

ОТЗЫВ

**официального оппонента, доктора биологических наук, доцента Мальцева
Евгения Ивановича на диссертационную работу Фотиной Натальи Вячеславовны
на тему «Биотехнология получения биопрепарата на основе новых штаммов
ризобактерий», представленную на соискание ученой степени кандидата
биологических наук по специальности 4.3.5 – Биотехнология продуктов питания и
биологически активных веществ**

Актуальность темы исследований.

Актуальность диссертационной работы обусловлена необходимостью перехода к экологически безопасным и устойчивым методам ведения сельского хозяйства. Традиционные методы интенсивного земледелия, базирующиеся на широком применении химических пестицидов и минеральных удобрений, приводят к деградации почвенного покрова, снижению его биологической активности и плодородия, загрязнению окружающей среды, а также развитию резистентности фитопатогенов. В этой связи разработка биопрепаратов на основе полезных микроорганизмов, в частности ризобактерий, становится ключевым направлением для снижения химической нагрузки и активизации естественного почвенного потенциала. Такие препараты способствуют повышению биодоступности элементов питания, стимулируют рост растений и обладают антагонистической активностью в отношении фитопатогенов.

Особую стратегическую значимость подобные исследования приобретают в контексте обеспечения биотехнологического лидерства Российской Федерации. Разработка отечественного биопрепарата на основе новых штаммов ризобактерий напрямую отвечает задачам импортозамещения, снижая зависимость от зарубежных средств защиты растений и удобрений. Это создает основу для развития внутреннего рынка и укрепления технологической независимости страны в агросекторе.

Таким образом, представленное исследование имеет выраженную стратегическую направленность. Оно вносит вклад в решение задач, закрепленных в Стратегии научно-технологического развития Российской Федерации, способствуя переходу к высокопродуктивному и экологически чистому сельскому хозяйству. Внедрение результатов диссертационной работы создает перспективы для развития отечественной биоэкономики, формируя новую биотехнологическую платформу для сельского хозяйства, что будет способствовать снижению зависимости от импортируемых агрохимикатов, укреплению продовольственной безопасности и повышению конкурентоспособности отечественного агропромышленного комплекса.

С учетом вышеизложенного, диссертационная работа Фотиной Н.В. на тему «Биотехнология получения биопрепарата на основе новых штаммов ризобактерий» является своевременной и актуальной.

Научная новизна исследований.

Научная новизна диссертации заключается, прежде всего, в разработке и обосновании методологического подхода к созданию эффективных биопрепаратов для сельского хозяйства, в частности для зерновых культур, основанного на целевом отборе ризобактерий, устойчивых к комплексу абиотических стрессов. Практическим воплощением данного подхода стало формирование нового микробного консорциума на основе выделенных штаммов *Pantoea agglomerans* B-14726 и *Pantoea vagans* B-14727.

Впервые для этой ассоциации экспериментально доказан синергетический ростостимулирующий эффект в отношении яровой мягкой пшеницы. Существенным вкладом в фундаментальную науку является проведенный геномный анализ, впервые выявивший у данных штаммов наличие кластеров генов, детерминирующих синтез сидерофоров, терпенов и антибиотиков, что научно объясняет их антагонистический потенциал и обосновывает перспективу использования консорциума в качестве основы для нового биотехнологического средства защиты растений.

Теоретическая и практическая значимость.

Теоретическая ценность исследования состоит в углублении научных представлений о стратегиях применения ризобактерий для управления продуктивностью агроценозов. Работа вносит вклад в развитие агробиотехнологии, обосновывая методический подход к селекции штаммов по комплексу признаков устойчивости к стрессовым факторам.

Практическая значимость исследования подтверждается следующими конкретными результатами: депонированием пяти новых перспективных штаммов ризобактерий во Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов; подбором биотехнологических параметров культивирования консорциума штаммов *Pantoea agglomerans* В-14726 и *Pantoea vagans* В-14727 для биопрепарата «БП-010»; разработкой технической документации и экономической оценкой производства предложенного биопрепарата «БП-010». Эти результаты создают основу для его дальнейшего производственного внедрения.

