

ОТЗЫВ официального оппонента
на диссертацию на соискание ученой степени доктора биологических
наук Батаевой Юлии Викторовны
на тему: «Особенности микробных комплексов аридной зоны в условиях
агро- и техногенеза и их биотехнологическая значимость»
по специальностям 1.5.11. – Микробиология и 1.5.6. – Биотехнология

Актуальность.

Современная биотехнология все чаще рассматривает почву как главный природный банк при поиске культур микроорганизмов с любыми полезными для человека свойствами. Значительный интерес представляют собой микроорганизмы, выделенные из экстремальных местообитаний, поскольку именно они, по мнению ряда авторов, характеризуются более высокой биологической активностью по сравнению со штаммами, выделенными из почв умеренных широт. Выяснение свойств почв, способствующих формированию и сохранению биоразнообразия, получение культур микроорганизмов, обладающих биотехнологическим потенциалом (синтез вторичных метаболитов, веществ-антагонистов, гидролитической деятельности природных полимеров и ксенобиотиков, способность к азотфиксации) – важнейшая научная проблема современной биологии и почвоведения. К настоящему времени накоплен материал по изучению микробных комплексов экосистем с аридным климатом. Однако малоизучены микроорганизмы, с полезными свойствами, синтезирующие биологически активные вторичные метаболиты, развивающиеся в экстремальных аридных зонах. В этой связи, несомненно актуальной и первоочередной задачей, нашедшей свое решение в работе Батаевой Ю.В. представляется исследование структуры комплексов цианобактерий и актиномицетов водных и наземных экосистем, обоснование их биотехнологической роли в аридной зоне как микроорганизмов с аллелопатическими, фитостимулирующими, противовирусными,

фунгицидными и другими свойствами, а также разработка технологий получения биопрепаратов на их основе.

Общая характеристика и оценка содержания работы.

Диссертация Ю.В.Батаевой построена по традиционному плану, включает следующие разделы: Введение, Обзор литературы, Материалы и методы, Результаты и обсуждение, Заключение. Выводы. Приложение. Работа изложена на 556 страницах текста, основной текст диссертации содержит 91 таблицу и 95 рисунков. Список литературы включает 776 источников из них 321 на иностранных языках.

Основные результаты работы опубликованы в 172 научных работах, из них 22 статьи в журналах, рекомендованных ВАК, 8 - статей в журналах, рецензируемых в Scopus и WoS, 3 - патента на изобретение, 1 - патент на полезную модель, 5 - свидетельств о государственной регистрации базы данных, 1 - свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ, 12 учебно-методических работ, в том числе учебное пособие с грифом УМО по классическому университетскому образованию.

Автореферат полностью отражает содержание диссертации.

Глава "Обзор литературы", в котором представлены необходимые сведения об особенностях существования микроорганизмов в экосистемах аридных зон. Основное внимание уделено роли цианобактерий и актиномицетов в водных и почвенных экосистемах, положительном и антагонистическом влиянии на растения микроорганизмы за счет продуцирования вторичных метаболитов. Проанализированы результаты исследований, связанных с биотехнологическим использованием цианобактерий и актиномицетов. Данные "обзора литературы" полностью раскрывают актуальность и значимость поставленной проблемы исследования и дают представление о состоянии обсуждаемых вопросов на современном уровне. Обзор содержит анализ имеющейся отечественной и зарубежной литературы, качественно проиллюстрирован схемами, таблицами

и рисунками, в том числе полученными Ю.В.Батаевой из собственных обзорных статей автора.

В главе "**Материалы и методы**" (представлена на 61 странице) достаточно подробно изложена информация об объектах исследования - цианобактериях, выделенных из исследуемых водных, почвенных, ризосферных экосистем; актиномицетах, выделенных из засоленных почв. Почвы региона исследований и техногенные водоемы представляют собой экстремальные экосистемы с высокой концентрацией солей и низкой влажностью, с повышенной степенью засоления. Дано обоснование примененных подходов и использованных методов. Работа выполнена на высоком методическом уровне, включая классические и современные методы. В работе использованы микробиологические, молекулярно-генетические, биотехнологические, физико-химические, биохимические, токсикологические, биологические и статистические методы исследования, а также методы биотестирования. Хорошо представлены защищаемые положения, научная новизна, практическая значимость. Исследование представляет собой комплексный подход, в котором подробно описываются методы выделения, идентификации и изучения свойств и метаболитов микроорганизмов, методика проведения лабораторных и полевых экспериментов.

Глава "**Результаты и их обсуждение**" изложена на 263 страницах и представлена в 9-ти разделах. Впервые обобщены многолетние исследования распространения различных видов цианобактерий и состава цианобактериальных комплексов в разнотипных природных и техногенных водных и почвенных экосистемах Астраханского региона. Показано, что наибольшее разнообразие видов цианобактерий присуще озерным экосистемам Волго-Ахтубинской поймы и аллювиально-луговым почвам. Основой фототрофных комплексов почв является род *Phormidium*, водных экосистем – *Oscillatoria*.

