

**МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Всероссийский научно-исследовательский институт
сельскохозяйственной микробиологии»
(ФГБНУ ВНИИСХМ)**

196608 Санкт-Петербург, Пушкин,
шоссе Подбельского, 3
Телефон 8-812-470-51-00
Факс 470-43-62

278/11а № 19.11.2021

Председателю Диссертационного совета
Д 999.219.02 на базе Пермского федерального
исследовательского центра Уральского
отделения Российской академии наук и
Пермского государственного медицинского
университета имени академика Е.А. Вагнера

Отзыв официального оппонента

**на диссертацию Сарваровой Елены Рафисовны на тему «Поиск новых свойств
эндофитных бактерий *Bacillus subtilis* Cohn.», представленную на соискание ученой
степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.03 – микробиология**

Работа Сарваровой Елены Рафисовны посвящена важной и актуальной проблеме – исследованию взаимоотношений эндофитов с растениями и изучению влияния эндофитных бактерий на устойчивость растений к вирусам и вредным насекомым.

Актуальность исследования

Современные исследования показывают, что эндофитные бактерии играют важную роль в регуляции роста и развития растений, контроле фитоиммунитета и адаптации растений к воздействию неблагоприятных биотических и абиотических факторов. Однако физиологические и молекулярные механизмы, лежащие в основе влияния эндофитных бактерий на растения, остаются малоизученными. Исследованию этих вопросов и была посвящена рассматриваемая диссертационная работа, поэтому актуальность ее темы не вызывает сомнений.

Для достижения поставленной цели необходимо было решить несколько задач: оценить распространенность эндофитных бактерий в тканях различных культур растений; выявить связь между плотностью популяции эндофитов и физиологическими особенностями растений; определить наличие РНКаз у эндофитов и их влияние на устойчивость растений к вирусной инфекции; оценить возможность использования эндофитных бактерий в качестве вектора,

придающего растениям устойчивость к вредным насекомым. Со всеми этими задачами диссертант успешно справился, что позволило получить ряд новых и принципиально важных результатов.

Содержание работы

Диссертация Сарваровой Е. Р. написана по общепринятому плану и состоит из введения, обзора литературы, объектов и методов исследования, результатов исследований и их обсуждения, заключения, выводов и списка использованной литературы, включающего ссылки на 212 отечественных и иностранных источников. Работа изложена на 124 страницах, проиллюстрирована 12 рисунками, на которых наглядно представлены данные по результатам всех этапов исследования, содержит 21 таблицу.

Во введении диссертант обосновывает актуальность выбранной темы, определяет характер и направление работы, обозначает основную цель исследования и указывает на задачи, необходимые для ее выполнения.

В главе 1 «Обзор литературы» автором проведен анализ литературных данных по видовому разнообразию эндофитов, особенностям проникновения этих бактерий в растения и их влиянию на рост и развитие, а также устойчивость растений. В целом обзор литературы изложен логично и убедительно, что свидетельствует о хорошей информированности автора об основных изучаемых проблемах, связанных с темой диссертации.

В главе 2 «Объекты и методы исследования» содержится подробное описание методов, использованных диссертантом для решения поставленных задач. Описаны методы выделения и идентификации эндофитных бактерий, методики изучения антивирусной активности бактерий, оценки влияния оксикоричных кислот и сириговой кислоты на рост бактерий и ряд других методик. Эта глава не вызвала у рецензента особых замечаний.

Глава 3 «Результаты и обсуждение» состоит из пяти разделов, посвященных выделению, идентификации и характеристике эндофитных штаммов бактерий из овощных, плодовых и дикорастущих культур, а также оценке влияния оксикоричных кислот на рост эндофитных штаммов и изучению продукции РНКаз, как основа противовирусной активности. При описании влияния феруловой и кумаровой кислот на эндофитные бактерии автор оценивает возможность деструкции фенольных кислот с помощью фермента декарбоксилазы фенольных кислот у *B. subtilis* 26Д

При знакомстве с этим разделом у рецензента возникли следующие вопросы:

1. Автор указывает на выявление гена *PAD*, кодирующего фермент декарбоксилазу фенольных кислот, у бактерий *Bacillus subtilis* 26Д. При этом не указывается степень гомологии с генами *PAD* других штаммов *B. subtilis* для выявленного фрагмента. Автору следовало также

представить информацию о секвенировании полученного с помощью ПЦР фрагмента гена и сравнение с другими генами *PAD*.