Достоверность и обоснованность основных научных положений и выводов, сформулированных в диссертационной работе.

Достоверность и обоснованность полученных научных результатов подтверждается достаточным объемом экспериментальных данных, полученных с использованием стандартных и общепринятых методов, соответствующих поставленной цели и сформулированным задачам, достаточным количеством наблюдений (3-5-кратной повторностью). Сформулированные в диссертационной работе научные положения и выводы подкреплены фактическими данными, наглядно представленными в приведенных рисунках, таблицах и приложениях. Основные положения и результаты работы широко апробированы на международных и всероссийских конференциях.

Публикация результатов диссертационной работы.

По теме диссертационной работы опубликовано 20 печатных работ. Из них 8 статей представлены в рецензируемых изданиях, индексируемых в международных реферативных базах данных Scopus и Web of Science, 3 статьи опубликованы в журналах, рекомендованных ВАК при Министерстве науки и высшего образования Российской Федерации. Получен 1 патент на изобретение и подана 1 заявка на изобретение.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности.

Диссертационная работа соответствует п. 10, 13, 18, 21 паспорта научной специальности ВАК РФ 4.3.5 Биотехнология продуктов питания и биологически активных веществ.

Анализ содержания диссертационной работы.

Диссертационная работа состоит из введения, литературного обзора, методической части, экспериментальной части, состоящей из трех глав, основных результатов и выводов, списка используемой литературы, содержащего 231 источник, и четырех приложений. Объем основного текста составляет 174 страницы, включает 28 таблиц, 28 рисунков. Автореферат изложен на 18 страницах. По содержанию и объему автореферат соответствует установленным требованиям, отражает основные положения диссертационной работы.

Во введении обоснована актуальность диссертационной работы, поставлена цель и сформулированы задачи исследования, аргументирована научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы, представлены основные положения, выносимые на защиту.

В первой главе «Литературный обзор» проанализированы современные биотехнологические подходы к повышению продуктивности и устойчивости сельскохозяйственных культур. Особое внимание уделено перспективам разработки и применения микробных биопрепаратов на основе ростостимулирующих бактерий. Подробно рассмотрены биотехнологически значимые механизмы их взаимодействия с растениями (продуцирование фитогормонов, повышение доступности питательных элементов, индукция стрессоустойчивости) в контексте создания инновационных агробиотехнологий.

Вторая глава «Организация, объекты и методы проведения исследования» содержит описание схемы проведения исследования и порядок организации работы, характеристику объектов исследования, описание используемых методов, необходимых для достижения поставленной цели диссертационного исследования.

Третья глава «Исследование ризобактерий» содержит результаты всестороннего изучения биотехнологически ценных свойств бактериальных штаммов, выделенных из ризосферы яровой пшеницы. На основе комплексного скрининга 42 изолятов, устойчивых к абиотическим стрессам, методом отбора по ключевым признакам (ростостимулирующая активность, продукция фитогормонов, солюбилизация фосфатов, антиоксидантный потенциал) была сформирована выборка из 11 перспективных штаммов. Дальнейшая оценка их антагонистической активности против фитопатогенных грибов (*Fusarium graminearum*, *Bipolaris sorokiniana*, *Botrytis cinerea*) позволила окончательно отобрать пять наиболее эффективных штаммов. Проведена их генетическая идентификация, в результате которой установлена видовая принадлежность: *Bacillus thuringiensis* B-14700, *Bacillus subtilis* B-14701, *Raoultella ornithinolytica* B-14725, *Pantoea agglomerans* B-14726 и *Pantoea vagans* B-14727. Отобранные штаммы, обладающие комплексом целевых свойств, составили основу для дальнейшего конструирования экспериментальных консорциумов.