В накопительных культурах на основе разнотипных почв установлено, что представители отдела Cyanobacteria составляют 71 % от общего числа

изученных почвенных фототрофов. Анализ всех почвенных образцов позволил выявить 95 видовых и внутривидовых таксонов цианобактерий. Анализ экологических особенностей показал доминирование Р – жизненной формы.

Наибольшее многообразие и распространение почвенных комплексов актиномицетов встречалось в образцах почв с повышенной степенью засоления.

Впервые изучены техногенные водоёмы на территории Астраханского газоконденсатного и Баскунчакского гипсового месторождений на присутствие цианобактерий.

В накопительных культурах, из техногенных водоёмов с экстремальными гидрохимическими условиями, впервые получены цианобактериальные сообщества резистентные по отношению к высокому содержанию неорганических фосфатов и общему содержанию солей, при этом под влиянием концентраций фосфора происходит изменение морфологии сообществ.

Впервые идентифицированы экзогенные метаболиты альго-цианобактериального сообщества, выделенного из природного водоема реки Ахтубы Астраханского региона, включающие насыщенные, ненасыщенные и ароматические углеводороды, карбоновые кислоты, фенольные и терпеновые соединения и их производные. Показано, что с развитием сообщества происходят изменения не только состава и количества водорослей и бактерий, но и вторичных метаболитов, проявляющееся в увеличении концентрации и разнообразия алкановых углеводов.

Впервые исследован фитостимулирующий, фунгицидный, колонизирующий и антиоксидантный эффекты циано-бактериальных сообществ и культуры *Anabaena constricta* IPPASB-2020, выделенных из почв региона исследований. Определена оптимальная концентрация экспериментального образца биоудобрения для обработки семян и развивающихся растений томата, перца, хлопчатника. Разработан способ

повышения урожайности растений и защиты от фитопатогенов на основе цианобактерий. Изучены вторичные метаболиты цианобактерий, представленные терпеноидами, флавоноидами, алкалоидами, пептидом, а также органические кислоты: аспарагиновая, муравьиная, пропионовая, фумаровая, изолимонная, молочная, уксусная, пировиноградная.

Впервые при внесении в засоленные экспериментальные сточные воды пищевого производства циано-бактериальных сообществ и культуры *Phormidium ramosum* IPPASB-2022 происходит деградация органических веществ, обеспечиваемая совместным участием цианобактерий и бактерий-спутников. Циано-бактериальные сообщества и их спутники проявляли липолитическую и протеолитическую активности.

Впервые из почвенных экосистем с различной степенью солености выделены штаммы бактерий *Streptomyces carpaticus* RCAM04697 (редкий вид), *Nocardiopsis umidischolae* RCAM04882, *Nocardiopsis umidischolae* RCAM04883, оказывающие ингибирующее действие на вирусы растений, а также обладающие высокими фитостимулирующими, фунгицидными и антиоксидантными свойствами, что делает их перспективными продуцентами для создания биопрепаратов. Данные штаммы способны синтезировать соединения, компонентный состав которых определен впервые: флавоноиды, алкалоиды, гликозиды, органические кислоты (изолимонная, уксусная, фумаровая, молочная, яблочная, лимонная, пировиноградная), антибиотики (нарбомицин, тилозин, форомацидин С, эритромицин), фенол – протокатеховый альдегид. В составе вторичных метаболитов штамма *S. Carpaticus* RCAM04697 обнаружены спирты, альдегиды, углеводороды, эфиры, сульфаты и другие функциональные группы, представляющие собой полезные соединения для разработки методов защиты агроэкосистем.

С помощью молекулярно-генетических методов идентифицированы две культуры цианобактерий (*Anabaena constricta* IPPASB-2020, *Phormidium ramosum* IPPASB-2022) и три штамма актиномицетов (*S. carpaticus*

RCAM04697 (редкий вид), *N. umidischolae* RCAM04882, *N. umidischolae* RCAM04883. Выполнено полногеномное секвенирование штамма *S. carpaticus* RCAM04697. Впервые в базе данных NCBI GenBank задепонирована полногеномная последовательность штамма *S. Carpaticus* под номером CP104005.1.

Изучена патогенность (вирулентность, токсичность, токсигенность, диссеминация) штамма *S. carpaticus* RCAM04697 для теплокровных животных.

Полученные Ю.В.Батаевой результаты обладают научной новизной. Данные об уникальных свойствах микроорганизмов расширяют фундаментальные знания о природе взаимоотношений микроорганизмов друг с другом и растениями в природных агро- и техногенных условиях и задают ориентир исследований на значительно более широкий круг объектов.

