

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу Кириленко Людмили Василівни «ФУНКЦІОНУВАННЯ СИМБІОТИЧНОЇ СИСТЕМИ RHIZOBIUM GALEGAE – КОЗЛЯТНИК ЗА ДІЇ ФІТОПАТОГЕННИХ МІКРООРГАНІЗМІВ»,
представленої на здобуття наукового ступеня кандидата сільськогосподарських наук за спеціальністю 03.00.07 – мікробіологія

Козлятник східний – нова для України бобова культура. Використання даного виду в сільськогосподарському виробництві країни обумовлено, перш за все, його господарсько цінними ознаками. Це висока зимостійкість та продуктивність культури, інтенсивний ріст та довговічність, раннє весняне відростання, можливість використання на одному місці протягом 10 – 12 років, отримання високоякісного корму без внесення азотних добрив (за рахунок симбіотичної азотфіксації).

Проте вирощування козлятника східного на ґрунтах, де відсутні активні штами специфічних бульбочкових бактерій, потребує застосування біопрепаратів для передпосівної бактеризації насіння культури, що в свою чергу обумовлює необхідність скринінгу активних штамів відповідних мікроорганізмів. Застосування мікробних препаратів у технологіях вирощування козлятника східного сприяє підвищенню реалізації симбіотичного потенціалу рослин, зростанню урожайності культури та зниженню чутливості до несприятливих ґрунтово-кліматичних умов.

На формування та функціонування бобово-ризобіального симбіозу суттєво впливають умови зовнішнього середовища. З біотичних факторів особливу роль відіграють ґрунтові мікроорганізми, зокрема, фітопатогенні гриби та бактерії - збудники хвороб козлятнику східного. Проте фітопатогени посівів козлятнику досліджено недостатньо.

Пізнання механізмів взаємодії в системі: бобові рослини – бульбочкові бактерії – фітопатогенні мікроорганізми є важливим при вирішенні питань, спрямованих на оптимізацію умов та підвищення ефективності функціонування бобово-ризобіальних систем, а також підвищення стійкості рослин до патогенних мікроорганізмів. Саме тому актуальною є дисертаційна робота Л.В. Кириленко, яка присвячена дослідженню симбіотичної системи *Rhizobium galegae* – козлятник східний за дії фітопатогенних мікроорганізмів. Для роботи у даному напрямку вкрай необхідним є визначення ролі системи «*Rhizobium galegae*–козлятник» у підвищенні врожайності даної культури, якості рослинної сировини та збереженні високого азотфіксувального потенціалу за дії фітопатогенних мікроорганізмів, що є предметом досліджень автора дисертації.

Автор поставила за мету дослідити ефективність симбіотичної системи *Rhizobium galegae* – козлятник східний за дії фітопатогенних мікроорганізмів. Відповідно до поставленої мети розв'язано 5 основних завдань.

Усі експериментальні результати, наукові положення і висновки роботи побудовані на матеріалах власних досліджень. Їх достовірність визначається достатньою кількістю експериментів, застосуванням для вирішення поставлених завдань сучасних мікробіологічних, молекулярно-біологічних, біохімічних і фізіологічних методів. Достовірність отриманих результатів підтверджено статистичною обробкою отриманих результатів.

Наукові положення, висновки та рекомендації обговорені науковою спільнотою на вітчизняних та міжнародних конференціях.

На основі результатів проведених досліджень отримано і обґрунтовано нові теоретичні і експериментальні положення щодо функціонування симбіотичної системи «*Rhizobium galegae*–козлятник східний» за дії фітопатогенних мікроорганізмів.

Виділено нові штами бульбочкових бактерій виду *Rhizobium galegae*, визначено їх культурально-морфологічні та фізіолого-біохімічні характеристики

і вплив на рослину. Вперше проведено селекцію штамів бульбочкових бактерій для створення ефективно функціонуючого бобово-ризобіального симбіозу *Rhizobium galegae*– козлятник східний за дії фітопатогенних бактерій і грибів.