Четвертая глава «Исследование консорциумов ризобактерий» посвящена конструированию и комплексной оценке бактериальных консорциумов. На основе пяти депонированных штаммов сформированы экспериментальные консорциумы, изучена их биосовместимость. В результате скрининга ростостимулирующей (антиоксидантная активность, синтез индолил-3-уксусной и гиббереллиновой кислот, азотфиксация) и антагонистической активности (в отношении *Fusarium graminearum*, *Bipolaris sorokiniana*, *Botrytis cinerea*) выделены три наиболее перспективных консорциума (№ 4, 9 и 10), продемонстрировавших синергетический эффект. В лабораторном

эксперименте при искусственно созданном биотическом стрессе доказана высокая эффективность обработки семян пшеницы отобранными консорциумами, превосходящая результаты применения отдельных штаммов. Наибольший ростостимулирующий эффект, выраженный в улучшении исследованных параметров роста и содержания фотосинтетических пигментов, обеспечил консорциум № 9 (состоящий из штаммов *Pantoea agglomerans* В-14726 и *Pantoea vagans* В-14727), что определило его выбор в качестве основы для разрабатываемого биопрепарата. Биоинформатический анализ выявил у штаммов рода *Pantoea*, входящих в состав консорциума № 9, наличие генетических кластеров, ответственных за синтез биологически активных соединений (аэробактин, десферриоксамин Е, каротиноид, зеамин), МТТ-тест на клеточных линиях подтвердил отсутствие у них цитотоксической активности.

В пятой главе «Практическая реализация результатов исследования» представлены результаты оптимизации биотехнологических параметров культивирования и оценки экономической целесообразности производства биопрепарата на основе консорциума № 9. Установлены оптимальные технологические параметры: состав питательной среды (среда № 5), температурный режим (28 °С) и продолжительность культивирования (18 часов), обеспечивающие интенсивный рост биомассы. Проведенная экономическая оценка показала, что себестоимость обработки 1 га посевов пшеницы разработанным биопрепаратом «БП-010» составляет 1025,30 руб., что является конкурентоспособным по сравнению с химическими фунгицидами (2797,63 руб./га) и оправданным с учетом его высокой эффективности по сравнению с биологическим аналогом «Бактофит» (810,00 руб./га). Полученные данные обосновывают экономическую целесообразность и практическую значимость внедрения биопрепарата «БП-010» в сельскохозяйственное производство в качестве экологически безопасного средства повышения урожайности и качества продукции.

В результатах и выводах диссертант обобщает полученные результаты.

В приложениях представлены: копии отчетов выполнения государственных работ в сфере научной деятельности; результаты биохимического анализа ризобактерий; справки о национальном патентном депонировании ризобактерий; нормативные документы на биопрепарат «БП-010» (ТУ 20.20.19-294-02068309-2024, ТИ ТУ 20.20.19-294-02068309-2024).

Общая структура и оформление работы выполнены в соответствии с установленными требованиями к диссертационным исследованиям. Содержание публикаций и текста автореферата отражают основные научные положения и результаты, представленные в диссертационной работе. Диссертационная работа и автореферат Фотиной Натальи Вячеславовны соответствуют нормативным требованиям, предъявляемым ВАК к кандидатским диссертациям. Сформулированные выводы соответствуют поставленным задачам и цели исследования, в полной мере соответствуют положениям, выносимым на защиту.

В целом диссертационная работа выполнена на высоком теоретическом и практическом уровне, содержит объемный экспериментальный материал, оставляет хорошее впечатление и заслуживает положительной оценки. Вместе с тем, следует выделить некоторые вопросы и замечания, требующие дополнительного объяснения.

1. Диссертационная работа представляет большой объем проделанной теоретической и практической работы, однако во Введении отсутствует информация о личном вкладе соискателя, в котором необходимо обозначить, что именно в работе сделано лично им, отделив свои результаты от результатов научного руководителя, соавторов или технического персонала.

2. В главе 2 «Организация, объекты и методы проведения исследования», пункте 2.2 «Объекты исследования» в тексте перепутаны ссылки на рисунок 2.2.1: семена яровой мягкой пшеницы сорта Сибирский Альянс обозначены 2.2.1а, а необходимо 2.2.1б.; ризосфера яровой мягкой пшеницы Сибирский Альянс обозначена 2.2.1б вместо 2.2.1а. В пункте 2.4 «Методы исследования» отсутствует информация о месте отбора образцов и их количестве для выделения штаммов ризобактерий.

