

ОТЗЫВ

официального оппонента 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.

Современная биотехнология уделяет большое внимание биологическим основам использования штаммов микробов-антагонистов фитопатогенных видов для фитосанитарной оптимизации агроэкосистем. Наибольшее значение для биоконтроля популяций фитопатогенных видов имеют бактерии родов *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Streptomyces* и *Serratia*. Механизмы взаимодействий растений и микроорганизмов, приводящие к подавлению плотности популяций фитопатогенных видов, сложны и многообразны. Микробиологическая защита растений основана на использовании штаммов микроорганизмов с высокой конкурентоспособностью, которые способны синтезировать комплексы гидролаз и биологически активных соединений и эффективно колонизировать подходящие экологические ниши. Многие активные соединения, продуцируемые ризосферными микроорганизмами, обладают элиситорной активностью и запускают механизмы индуцированной устойчивости. Многочисленные исследования свидетельствуют, что наибольшую эффективность среди группы PGPR обычно демонстрируют флуоресцентные виды р. *Pseudomonas*, характеризующиеся широким набором полезных для растений свойств. Тем не менее, до сих пор достижения фундаментальной науки мало учитываются при отборе перспективных штаммов-продуцентов и разработке технологий получения препаративных форм, которые могут быть использованы для защиты основных сельскохозяйственных культур, обеспечения гарантированного защитного эффекта, повышения урожайности и улучшения качества сельскохозяйственной продукции.

Актуальность исследования соискательницы несомненна, поскольку растениеводство России остро нуждается в расширении ассортимента экологически безопасных полифункциональных биопрепаратов фитозащитного действия. Во всем мире проблема разработки таких препаратов признается приоритетной, поскольку как по объемам применения, так и по ассортименту биопрепараты представляют собой предмет дефицита и повышенного спроса. В общем балансе средств защиты растений биологические препараты представляют собой незначительную часть всего ассортимента СЗР и масштабов их применения.

Научная новизна работы С.Н.Масленниковой обусловлена, прежде всего, подробным изучением биологических особенностей большого количества новых штаммов микроорганизмов и отбором из них наиболее перспективного в качестве продуцента нового биопрепарата широкого спектра действия. Получены данные о способности отобранного штамма *Pseudomonas asplenii* 11RW подавлять широкий спектр фитопатогенных грибов за счет хелатирования ионов железа при помощи сидерофоров и продукции антимикробных летучих метаболитов. Выявлено рострегуляторное действие штамма *P. asplenii* 11RW благодаря синтезу фитогормонов типа ауксинов, фосфатмобилизующей активности и продукции аммония. Полученные данные существенно расширяют представление о биоразнообразии микроорганизмов, ассоциированных с растениями, а также раскрывают перспективы их применения в качестве объектов агrobiотехнологии.

Теоретическая и практическая значимость диссертационной работы обусловлена, в первую очередь, пополнением коллекции микроорганизмов 7-ю новыми культурами, обладающими рядом важных хозяйственно-ценными свойств и представляющих интерес для теоретических и прикладных исследований. Выявлены механизмы положительного влияния на рост и развитие растений нового штамма *P.*

asplenii 11RW. На основе результатов исследований предложен микробиологический фунгицид под торговым названием «Биокомпозит-Про, Ж», прошедший государственную регистрацию и получивший свидетельство о государственной регистрации пестицида №018-02-3837-1 на срок по 24.10.2032 г. Разработанный автором работы способ получения биопрепарата на основе штамма *P. asplenii* 11RW успешно апробирован, а опытные партии показали высокую эффективность против комплекса болезней яблони и винограда.

Объем и структура диссертации. Работа С.Н.Масленниковой состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, изложения полученных результатов и их обсуждения, заключения, выводов и приложения. Диссертация изложена на 147 страницах печатного текста, включает 13 рисунков, 57 таблиц и 301 источник цитированной литературы.

Апробация работы и публикации. Результаты исследований 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.

Методы работы и оценка достоверности полученных результатов. Представленная работа основана на большом объеме лабораторных и полевых исследований, выполненных современными методами.

