

## ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию Кондаковой Оксаны Эриковны  
«Использование микроорганизмов для выращивания хвойных  
и улучшения биогенности почв в лесных питомниках Сибири»,  
представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук  
по специальности 03.02.08 – Экология (биология).

В настоящее время, в связи с масштабными сокращениями площади лесов Сибири вследствие различных биотических и антропогенных факторов актуальным является искусственное воспроизводство лесов. Для рационального лесовосстановления необходимо получение качественного лесопосадочного материала (сеянцев) из лесопитомников, где происходит естественное истощение почв и распространение болезнетворных микроорганизмов. Для улучшения качества посадочного материала перспективными являются методы интродукции биологически активных микроорганизмов-антагонистов, которые обладают комплексной активностью (фунгицидной, бактерицидной, нематоцидной). Использование аборигенных микроорганизмов-антагонистов для защиты сеянцев является перспективным направлением для решения задачи получения качественного посадочного материала и улучшения биогенности почв. Таким образом, **актуальность** исследования Кондаковой Оксаны Эриковны не вызывает сомнений.

Научная **новизна** данной диссертации также неоспорима. Впервые проведены комплексные длительные исследования по изучению влияния интродуцированных микроорганизмов-антагонистов на биогенность систематически возделываемой почвы опытного лесопитомника. Показаны изменения в микробоценозе почвы. Предложены способы увеличения биогенности нарушаемых почв с помощью микроорганизмов. Впервые проведено сравнение влияния химических, микробных и фитопрепаратов на сохранность и качество сеянцев хвойных.

Диссертация состоит из «Введения», пяти глав основного текста, заключения, списка сокращений и списка литературы. Общий объем работы – 257 страниц, содержит 68 рисунков, 38 таблиц и 1 приложение. Список цитированной литературы состоит из 280 работ.

Во «Введении» диссертант обосновывает необходимость и актуальность данного исследования, определяется основная цель работы – оценка состояния и структуры прокариотного микробиома темно-серой почвы в период ее эксплуатации; изучение влияния аборигенных микроорганизмов-антагонистов на биогенность (продуктивность) почвы и

сохранность семян хвойных в лесопитомнике Красноярского края. Для достижения поставленной цели сформулированы 6 задач.

В главе 1 автор на основе литературных данных характеризует основные причины гибели лесопосадочного материала в лесных питомниках. Проанализированы данные по восстановлению экофизиологического статуса почв лесных питомников, в том числе микробиологические методы в защите растений и улучшении фитосанитарного состояния почв лесных питомников. Рассматриваются такие вопросы как, роль эколого-трофических групп микроорганизмов (ЭКТГМ) в почвенных процессах, анализ почвенных микробиомов с помощью метагеномных исследований, экологическое значение ферментативной активности почв.

Глава 2 посвящена объектам и методам исследований, использованным в данной работе. Диссертационная работа О. Э. Кондаковой основана на микробиологических и агрохимических анализах почвенных образцов, идентификацию почвенных микроорганизмов проводили как классическими методами изучения почвенной микрофлоры, так и на современными молекулярно-генетическими методами. За время исследования было заложено 3 полевых опыта на ОЭХ Погорельский бор и один лабораторный. Обработку и анализ полученных данных проводили статистическими методами с использованием программных пакетов «Exel-2013», «Statistica 12.0».

Глава 3 посвящена исследованию влияния систематических агротехнических нагрузок на почву лесного питомника. Изучено изменение почвенных параметров и состояния микробиоценоза опытного питомника на протяжении исследований (2012-2016 гг.). Установлена достоверная тенденция к снижению содержания валового азота, углерода, микробной биомассы, повышению микробного метаболического коэффициента, указывающего на начало процессов деградации почвы. При внесении в почву микроорганизмов-антагонистов с семенами хвойных отмечали увеличение содержания микробной биомассы и снижение значений микробного метаболического коэффициента.

