большой объем экспериментального материала, полученного автором позволил сформировать конкретные выводы, которые вытекают из представленных исследований, аргументировано обосновать выявленные закономерности и дать практические рекомендации экологической, биотехнологической и лесотехнической службам, а также получить ценную информацию для лекционных курсов по этим направлениям.

6. Замечания и пожелания по содержанию и оформлению работы.

К рассмотренной диссертации имеются некоторые замечания и пожелания:

- в разделе методы следовало, хотя бы кратко, описать используемый метод флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH), а не ограничиваться только ссылкой;

- на приведенных фотографиях (стр. 110-111) почему-то не указан масштаб;
- в списке литературы ошибки при написании ссылок 73 и 77; отсутствует единая система оформления ссылок — не везде точки между инициалами и пробелы.

Однако высказанные замечания не снижают ценности диссертационной работы Ю.А.Загрядской. Полученные автором научные результаты имеют не только большое теоретической значение, но и позволяют обоснованно подходить к экологическим и биотехнологическим решениям.

7. Соответствие работы требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертационная работа Загрядской Ю. А. является оригинальным завершенным исследованием, содержащим решение актуальных задач и свидетельствующем о личном вкладе автора в науку. Диссертант продемонстрировала хорошее знание литературы и способность использовать ее для обсуждения полученных результатов. Сформулированные автором основные научные положения и выводы новы, достоверны и хорошо аргументированы. Заключение и выводы полностью отражают решение поставленных задач. Автореферат отражает содержание работы.

Выдвинутые в работе научные положения обоснованы и логично вытекают из представленного обзора литературы. Работа выполнена грамотно с использованием адекватных методов. Полученные данные о бактериальных комплексах гифосфера, микоризосфера, плодовых тел базидиомицетов и контрольной почвы обработаны с помощью количественного модифицированного коэффициента Серенсена, кластерного анализа и метода главных компонент. Проведенная обработка свидетельствует о достоверности полученных данных.

Основные результаты работы опубликованы в 12 научных статьях и неоднократно докладывались на российских и международных конференциях. Проводимая работа дважды поддерживалась грантами РФФИ, что свидетельствует о фундаментальном характере исследований.

По своей актуальности, научно-методическому уровню, новизне полученных результатов, практической значимости диссертационная работа Загрядской Ю. А. «Влияние базидиальных грибов лесных биотопов на почвенные бактериальные

сообщества» полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г., предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор - Ю.А.Загрядская заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.03 – микробиология.

Ведущий научный сотрудник
Лаборатории микробной экотехнологии
ФГБНУ ВНИИ сельскохозяйственной
микробиологии,
доктор биологических наук


Архипченко Ирина Александровна

Почтовый адрес: 196608, Санкт-Петербург, Пушкин, ш.Подбельского, 3
Телефон: + 7 921 995 23 85; сл. (812) 476 30 17

Электронный адрес: arkhipchenkoirina@mail.ru

Наименование организации полное\краткое: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии» \ ФГБНУ ВНИИСХМ

Подпись Архипченко И. А. заверяю,
Ученый секретарь ФГБНУ ВНИИСХМ
кандидат биологических наук

С.М. Алисова

20.01.2015 г.

