

ОТЗЫВ

на диссертацию Агафоновой Надежды Валериевны

«Таксономическая и функциональная характеристика аэробных метилотрофных бактерий-фитосимбионтов», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.03.
(микробиология).

Диссертационная работа Агафоновой Надежды Валериевны посвящена исследованию метилотрофов, вступающих в симбиотические отношения с различными растениями Южного Подмосковья. Повышенный интерес к метилотрофам обусловлен не только их важной ролью в биосферном цикле углерода, но и их способностью к фитосимбиозу, открытому относительно недавно. У растений, колонизированных метилотрофными бактериями, приобретается иммунитет к различного рода бактериальным и грибковым заболеваниям, повышается устойчивость к стрессовым условиям окружающей среды, стимулируется рост и развитие на всех стадиях их онтогенеза – от семени до плодоношения. Поиск новых штаммов метилотрофов, способных вступать в симбиотические отношения с растениями, изучение их свойств и механизмов положительного влияния на растения может иметь как прикладное, так и фундаментальное значение.

Целью работы Агафоновой Надежды Валериевны было расширение спектра культивируемых метилотрофов-фитосимбионтов с выявлением новых видов, положительно влияющих на растения.

В задачи диссертанта входило: изолировать бактерии с поверхности различных органов растений, идентифицировать среди них метилотрофные, способные к симбиозу с растениями и определить их филогению; исследовать метаболические пути утилизации ими одноуглеродных соединений с описанием участвующих в этих путях энзимов; изучить факторы положительного влияния метилотрофов на физиологию растений, в том числе и такие как фитогормоны и сидерофоры; изучить влияние

колонизации растений метиlobактериями на устойчивость к инфекционным заболеваниям и к стрессу от гербицидов.

Глобальность фундаментальных исследований метилотрофов нашего региона, проведенных впервые, а также сама постановка цели и задач, свидетельствуют об **актуальности** исследований по теме диссертационной работы.

Объем диссертации составляет 156 страниц, число цитируемых в диссертации литературных источников - 332. Основная часть цитируемой научной литературы использована в Литературном обзоре, который входит во Введение в виде трех глав. Из содержания глав Обзора видно, что литература подобрана по теме диссертации, в соответствии с целью и задачами, определенными соискателем, что свидетельствует о тщательной теоретической подготовке докторанта к выполнению эксперимента. В соответствии с традиционной структурой в диссертации присутствует содержательная часть с главами материалов и методов, полученных результатов и их обсуждения.

В работе используются разнообразные методы от рутинных биотестирования и колориметрии биологически активных соединений, культивирования бактерий и растительного материала, до геномного и филогенетического анализов *in silico*. В работе использованы такие инструментальные методы анализа как световая и электронная микроскопия, высокоэффективная жидкостная хроматография и масс-спектрометрия, протеомный МАЛДИ-анализ, абсорбционная спектроскопия и другие. Такой выбор методов исследования обусловлен реальным масштабом запланированных работ, а разнообразие использованных методов для получения и подтверждения данных, гарантирует их **достоверность**.

Объектом исследования служили 37 чистых культур метилотрофных бактерий, высевянных с поверхности 28 образцов различных частей из различных видов растений. Еще 10 штаммов использовались из лабораторной коллекции микроорганизмов в качестве референтных.

В результате исследования фенотипических свойств изолятов, оптимальных для них физико-химических параметров выращивания и способности рости на различных источниках углерода и азота были изолированы 20 розово-окрашенных штаммов метилотрофов и определены как наиболее распространенные в Южном Подмосковье, а именно, в Пущине. Остальные изоляты были представлены бесцветными и желто-окрашенными видами, отнесенными к 8 различным родам метилотрофов. Три из них явились новыми видами, относящимися к родам *Methylopila*, *Ancylobacter*, *Methylobacillus* и были помещены во Всесоюзную коллекцию микроорганизмов. Все изоляты бактерий на основании данных о способности к утилизации метанола, а также данных о способности к фосфатсолюбилизации, были отнесены к метилотрофам-фитосимбионтам.