Оценка содержания и оформления диссертации. В диссертации обоснована актуальность темы исследования, степень ее разработанности, научная и практическая значимость работы. Сформулированные автором цель и задачи исследования исходят из актуальности проблемы расширения ассортимента эффективных полифункциональных

биопрепаратов и обеспечения современного растениеводства средствами, не оказывающими на компоненты агроэкосистем негативного влияния.

В обзоре литературы С.Н.Масленникова подробно описала особенности микробиома ризосферы, заслуженное внимание уделив биоразнообразию ризобактерий, особенно штаммам PGPR, принадлежащих к роду *Pseudomonas*. Особенности этой группы микроорганизмов: низкая патогенность для теплокровных и разнообразие метаболических процессов делает их привлекательными для биотехнологии.

С.Н.Масленниковой подробно описаны механизмы положительного влияния псевдомонад на растения, включая синтез БАВ разных химических классов и индукцию системной устойчивости. Особое внимание диссертант уделил практическому применению этих микроорганизмов, сделав обоснованный вывод об их высоком потенциале в качестве продуцентов для создания микробиологических препаратов различного целевого назначения.

В разделе «Материалы и методы исследования» подробно и детально описаны методические подходы автора. Они полностью адекватны поставленным задачам исследования.

Раздел «Результаты и обсуждение». Работа С.М. Масленниковой выполнена в весьма широком аспекте от выделения и идентификации бактериальных штаммов, оценки их антагонистической активности в отношении представительного набора тест-культур фитопатогенных видов, отбора перспективного штамма и изучения его биологических особенностей до разработки метода получения микробиологического препарата и оценки его эффективности в полевых условиях.

Базисный аспект исследования - скрининг перспективных продуцентов нового препарата полифункционального действия. Соискательнице удалось оперативно проанализировать активность более

350 культур, из которых по комплексу показателей в качестве наиболее перспективного продуцента был отобран штамм *P. asplenii* 11RW.

С.М. Масленникова подробно изучила культурально-морфологические и физиолого-биохимические особенности штамма, спектр антагонистической активности, влияние фунгицидных летучих соединений на рост и развитие фитопатогенных микромицетов. Для оценки перспективности штамма очень важны полученные автором данные относительно синтеза сидерофоров и ИУК, фосфатамобилизирующей и ростстимулирующей активности культуры.

Совокупность полученных автором результатов всестороннего изучения биологических особенностей перспективного штамма позволили успешно решить важную задачу диссертации - разработать и апробировать метод получения биопрепарата на его основе. С.М. Масленниковой подробно изучена динамика роста и развития штамма *P. asplenii* 11RW в пилотном ферментере и отработан технологический режим получения культуральной жидкости. В качестве оптимальной предложена среда на основе мелассы, отличающаяся низкой себестоимостью и доступностью компонентов.

Биологическая эффективность экспериментальных образцов биопрепарата «Биокомполит-Про» на основе штамма *Pseudomonas asplenii* 11RW, разработанного диссертантом, испытана в полевых опытах против наиболее вредоносных заболеваний плодовых культур в агроклиматических условиях Краснодарского края и Юго-западной зоны виноградарства Крыма. Образцы препарата показали высокую биологическую эффективность в защите яблони от возбудителей парши, мучнистой росы и монилиальной плодовой гнили и винограда от серой гнили, милдью и оидиума. Автором убедительно обоснованы нормы и кратность применения препарата в зависимости от инфекционного фона.

В заключительной части работы изложены итоги выполненной работы, которая представляет завершённое исследование, отличается новизной, имеет теоретическое и практическое значение.

По данной работе необходимо сделать некоторые замечания.

1. Довольно неожиданно в заключении по обзору литературы автор делает акцент на необходимость широкого внедрения микробиологических удобрений, хотя весь обзор посвящён различным аспектам разработки биофунгицидов на основе активных штаммов микроорганизмов.

2. Полагаю, что результаты оценки вирулентности, токсичности, токсигенности и диссеминации было бы целесообразно поместить в Приложении в виде отдельного документа, а не включать в экспериментальную главу, так как эти важные исследования проведены не автором, а НИЦ ТБП – филиале ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России.