На основе изучения полиморфизма гена 16S рРНК проведена оценка состояния прокариотного микробиома почвы опытного питомника в начале и после завершения экспериментов (2012–2016 гг.). Установлены изменения качественного состава микробиоценоза исследуемой почвы в течение 5 лет эксперимента. Отмечено снижение доли фил гидролитико-копиотрофного комплекса, и повышение фил, тяготеющих к олиготрофии и ксерофитных форм, что является индикатором антропогенно-нарушенных почв и указывает на снижение ее продуктивности.

В главе 4 определена биологическая активность и фитопатогенные свойства у музейных культур микроорганизмов в лабораторных условиях (*in vitro*). Перед проведением лабораторных исследований изолированные автором из почв лесных питомников

микромикеты родов *Trichoderma* и *Fusarium* были идентифицированы до родовой принадлежности на основании морфологических признаков, изоляты бактерий р. *Bacillus* – на основании культурально-физиологических свойств. Кроме того, видовая принадлежность микроорганизмов была проверена молекулярно-генетическими методами совместно с лабораторией лесной генетики Центра защиты леса Красноярского края (г. Красноярск) и ЦКП «Геномика» (г. Новосибирск).

У всех выделенных штаммов микроорганизмов была определена их антагонистическая и ферментативная активность. Установлено, что почти все исследуемые микроорганизмы-антагонисты проявили высокую степень ингибирования фитопатогенных грибов, у некоторых из них выявлена способность к гиперпаразитизму. В лабораторных условиях исследовано влияние микроорганизмов-антагонистов на прорастание семян сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) в присутствии патогенов и без них и влияние на всхожесть семян сосны обыкновенной микробов-антагонистов и фитопрепаратов.

Глава 5 является самой объемной в данном исследовании и посвящена полевым опытам, проводимым в течение 5 лет. Автором исследовано влияние обработки семян бактериями-антагонистами на состояние почвенного микробоценоза и сохранность сеянцев хвойных, в том числе изучены морфометрические характеристики сеянцев, численность эколого-трофических групп микроорганизмов, ферментативная активность темно-серой почвы питомника и дыхательная активность микробного сообщества почвы под посевами хвойных. С целью возможного пролонгирования активности микроорганизмов-антагонистов исследовано влияние внесения добавочных субстратов (микокомпоста и опилок) по основным почвенным и микробиологическим показателям почвы. Проведено сравнение влияния предпосевной обработки семян сосны обыкновенной микроорганизмами-антагонистами и фитопрепаратами на биогенность почвы и сохранность сеянцев по следующим параметрам: грунтовая всхожесть, рост и развитие сеянцев; морфометрические характеристики сеянцев; численность эколого-трофических групп микроорганизмов почвы; дыхательная и ферментативная активность микробоценозов экспериментальных участков темно-серой почвы питомника под посевами сосны.

В заключении содержится 6 выводов, соответствующих содержанию работы, практические рекомендации и даны перспективы дальнейшей разработки темы.

Текст диссертации написан хорошим языком, структура диссертации вполне понятна и логична. Перед автором стояла очень сложная задача при изложении материала, так как собранный материал обширен и разнообразен.

Несмотря на высокую оценку рассматриваемой работы, полагаю необходимым сделать несколько следующих замечаний.

1. В данной диссертации имеются опечатки, в том числе в латинских названиях микроорганизмов. В некоторых рисунках плохо читается текст (рис.21, рис.41б, рис.54б). На графиках некоторых рисунков целесообразно приводить одинаковый масштаб вертикальной оси для хорошего восприятия и оценки показателей, представленных на графиках (рис.3, рис.4). На с.195 имеется пробел в две трети страницы, что недопустимо в оформлении. Имеется дублирование информации, содержащейся в таблицах, словесным описанием, что ведет к увеличению объема диссертации (например, таблица 10). В рисунках, представленных фотографиями, следует указывать, кто является автором. В тексте диссертации после раздела 5.1.5 следует раздел 5.1.7, раздел 5.1.6 отсутствует, что, видимо, следует считать опечаткой. При ссылке на приложение А следует писать (Прил. А), а не (Прил.). В списке сокращений приведены не все сокращения.