Несомненно к новым данным можно отнести также впервые обнаруженную у представителей аэробных метилотрофов рода *Methylobacillus* способность к биосинтезу фитогормона гиббереллина, а именно гибберелловой кислоты GA₃.

Кроме этого весьма важным является открытие способности к метилотрофии бактерии рода *Delftia*, изолированной из клубеньков корней люпина и обозначенной как новый штамм *Delftia* sp. Lp1. У бактерии этого рода в экспериментах *in vitro* была выявлена способность к подавлению бактерий *Bacillus subtilis*, а также antagonизм по отношению к фитопаогенным грибам. Один из них *Fusarium sporotrichioides*, является токсичной формой гриба, поражающей просо, пшеницу, овес, рожь, вследствие чего они становятся ядовитыми и полученные из них продукты питания вызывают у людей опасное заболевание септическую ангину. Поэтому обнаружение и описание новых видов бактерий с фунгицидными свойствами является очень важным и может в будущем найти практическое применение.

Одной из составных и важных частей работы явились исследования по влиянию инокуляции бобовых и овощных культур растений

метилотрофными бактериями. Положительное влияние инокуляции прослеживалось в увеличении продуктивности растений, что было обусловлено активным формированием корневой системы растений и повышением эффективности фотосинтеза.

Еще одной важной частью диссертации явился филогенетический анализ. На основании сравнения последовательностей генов 16S r RNA, а также транслированных аминокислотных последовательностей генов, кодирующих ключевые ферменты окисления метанола. Этим анализом в совокупности с морфологическими, хемотаксономическими и биохимическими характеристиками было определено таксономическое положение новых видов метилотрофов-фитосимбионтов.

Заключение представляет собой развернутую информацию о новизне результатов и методах исследований, о фундаментальной и практической значимости работы и свидетельствует о качественно выполненной диссидентом работе и достижении поставленной цели.

Выводы соответствуют полученным результатам и поставленным задачам.

Логическое построение эксперимента и изложение результатов, хороший научный язык и иллюстративный материал делают представленный материал доступным к восприятию и несомненно относятся к достоинствам диссертации.

В ходе прочтения диссертации возникли отдельные замечания. Например, в работе подробно исследована структура гиббереллина Ga_3 , который обнаружен у метилотрофных бактерий впервые и представлены также сведения о биосинтезе этими бактериями ауксинов. По-видимому, было бы целесообразно изучить также способность исследуемых изолятов к биосинтезу цитокининов, которые функционируют в tandemе с ауксинами и вносят существенных вклад во взаимодействие метилотрофов с растениями.

Остальные замечания относятся к оформлению диссертации. Наблюдается неполное соответствие заголовков в Оглавлении и тексте. В

Оглавлении названия глав набраны, как и положено, прописными буквами, а в тексте - строчными, как набираются разделы глав, что приводит к некоторому замешательству при прочтении текста. Как в Оглавлении, так и в тексте диссертации в названии главы «Результаты» отсутствует слово «Обсуждение», хотя в содержательной части этой главы представлены и результаты и обсуждение. Их наличие подтверждается и Рефератом, к оформлению и содержанию которого замечаний нет.

В заключение следует сказать, что идентификация новых штаммов метилотрофных бактерий, способных к фитосимбиозу, их доступность для исследователей в музейных коллекциях микроорганизмов, описание новых физиологически активных метаболитов и активностей метилотрофов открывает новые горизонты в как в фундаментальных, так и прикладных исследованиях.

Умение формулировать научные задачи, находить пути их решения и выполнять исследования на высоком методическом уровне характеризует Агафонову Надежду Валериевну как разностороннего квалифицированного специалиста, заслуживающего присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.03 – микробиология.

Сердюк Ольга Петровна
кандидат биологических наук,
старший научный сотрудник
ФГБУН Институт фундаментальных
проблем биологии РАН (ИФПБ РАН)

Адрес: 142290 Пущино Московской обл.
Институтская ул., 2
Тел.: 8(4967) 73-26-08
e-mail: serdyuko@rambler.ru