2. При оценке влияния штамма *Bacillus subtilis* 26Д на способность к деструкции феруловой кислоты (ФК), автор использует анализ изменения спектра поглощения ФК под влиянием бактерий. Сравнивается влияние живых и инактивированных клеток бактерий на разрушение кислоты. Однако по представленному рисунку 7, где объединены данные по начальной стадии реакции в присутствии живых и инактивированных клеток, сложно сделать определенный вывод о влиянии на деструкцию ФК. Вероятно, автором должны были быть использованы и другие методы, позволяющие оценить степень деструкции ФК бактериями, чтобы сделать подобный вывод.

3. Автором выявлены штаммы, проявляющие высокую активность РНКаз. Эти штаммы могут проявлять противовирусную и антифунгицидную активность, как утверждает автор. Однако приведены данные испытаний только для одного нового штамма ВКПМ В-6066. Возможно, вывод следовало сделать при анализе нескольких новых штаммов. Однако это замечание носит скорее рекомендательный характер.

4. Выявлены некоторые неточности изложения при написании текста диссертации и ошибки, но они не снижают общего хорошего впечатления от работы.

Автором был предложен новый подход для создания рекомбинантного инсектицидного штамма *B. subtilis* 26ДCryChS, как основы для использования эндофитов в качестве векторов для придания растениям устойчивости к вредным насекомым. Этот раздел вызывает большой интерес как к использованному методическому подходу, так и к полученному успешному результату. Такие штаммы могут иметь важное практическое значение, что подчеркивается автором в работе.

Научная новизна исследования и полученных результатов

При выполнении своей диссертационной работы диссертанту удалось получить новые и принципиально важные результаты, многие из которых имеют приоритетный характер.

Практическая значимость

Рассматриваемая работа имеет и большое практическое значение. Охарактеризованы и идентифицированы новые штаммы эндофитных бактерий, выделенные из нескольких видов растений, которые могут повышать продуктивность и устойчивость растений.

Автором создан рекомбинантный инсектицидный штамм *B. subtilis* 26ДCryChS, повышающий устойчивость растений к вредным насекомым.

Заключение

Диссертационная работа Сарваровой Е. Р. является цельным исследованием, выполненным на высоком методическом уровне. Следует отметить большой объем и трудоемкость проделанной работы. Основные результаты были получены впервые и не были известны ранее. Полученные диссертантом результаты достоверны, выводы обоснованы, соответствуют поставленным задачам и отражают суть проведенных исследований. Результаты изложены в печатных работах диссертанта, опубликованных в российских и зарубежных журналах, рекомендованных ВАК РФ. Автореферат и опубликованные работы соответствуют содержанию диссертации. Материалы диссертационной работы неоднократно докладывались на научных конференциях.

Таким образом, диссертация Сарваровой Елены Рафисовны «Поиск новых свойств эндофитных бактерий *Bacillus subtilis* Cohn.» посвящена важной и актуальной проблеме, является законченным исследованием, выполнена на высоком научном и методическом уровне, хорошо оформлена и соответствует требованиям п.9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» (Постановление Правительства Российской Федерации №842 от 24 сентября 2013 года), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, и профилю Диссертационного совета Д 999.219.02 на базе Пермского федерального исследовательского центра Уральского отделения Российской академии наук и Пермского государственного медицинского университета имени академика Е.А. Вагнера. Работа соответствует всем требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор Сарварова Елена Рафисовна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.03 – микробиология.

Официальный оппонент
Долгих Елена Анатольевна



Адрес: 196608, Санкт-Петербург, Пушкин, ш. Подбельского 3
Тел.: 8(812)476-24-96; эл. почта: dol2helen@yahoo.com
Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной
микробиологии,
Заведующая лабораторией сигнальной регуляции,
Доктор биологических наук по специальности 03.01.05 – физиология и биохимия растений
и 03.02.03 – микробиология.

Подпись Долгих Е.А. заверяю

Ученый секретарь ФГБНУ ВНИИСХМ 19 ноября 2021 г.

к.б.н. Алисова С.М. Тел.: 8(812)466-35-71; эл. почта: arriam2008@yandex.ru