2. В методике подготовки семян к опыту, на мой взгляд, правильным было бы исключить стадию замачивания в растворе  $KMnO_4$ , так как этот раствор обладает бактерицидной и фунгицидной активностью, что может снижать активность проверяемых микроорганизмов-антагонистов и искажать результаты. В работе показано, что изучаемые микроорганизмы обладают антагонистической активностью по отношению к патогенным микроорганизмам и не совсем понятно, зачем нужна обработка семян раствором  $KMnO_4$ . Исключение этой стадии приведет к упрощению технологии получения посадочного материала.

3. В работе было проведено определение родовой принадлежности микроорганизмов молекулярными методами и по культурально-физиологическим и морфологическим признакам, что является очень трудоемкой и рутинной работой. Согласно современным требованиям для определения видовой принадлежности выделенных культур достаточно использования молекулярно-генетических методов, которые являются наиболее точными. Поэтому, такое дублирование методов, на мой взгляд, нецелесообразно.

4. В диссертации приводятся данные по ОМЧ (общее микробное число), однако, нигде не указано, что автор принимает за ОМЧ. По санитарно-гигиеническим нормативам за ОМЧ почвы принимают либо микроорганизмы, выросшие на богатой питательной среде (например, мясо-пептонном агаре), либо общее количество микроорганизмов, выросших на разных питательных средах (микроорганизмы разных трофических групп). В экологических исследованиях, в связи с тем фактом, что доля некультивируемых микроорганизмов в микробиоме может составлять до 90 %, за ОМЧ почвы принимают микроорганизмы, подсчитанные путем прямого микроскопирования после окрашивания различными красителями (например, с помощью флуоресцентного двухкомпонентного красителя LIVE/DEAD). Если не проводили прямой подсчет окрашенных микроорганизмов, то

правильно писать общее число культивируемых микроорганизмов, потому что такой показатель не отражает реальное количество всех микроорганизмов исследованной почвы.

Все высказанные здесь и выше замечания не умаляют достоинства данной диссертационной работы. К достоинствам работы, относятся, прежде всего, комплексный подход к задаче получения качественного лесопосадочного материала (сеянцев) из лесопитомников, включающей и исследование влияния интродуцированных микроорганизмов-антагонистов на биогенность систематически возделываемой почвы опытного лесопитомника. Поставлено колоссальное количество экспериментов, что отражено в рисунках и таблицах. Научная новизна исследования бесспорна и не вызывает сомнений. Автором даны практические рекомендации для лесных питомников Сибири. Основные материалы исследований отражены в 24 публикациях автора, в том числе 5 из них в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК. Автореферат полностью отражает основные положения и выводы работы.

Диссертация Кондаковой Оксаны Эриковны является научно-квалифицированной работой, в которой изложены новые научно обоснованные способы повышения качества лесопосадочного материала (сеянцев) и восстановления биогенности истощенных почв лесных питомников, имеющие существенное значение для развития рационального и непрерывного лесопользования.

Диссертационная работа Кондаковой Оксаны Эриковны соответствует требованиям пп. 9–11, 13, 14 действующего «Положения о присуждении ученых степеней», соискатель заслуживает присуждения степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.08 – Экология (биология).

Старший научный сотрудник  
лаборатории биоразнообразия и экологии  
Научно-исследовательского института биологии и биофизики  
Томского государственного университета,  
кандидат биологических наук  
(03.02.08 – Экология)

10.06.2019 г.

Лушчаева Инна Владимировна

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Томский государственный университет»,  
634050, г. Томск, пр. Ленина, 36;  
(3822) 52-98-52; rector@tsu.ru; http://www.tsu.ru



ПОДПИСЬ УДОСТОВЕРЯЮ  
Будущий документовед  
управления делами  
Н.Г. Михеева