3. При оценке эффективности образцов препарата на основе штамма *P. asplenii* 11RW в отношении болезней яблони в полевых условиях обработку необходимо было начинать в ранние фазы развития – до фазы розового бутона (стадии 61-62), проводить несколько обработок и во всех опытах использовать 2-3 нормы применения. В полевых испытаниях 2018-2019 гг., к сожалению, автором использована только одна норма применения при однократной обработке в поздние фазы развития культуры, когда в контрольном варианте было уже поражено 30-60% листового аппарата и 30-50% плодов.

4. При оценке эффективности образцов разработанного препарата в защите яровой пшеницы от болезней в схеме опыта необходимо было предусмотреть вариант с обработкой одним биопрепаратом без сочетания с химическим фунгицидом. Из данных таблиц 54-55 следует только, что биопрепарат не снижает эффективность

фунгицида Скарлет при использовании в баковой смеси. Учитывая отсутствие статистической обработки данных в таблицах 54-56, судить о хозяйственной и биологической эффективности обработки семян пшеницы в этом случае достаточно затруднительно.

5. При оценке ростстимулирующего действия штамма *P. asplenii* 11RW в условиях микровегетационного эксперимента на растениях пшеницы, ячменя и кукурузы следовало использовать разные концентрации образца препарата. Из литературы известно, что при снижении концентрации до определенного уровня стимулирующий эффект препарата может нарастать. Возможно, в этом случае автор получил бы более высокие показатели ростстимулирующего действия препарата. Изучение закономерностей колонизирующей активности штамма также более целесообразно проводить с использованием различных титров суспензии.

6. В разделе, посвященном разработке метода получения микробиологического препарата на основе *P. aspleni* 11RW диссертант заключает, что с использованием лабораторного и пилотного ферментера с контролируемыми параметрами культивирования были определены оптимальные условия и отработаны технологические режимы для периодического культивирования. Однако в диссертации приведены результаты апробации только одного режима культивирования. Видимо, оптимизация условий культивирования – дело будущего.

Все высказанные замечания не умаляют прекрасного впечатления от диссертации С.Н. Масленниковой. Работа хорошо изложена, прекрасно иллюстрирована, а автореферат соответствует диссертации.

Результаты исследования могут быть использованы в учреждениях, связанных с производством и применением биопрепаратов. Материалы работы представляют интерес и для соответствующей специализации в сфере образования: аспирантов, студентов вузов и профильных колледжей.

Завершая рассмотрение работы, следует подчеркнуть, что ее ценность и своевременность состоит в расширении ассортимента МСЗР для защиты основных сельскохозяйственных культур от фитопатогенных микроорганизмов – возбудителей болезней. С.Н.Масленникова сумела отобрать целый ряд перспективных штаммов с комплексной биологической активностью для разработки новых полифункциональных биопрепаратов, а также всесторонне изучить биологические особенности штамма *P. asplenii* 11RW. Полученный ею экспериментальный материал позволил разработать новый препарат под торговым названием «Биокомпозит-Про», прошедший государственную регистрации. Данная работа успешно развивает традиционное направление исследований, связанное с расширением применения микроорганизмов в качестве альтернатив химических пестицидов различного назначения.

Считаю, что работа С.Н.Масленниковой на тему «Обоснование использования штамма *Pseudomonas asplenii* 11RW для создания фунгицидного препарата широкого спектра действия» является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение задачи, имеющей существенное значение для разработки технологий получения новых препаративных форм для защиты от болезней основных сельскохозяйственных культур, повышения урожайности, улучшения качества сельскохозяйственной продукции и совершенствования экологически безопасных методов фитозащиты.

Работа носит завершённый характер, содержит обширный, оригинальный и практически ценный материал и отвечает требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 № 842 и требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор, С.Н.Масленникова, заслуживает присуждения ей ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.11 – микробиология.

Официальный оппонент

доктор биологических наук

по специальности

06.01.07 - защита растений



Новикова Ирина Игоревна

ведущий научный сотрудник лаборатории микробиологической защиты растений Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений»

196608 Санкт-Петербург, г. Пушкин, ш. Подбельского, д. 3

e-mail: info@vizr.spb.ru, irina_novikova@inbox.ru

Телефон: +7 (812) 470-51-10

+7(812) 466-06-79

Подпись руки

Удостоверено

Секретарь

директора



М.М. Кошаралева