Настоящее исследование имеет выраженное прикладное значение и направлено на решение таких важных биологических и сельскохозяйственных задач, как экологизация сельского хозяйства и применение экологически безопасных и эффективных микробиологических удобрений, и средств защиты растений; разработка биодеструкторов органических соединений для очистки сточных вод; разработка препаратов для биоремедиации техногенных территорий. Исследование важно в научных целях при изучении и мониторинге микроорганизмов аридных зон; при создании баз данных по цианобактериям и актиномицетам; изучении и использовании микроорганизмов, как источников ценных в практическом отношении биологически активных соединений. На основе выделенных в ходе работы штаммов актиномицетов разработаны схема получения и инструкция по применению экспериментальных образцов, которая апробирована в полевых условиях аридной зоны на томате и картофеле. Разработан способ стимуляции роста и развития растений, повышения урожайности и защиты от фитопатогенных грибов в аридной зоне с помощью цианобактерий. Итогом работы стала разработка экспериментальных

образцов биопрепаратов на основе штаммов актиномицетов и цианобактерий с целью стимуляции роста и развития растений, повышения урожайности и защиты от фитопатогенных вирусов и грибов.

В главе "**Заключение**" автором диссертационного исследования подведён итог выполненной работы, логично обсуждены основные результаты работы и даётся оценка их фундаментального и прикладного значения.

Выводы, сделанные в работе, соответствуют цели и задачам исследования. Они обоснованы и достоверны. **Положения, выносимые на защиту**, подтверждены результатами диссертационного исследования.

Замечания. Принципиальных недостатков работа не имеет. Основные замечания носят рекомендательный и дискуссионный характер.

Производство высококачественной пищи для быстро растущего населения Земли (7,2 млрд человек в 2015 г., 10 млрд - прогноз на 2025 г.) определяется главным образом увеличением урожайности растений, что в первую очередь зависит от их снабжения азотом. Существующие ныне агротехнологии, односторонне ориентированные на применение всё более возрастающих доз минеральных (в основном, азотных) удобрений, фактически исчерпали себя, во-первых из-за дороговизны и, во-вторых, из-за быстро растущих экологических рисков ("эвтрофикация" водоремов и рост концентрации в атмосфере Земли закиси азота (N_2O) - важнейшего "парникового" микрогаза.). Альтернативой однозначно считается широкое использование для азотного питания растений бактерий-азотфиксаторов, способных обеспечить безопасное развитие и рост растений. К сожалению, в работе не уделяется должного внимания анализу азотфиксирующей активности исследуемых метафункциональных цианобактерий. Влияло ли изменение рН среды на нитрогеназную активность?

В отношении анализа актиномицетной компоненты, хотелось бы уточнить каков механизм воздействия стрептомицетов на фитопатогенные грибы. Это результат вторичного метаболизма (синтеза антибиотиков) или

роль гидролитических хитинолитических ферментов, разрушающих хитинсодержащую клеточную стенку грибов?

Хотелось бы пожелать автору в будущем выходить на молекулярный уровень, оценивая наличие и экспрессию генов при решении вопросов, связанных с характеристикой определенных процессов прокариотного сообщества.

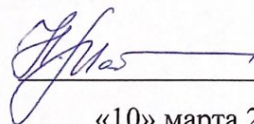
В работе ничего не упоминается о структуре и роли архейной компоненты прокариотного сообщества, хотя исследуются экосистемы экстремальных местообитаний и можно предположить, что наличие метаболически активных представителей этой группы существенно.

Заключение. Вместе с тем, указанные замечания не умаляют значимости диссертационного исследования. Диссертационная работа Ю.В.Батаевой выполнена на высоком научном и методическом уровне. Актуальность темы, общий объем исследований, безусловная достоверность результатов и их новизна, обоснованность выводов и практическая значимость работы позволяют высоко оценить труд диссертанта. Диссертация является законченной научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований разработаны теоретические положения, позволяющие решить крупную научную проблему, имеющую также важное хозяйственное значение. Диссертация отвечает требованиям пунктов 9-11, 13, 14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 г., с изменениями, опубликованными в Постановлениях Правительства РФ от 24.04.2016 г. № 335, от 02.06.2016 г. № 748, от 29.05.2017 г. № 650, от 28.08.2017 г. № 1024, от 01.10.2018 г. № 1168 и т.д., предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук, а ее автор, Ю.В.Батаева заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальностям 1.5.11. – Микробиология и 1.5.6. – Биотехнология.

Официальный оппонент:

доктор биологических наук, профессор
профессор кафедры биологии почв факультета почвоведения
федерального государственного бюджетного образовательного учреждения
высшего образования «Московский государственный университет имени
М.В.Ломоносова»

Манучарова Наталия Александровна



«10» марта 2023г.

Контактные данные:

тел.: 7(495)9393405, e-mail: manucharova@mail.ru

Специальность, по которой официальным оппонентом
защищена диссертация:

03.02.03 – микробиология

Адрес места работы:

119991, г.Москва, ГСП-1, Ленинские Горы, д. 1 стр.12,

МГУ имени М.В.Ломоносова, факультет почвоведения

Тел.: 7(495)9392947; e-mail: main@soil.msu.ru

Подпись профессора кафедры биологии почв
факультета почвоведения МГУ имени М.В.Ломоносова
Н.А.Манучаровой удостоверяю:

И.о.декана факультета почвоведения

МГУ имени М.В.Ломоносова

чл.-корр. РАН

П.В.Красильников



«10» марта 2023г.