Новизна отриманих даних підтверджена патентом на штам бактерій *Rhizobium galegae* Л2 для одержання бактеріального добрива під козлятник східний (Патент України №95714) і методичними рекомендаціями: «Діагностика фітопатогенних бактерій» і «Хвороби козлятника східного: моніторинг, діагностика, профілактика».

Наукові здобутки дисертанта мають не тільки фундаментальне, а й прикладне значення. Виділений автором штам *Rh. galegae* Л2 рекомендований для підвищення урожайності насіння козлятнику і поліпшення його якості за дії фітопатогенних мікроорганізмів. Результати дисертації також рекомендовано використовувати при викладанні курсів «Фітопатологія», «Бактеріози рослин», «Біологічні методи захисту рослин», «Загальна мікробіологія» тощо у вищих навчальних закладах сільськогосподарського та біологічного профілів.

Основні результати наукових досліджень пройшли виробничу перевірку, що підтверджено актами випробування.

Дисертація Л. В. Кириленко оформлена за традиційною схемою, написана українською мовою на 164 сторінках комп'ютерного тексту, ілюстрована 8 рисунками, 23 таблицями, 10 додатками. Робота складається із вступу, огляду наукової літератури, опису матеріалів, методів та умов проведення досліджень, чотирьох розділів експериментальної частини, висновків, рекомендацій виробництву, додатків. Робота містить 22 таблиці, 10 рисунків. Список використаної літератури становить 305 джерел, з яких 83 латиною.

У вступі окреслено актуальність роботи і доцільність дисертаційного дослідження. Чітко сформульовані мета і завдання роботи. Об'єкт та предмет дослідження відповідають назві роботи.

Огляд літератури складається з 5 підрозділів і містить інформацію про біологічні особливості козлятнику східного, використання даної культури у різних ґрунтово-кліматичних умовах, особливості формування та функціонування симбіотичних систем, вплив екологічних факторів на розвиток і продуктивність бобово-ризобіального симбіозу. Автор звертає увагу на те, що виживання і ефективність застосування штамів *R. galegae* значною мірою залежить від адаптації їх до ґрунтово-кліматичних умов району вирощування і сумісності з рослиною-живителем. Підкреслюється, що високий рівень ефективності симбіотичної азотфіксації неможливий без спрямованої селекції сортів бобових рослин і комплементарних штамів бульбочкових бактерій.

У підрозділі 4 представлено способи селекції високоефективних штамів бульбочкових бактерій. Ця частина огляду літератури стосується генетико-селекційних методів отримання нових ризобіальних штамів, але вона дещо розширена і містить посилання, які безпосередньо не стосуються теми дисертаційної роботи, наприклад, особливості перенесення генів між бактеріями, мутагенез бульбочкових бактерій.

Підрозділ 5 присвячений дослідженню впливу на ефективність бобово-ризобіальних систем умов навколишнього середовища - дії абіотичних, біотичних і антропогенних факторів.

У розділі 2 описано умови, об'єкти та методи проведення досліджень. Пошукачем використано відповідні для вирішення завдань сучасні і класичні мікробіологічні, біохімічні, фізіологічні і польові методи. Схеми дослідів і повторність в експериментах достатні для статистичного опрацювання отриманих результатів. У роботі використано 8 штамів *Rhizobium galegae*, 76 фітопатогенних штамів та 3 сорти козлятнику східного.

У розділі 3 представлено результати дослідження формування високоефективної симбіотичної системи «*Rhizobium galegae* – козлятник» шляхом скринінгу активних штамів ризобій. Л.В. Кириленко отримано новий

високо вірулентний штам *Rh. galegae* (Патент України №95714), що забезпечує підвищення урожаю зеленої маси козлятнику, вмісту глютамінової кислоти та протеїну.