3. Известно, что в разные сезоны года в почве меняется интенсивность выделения углекислого газа, активность ферментов, а также численность различных эколого-трофических групп микроорганизмов. Также состав ризосферы тесно связан с фенологической фазой растения. Учитывалось ли это при выделении штаммов ризобактерий?

4. Для установления способности ризобактерий фиксировать атмосферный азот предварительно подготовленную бактериальную суспензию объемом 1 мл вносили в колбы с жидкой питательной средой. Учитывалось ли количество бактериальных клеток, которое содержалось в исходной суспензии?

5. При исследовании возможности применения бактериальных консорциумов для повышения устойчивости яровой мягкой пшеницы к биотическому стрессу в серии лабораторных экспериментов в качестве контроля использовали семена, поливаемые исключительно дистиллированной водой. Почему не использовали второй контроль, а именно семена, поливаемые физиологическим раствором, который применялся для приготовления бактериальных суспензий? Такой контроль позволил бы оценить эффективность предлагаемых консорциумов по сравнению с действием раствора хлорида натрия на семена яровой мягкой пшеницы.

6. Биоинформатический анализ продемонстрировал, что у выделенных штаммов ризобактерий присутствуют генные кластеры, ответственные за синтез азобактина, десферриоксамина Е, зеамин и презеамин. Планируется ли проверить биохимическими методами синтез данных соединений?

7. Соискателем предложен биопрепарат «БП-010», созданный на основе штаммов *Pantoea agglomerans* и *Pantoea vagans*. Существуют ли на рынке препараты или консорциумы с подобным или близким составом? Сопоставимый ли у них ростостимулирующий эффект с биопрепаратом «БП-010»? Проводилось ли испытание разработанных бальных системы оценки антагонистической активности и ростостимулирующих эффектов для других штаммов бактерий, консорциумов или биопрепаратов?

Вместе с тем, высказанные в ходе анализа диссертации замечания носят частный, рекомендательный характер и касаются в основном формы изложения материала и не затрагивают защищаемые положения, заключения и выводы. Указанные вопросы не снижают теоретической и практической значимости работы и не влияют на её общую высокую оценку.

**Заключение о соответствии работы критериям положения о присуждении
ученой степени кандидата биологических наук.**

Диссертационная работа Фотиной Н.В. на тему «Биотехнология получения биопрепарата на основе новых штаммов ризобактерий» представляет собой завершённое и актуальное научное исследование, имеющее значительную теоретическую и практическую ценность. Работа вносит весомый вклад в развитие агробиотехнологий, демонстрируя инновационный подход к повышению устойчивости растений к патогенам и улучшению качества сельскохозяйственного сырья. Результаты исследования открывают новые возможности для создания эффективных микробных препаратов на основе ризобактерий.

По содержанию, объёму и оформлению диссертация Фотиной Н.В. полностью соответствует требованиям п. 9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 г. (с изменениями, опубликованными в Постановлениях Правительства Российской Федерации от 30.07.2014 № 723, от 21.04.2016 № 335, от 02.08.2016 № 748, от 29.05.2017 № 650, от 28.08.2017 № 1024, от 01.10.2018 № 1168, от 20.03.2021 № 426, от 11.09.2021 № 1539), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, а её автор, Фотина Наталья Вячеславовна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 4.3.5 – Биотехнология продуктов питания и биологически активных веществ.

ОФИЦИАЛЬНЫЙ ОППОНЕНТ:

доктор биологических наук, доцент,
ведущий научный сотрудник лаборатории
молекулярной систематики водных растений
Федерального государственного
бюджетного учреждения науки Институт
физиологии растений им. К.А. Тимирязева
Российской академии наук

Мальцев Евгений Иванович

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии
растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук
127276, г. Москва, ул. Ботаническая, 35
Контакты: +7 (499) 678-54-00, maltsev@ifr.moscow



Подпись Мальцева Е.И.
подтверждаю
специалист по кадрам
М.А. Тюсикова
19.02.2026.