

УТВЕРЖДАЮ

Директор Института биохимии и физиологии
микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина
Российской академии наук – обособленного
подразделения Федерального государственного
бюджетного учреждения науки
«Федеральный исследовательский центр
«Пушкинский научный центр
биологических исследований
Российской академии наук»
доктор биол. наук Леонтьевский А.А.



«17» января 2023 г.

ОТЗЫВ

ведущей организации на диссертационную работу
Масленниковой Светланы Николаевны

«Обоснование использования штамма *Pseudomonas asplenii* 11RW для создания
фунгицидного препарата широкого спектра действия», представленную на соискание
ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.11 – Микробиология

Повышение урожайности сельскохозяйственных растений - одна из основных задач в обеспечении продовольственной безопасности России. Набор генов культурных растений довольно ограничен и поэтому микроорганизмы, взаимодействующие с ними, способны значительно повышать адаптационный потенциал растительно-микробных ассоциаций. В растительно-микробных взаимодействиях важную роль играют бактерии, относящиеся к группе PGPR (сокращение от Plant Growth-Promoting Rhizobacteria - ризосферные бактерии, стимулирующие/улучшающие рост растений). В настоящее время достаточно хорошо исследован метаболизм и генетика этих ассоциативных бактерий. Среди PGPR различных таксономических групп наиболее перспективными для растениеводства являются бактерии рода *Pseudomonas*, поскольку указанные бактерии активно колонизируют корни растений, стимулируют их рост, индуцируют иммунный ответ растений и подавляют рост и развитие широкого спектра фитопатогенов. Псевдомонады имеют короткое время генерации и высокую скорость роста по сравнению с другими ризосферными бактериями, а также легко культивируются в лабораторных условиях.

Особый практический интерес представляют PGPR *Pseudomonas*, относящиеся к флюоресцирующим видам бактерий этого рода: *P. fluorescens*, *P. aureofaciens*, *P. chlororaphis*, *P. corrugate*, *P. putida* и т.д. Несмотря на уже имеющиеся на рынке микробиологические биопрепараты для защиты растений от фитопатогенов, потенциал PGPR *Pseudomonas* до конца не исчерпан, о чем свидетельствует большое количество публикаций, касающихся выделения и характеристики новых штаммов, их геномного секвенирования, а также исследования структурных и регуляторных генов,

контролирующих специфические свойства этих бактерий, необходимые для взаимодействия с фитопатогенами и растениями. Актуальность этих исследований, в первую очередь, связана с интересом, который во всем мире проявляют к биологическому земледелию. Очевидно, что с точки зрения природоохранного земледелия биологические средства защиты растений являются единственной альтернативой химическим фунгицидам. В связи с вышесказанным, актуальность диссертационной работы Масленниковой С.Н. не вызывает никаких сомнений, поскольку ставит своей целью выделение и исследование нового штамма бактерий рода *Pseudomonas* и разработку на его основе высокоэффективного биопрепарата с широким спектром действия против фитопатогенов сельскохозяйственных культур.

Полученные в ходе выполнения диссертационной работы результаты обладают несомненной новизной, поскольку разработан биофунгицид на основе малоизученного вида *Pseudomonas asplenii*. Получены новые данные о возможности применения штамма *P. asplenii* 11RW для защиты и стимуляции роста растений. Показана способность нового штамма к подавлению очень широкого спектра фитопатогенов за счет синтеза сидерофоров и продукции антимикробных летучих метаболитов. Установлено также регуляторное действие этого штамма на растения за счет синтеза ауксинов, фосфатмобилизующей активности и продукции аммония. Важным свойством штамма является его безопасность для растений и теплокровных животных, что является необходимым условием при разработке новых биопрепаратов.

Автором разработана питательная среда и условия культивирования штамма для получения нового высокоэффективного биопрепарата. Разработана технология получения биопрепарата, проведены обширные полевые испытания и получены положительные заключения о проведенных опытах. На основе штамма *P. asplenii* 11RW зарегистрирован новый биопрепарат под торговым названием "Биокомполит-Про,Ж", демонстрирующий высокую эффективность в защите растений в полевых условиях.

К новизне полученных результатов можно также отнести продемонстрированную возможность длительного хранения биопрепарата, что несомненно является очень важной характеристикой в сельскохозяйственной практике. Научно-практическая новизна проделанной работы подтверждена также патентами РФ.

В ходе выполнения работы создана новая коллекция ризосферных, эндофитных и эпифитных бактерий, включающая более 350 изолятов, что имеет большую научно-практическую значимость для дальнейшего изучения биоразнообразия микроорганизмов, ассоциированных с растениями, а также возможного их применения в качестве биологических средств защиты растений. Такие новые штаммы как *Pseudomonas asplenii* 11RW (ВКПМ В-13395), *Bacillus amyloliquefaciens* 2RW-2 (ВКПМ В-13578), *Bacillus*

aryabhatai BR4 (ВКПМ В-13579), *Paenibacillus mucilaginosus* 27 (ВКПМ В-13582), *Bacillus mojavensis* 1RW (ВКПМ В-13580), *Bacillus subtilis* 1ES (RCAM03132), *Bacillus* sp. 4ES (RCAM03134), представляют особый интерес для прикладных исследований.

Основные результаты работы доложены в ряде международных и всероссийских научно-практических конференций и опубликованы в 22 научных работах: в 6 статьях в журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ, из них 2 публикации в журналах, входящих в международные базы Web of Science и Scopus; 3 патентах РФ; 6 статьях в других изданиях, а также 7 публикациях в сборниках научных статей и материалах конференций.

Диссертация изложена на 149 страницах печатного текста, содержит 13 рисунков, 57 таблиц, и построена по классическому принципу, включая введение, обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты исследования, обсуждение, заключение, выводы, список литературы, а также рекомендации по использованию результатов, список сокращений и приложение.

Обзор литературы содержит 301 источник и полностью соответствует содержанию работы. В главе материалы и методы довольно подробно описаны условия выделения различных бактерий, анализ их фунгицидной и бактрицидной активности, способы изучения синтеза вторичных метаболитов, ростстимулирующей активности, методы идентификации бактерий и изучения их культуральных и физиолого-биохимических свойств. Подробно описано создание и испытание в полевых условиях опытного образца биопрепарата, а также методы статистической обработки данных.

В экспериментальной части диссертационной работы приводятся результаты собственных исследований диссертанта и их обсуждение. Используя современные микробиологические, биохимические, молекулярно-биологические и физико-химические методы, соискатель убедительно доказал, что синтез фитогормонов, сидерофоров, летучих метаболитов, аммония, фосфатмобилизация, а также антагонистическое и рострегуляторное действие являются основными механизмами биологической активности штамма *P. asplenii* 11RW, позволяющими отнести его к группе PGPR.

Важным практическим результатом является доказанная высокая биологическая эффективность препарата в защите яблони от возбудителей парши, мучнистой росы и монилиальной плодовой гнили, а также винограда от серой гнили, милдью и оидиума.

Достоверность результатов диссертационной работы обеспечена современными методами исследования и достаточным количеством фактического материала. Содержание диссертации и автореферата полностью соответствуют друг другу. Результаты работы получили известность, благодаря значительному числу публикаций в теоретических и научно-практических журналах.

Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических исследований Российской академии наук» (ИБФМ РАН)
142290, Московская область, г. Пущино, проспект Науки, 5
adm@ibpm.ru, <http://www.ibpm.ru>; тел.: (4967) 73-39-62