Розділ 4 містить експериментальні дані щодо впливу біопрепаратів на мікробні угруповання ґрунту ризосфери козлятнику східного. Для цього проведено дослідження кількісного та якісного складу угруповань мікроорганізмів ризосфери рослин козлятнику східного, виявлено підвищення чисельності бацил, стрептоміцетів та целюлозоруйнівних мікроорганізмів у ґрунті за використання Ризобофіту і мінеральних добрив.

Дослідження амоніфікувальної та нітрифікувальної здатності ґрунту при вирощуванні козлятнику східного показали, що використання Ризобофіту позитивно впливає на дані показники.

Приріст урожаю козлятнику східного у варіанті з Ризобофітом порівняно з контролем становив: для сорту Кавказький бранець 14,2 т/га, сортів Салют – 8,8 т/га і Донецький 90 – 11,5 т/га.

У розділі 5 проведено оцінку впливу фітопатогенних бактерій та мікроміцетів на ефективність функціонування симбіотичної системи *Rhizobium galegae* – козлятник.

Для проведення моніторингу бактеріальних хвороб козлятнику на науково-дослідних та промислових посівах у Вінницькій області визначено низку симптомів ураження рослин. Досліджено культурально-морфологічні та фізіолого-біохімічні властивості ізолятів фітопатогенів, що дало можливість віднести їх до родів *Pseudomonas* і *Xanthomonas* та до виду *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*.

У підрозділах 2 і 3 наведено характеристику уражень рослин козлятнику фітопатогенними мікроміцетами. Вивчено вплив фільтратів культуральних рідин *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*, *Xanthomonas* sp. P14 та *Uromyces galegae* P15 на симбіотичну систему «козлятник східний – бульбочкові

бактерії». Аналіз отриманих даних свідчить, що фітопатогенні мікроорганізми значно знижують азотфіксувальну активність, показники висоти і маси рослин, вміст амінокислот у зеленій масі козлятнику східного.

Виявлено, що інокуляція насіння козлятнику східного активним штамом бульбочкових бактерій *Rh. galegae* Л2 зменшувала негативний вплив фітопатогенів на рослини козлятнику східного.

У наступному розділі 6 наведено результати випробувань ефективності передпосівної інокуляції насіння козлятнику східного штамом *Rh. galegae* Л2. Доведено, що бактеризація насіння новим штамом є економічно і енергетично вигідним елементом технології вирощування козлятнику східного, сприяє зниженню собівартості, збільшенню прибутку та підвищенню рівня рентабельності.

Отримані дані дали можливість дисертанту науково обґрунтувати і практично довести, що новий штам *R. galegae* Л2 можна рекомендувати як біоагент ефективного біологічного препарату для інокуляції насіння козлятнику східного.

Кожен із розділів дисертації має сформульовані висновки та наукові положення зі стислим викладенням наукових і практичних результатів. Виходячи з аналізу основної частини дисертації, можна стверджувати, що мета дисертаційної роботи в ході досліджень була досягнута, а дисертація є завершеною науковою працею.

Аналіз та узагальнення результатів досліджень проведено автором послідовно, з урахуванням останніх досліджень науковців у галузі мікробно-рослинних взаємовідносин, симбіотичної азотфіксації, фітопатології бобових рослин.

Аграрному виробництву рекомендовано вирощування козлятнику східного сорту Кавказький бранець з передпосівною інокуляцією насіння активним штамом бульбочкових бактерій *R. galegae* Л2, який сприяє не тільки

підвищенню урожаю, а й зменшенню негативного впливу фітопатогенів на рослини козлятнику.

Висновки дисертації аргументовані, сформульовані логічно і відповідають змісту роботи.

Пропозиції виробництву представлені автором згідно проведених польових і виробничих досліджень. Аграрним підприємствам, науковим і освітнім закладам запропоновано методичні рекомендації: «Хвороби козлятнику східного: моніторинг, діагностика, профілактика» (Вінниця, 2016).

За результатами досліджень опубліковано 15 наукових праць, з них 2 монографії, 6 статей у фахових виданнях (у тому числі 2 в зарубіжних виданнях, які включено до міжнародної науко метричної бази Scopus), 1 стаття у зарубіжній монографії, 3 – у матеріалах і тезах конференцій, 2 методичні рекомендації, 1 патент.

Публікації за темою дисертації повністю відображають основні положення та результати роботи.

За структурою, змістом та оформленням автореферат відповідає вимогам МОН України. Зміст автореферату та основні положення дисертації є ідентичними.

Дискусійні положення та зауваження. При детальному аналізі дисертаційної роботи Кириленко Людмили Василівни виникло декілька зауважень та запитань, на які бажано отримати відповідь автора.

1. У розділі 2 представлено кліматичні показники впродовж вегетаційного періоду 2012 року, хоча польові дослідження проведено протягом трьох років.

3. У таблиці 2.2 зайва перша колонка, в якій повторюється ідентична інформація.

3. Назва підрозділу 2.3.1 «Виділення бактерій із козлятнику східного та методи вивчення їхніх патогенних властивостей» невдала, оскільки невідомо з якої частини уражених рослин виділяли мікроорганізми.

4. У розділі 3 потребує пояснення низький рівень нітрогеназної активності бульбочок, утворених за інокуляції виробничим штамом *R. galegae* 0703, зважаючи на найвищий показник маси бульбочок на одну рослину даного варіанту в порівнянні з іншими.

5. У таблиці 3.4 «Вміст сирого протеїну і азоту в сухій речовині козлятнику східного сорту Кавказький бранець» відсутня статистична обробка даних.

6. У висновках до розділу 3 зазначено, що штам *R. galegae* Л2 формує ефективний симбіоз з рослинами козлятнику за високої насиченості ґрунту аборигенними бульбочковими бактеріями. Але автор не наводить дані щодо визначення чисельності бульбочкових бактерій у ґрунті.

7. У тексті трапляються технічні, стилістичні та орфографічні помилки, невдалі вирази, такі як, наприклад, на стор. 5: «фіксувати біологічний азот великими кількостями», на стор. 6: «це не примха, а обов'язковий елемент вирощування», «виділити високоефективні штами бульбочкових бактерій з кореневої системи», стор. 11: «козлятник лікарський, який є і ціннішим, оскільки містить менше алкалоїдів, вид – козлятник східний», стор. 12: «Основна маса його коренів розташована в орному шарі і рясно постачає азотфіксуючі бульбочки», стор. 23: «рослині це обійшлося доволі дорого» та інші.

Оцінюючи дисертаційну роботу в цілому слід відмітити, що вона відповідає вимогам, які висуваються до наукових праць такого рівня, а також відзначається логічністю, послідовністю, системністю, обґрунтованістю. Слід підкреслити високий рівень теоретичного та методичного опрацювання автором головних аспектів досліджуваної теми. Структура дисертації цілком узгоджується з її назвою, метою і завданням дослідження. Висновки є достатньо аргументовані та мають важливий теоретичний та прикладний характер.

Вважаю, що за обсягом, науково-методичною спрямованістю, актуальністю і науковим значенням виконаних досліджень дисертаційна робота «Функціонування симбіотичної системи *Rhizobium galegae* –козлятник за дії фітопатогенних мікроорганізмів» є самостійною і завершеною науковою роботою, яка цілком відповідає вимогам п. 11 «Порядку присудження наукових ступенів» ДАК України, а її автор Кириленко Людмила Василівна заслуговує присудження наукового ступеня кандидата сільськогосподарських наук за спеціальністю 03.00.07 – мікробіологія.

Директор Інституту сільськогосподарської
мікробіології та агропромислового
виробництва НААН, доктор с.-г. наук, професор,
член-кореспондент НААН



В.В. Волкогон

27.02.2017

Підпис В.В. Волкогона посвідчую:
Вчений секретар ІСМАВ НААН



В.П. Горбань