

*До разової спеціалізованої вченої ради  
РСВР 059  
Національного університету біоресурсів  
і природокористування України  
03041, м. Київ, вул. Героїв Оборони, 15*

## **ВІДГУК**

офіційного опонента – доктора біологічних наук,  
старшого наукового співробітника, заступника директора з наукової роботи  
Інституту мікробіології і вірусології імені Д. К. Заболотного  
Національної академії наук України Сафронової Лариси Анатоліївни  
на дисертацію Кіроянц Мідії Олегівни  
на тему: **«Формування ризосферного мікробного біому ячменю ярого за  
різних систем удобрення в чорноземі типовому»**, подану на здобуття  
ступеня доктора філософії  
за спеціальністю 201 «Агрономія»

**Обґрунтування вибору теми дослідження.** Потужним чинником підвищення продуктивності аграрних біологічних систем, потенціал яких на сьогодні розкритий не в повній мірі, є оптимізація рослинно-мікробних взаємодій. З цією метою розробляються і вводяться в системи удобрення необхідні заходи, що базуються на екологічно безпечних, агрономічно-цінних препаратах на основі ризосферних бактерій, які складають значну частину мікробіому ґрунту. А здатність домінантних ризосферних бактерій синтезувати різний спектр біологічно активних речовин з високою біологічною активністю робить актуальним і доцільним їх використання у рослинництві та землеробстві. Отже, інтродукція активних штамів бактерій в агроценози є необхідним і дієвим трендом агротехнологій вирощування сільськогосподарських культур, зокрема ячменю ярого, що ефективно сприяє поліпшенню живлення рослин, захисту від фітопатогенних організмів різної природи, підвищенню продуктивності культури, покращенню якісних показників продукції.

Дисертація Кіроянц присвячена дослідженням мікробіому ризосфери ячменю ярого за різних систем удобрення в чорноземі типовому. Сукупність мікроорганізмів у ґрунтового середовищі – мікробіом є життєво важливим компонентом сталого сільського господарства. Корисні мікроби можуть посилювати ріст рослин і покращувати живлення рослинами через солюбілізацію фосфору, калію та цинку, фіксацію азоту та інші механізми, включаючи виробництво сидерофорів. У сільському господарстві мікробіота використовується як засіб біоконтролю (для боротьби зі шкідниками та хворобами), біостимулятори (мобілізація доступних місцевих поживних речовин для поглинання рослинами) і біодобрива.

Тому дослідження взаємодій між рослинами та мікробними спільнотами у ризосфері має важливе значення для розробки методів сталого управління виробництва сільськогосподарських продуктів. Розуміння того, як така взаємодія змінюється під впливом абіотичного середовища є перспективним напрямком для прогнозування динаміки рослинного співтовариства в різних градієнтах навколишнього середовища та в умовах зміни клімату.

Сучасним напрямом нових високоефективних екологічно безпечних систем землеробства є застосування біодобрив, розроблених на основі виділених корисних мікроорганізмів ґрунтового мікробіому. Врахування викладених положень дає підстави стверджувати про актуальність обраної М. О. Кіроянц теми дисертації.

Дисертація виконана у контексті науково-дослідних робіт Національного університету біоресурсів і природокористування України, а саме: в межах НДР МОН України № 110/99-Ф «Оцінка структури та різноманіття мікробного метагеному чорнозему типового та дослідження еколого-біологічних механізмів формування його функціональних особливостей», 2017-2019 рр. (факультет захисту рослин, біотехнологій та екології, кафедра екобіотехнології та біорізноманіття НУБіП України).

**Ступінь обґрунтованості та достовірності наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації. Дисертаційне**

дослідження має системний, цілісний, самостійний характер. Дисертантка методологічно правильно сформулювала мету відповідно до теми дослідження. Для досягнення мети і вирішення задач використано сучасні методи досліджень (мікробіологічні, молекулярно-генетичні, фізіолого-біохімічні, інструментальні, вегетаційні, польові, статистичні). Комплексне застосування цих методів дозволило вирішити поставлені задачі та отримати достовірні результати. Висновки повною мірою відповідають отриманим результатам, є обґрунтованими та мають наукову новизну.

**Наукова новизна одержаних результатів.** Здобувачкою проведено метагеномний аналіз біорізноманіття ґрунтового мікробіому чорнозему типового за різних варіантів обробітку та удобрення. Показано, що органо-мінеральна система удобрення ґрунту формувала більш високі показники біорізноманіття ґрунтових мікроорганізмів (в 3–5,7 рази більше видів бактерій, порівняно з контролем). У варіантах удобрення із рослинними рештками попередника та мінеральним добривом спостерігалось до 70% бактерій, які не культивуються на селективних середовищах. З агроценозу ячменю ярого (сорт Себастьян) виділено два домінантні ізоляти бактерій та вивчено їх морфолого-культуральні та фізіолого-біохімічні особливості. На основі сучасних молекулярно-генетичних та мікробіологічних методів дослідження проведено ідентифікацію домінантних штамів ризосферних мікроорганізмів ячменю ярого, встановлено їх належать до видів *Phyllobacterium ifriqiense* та *Bacillus velezensis*. Отримані нуклеотидні послідовності фрагментів генів 16S рРНК штамів *P. ifriqiense* 1 та *B. velezensis* 10 зареєстровано у базі GenBank. Встановлено, що виділений з апікальної частини коренів ячменю штам асоціативних бактерій *P. ifriqiense* 1 є активним азотофіксатором з властивостями стимуляції росту і розвитку рослин ячменю ярого. Штам *B.velezensis* 10, пов'язаний з формуванням кореневої системи рослин, позитивно впливає на морфометричні показники ячменю ярого та є активним протигрибковим агентом рослин.

Уперше показано, що застосування побічної продукції (3,0 т/га) +  $N_{45}P_{42}K_{55}$  дає можливість оптимізувати мікробіологічні процеси в період активної вегетації ячменю ярого, що сприяє створенню умов для формування більш складної філотипової структури та високого рівня біорізноманіття прокаріот чорнозему типового.

**Теоретичне та практичне значення одержаних результатів.** Отримані дані про особливості формування кількісної та якісної структури мікробного комплексу ячменю ярого та спрямованості мікробних процесів чорнозему типового мають теоретичне та практичне значення для аграрного виробництва, яке полягає у корегуванні агроприйомів, що використовуються при створенні ефективних сучасних технологій вирощування сільськогосподарських культур.

Удосконалено науково-методичні підходи та біотехнологічні прийоми для оптимізації адаптивних методів удобрення при створенні стійких високопродуктивних агроєкосистем та управління ґрунтовою родючістю в цілому, з урахуванням наукового обґрунтування мікробних процесів.

Виділено штами бактерій домінуючих морфотипів аборигенної мікробіоти ризосферного ґрунту ячменю ярого, які є перспективними біоагентами для створення біопрепаратів для стимуляції росту та розвитку рослин, боротьби з фітопатогенами та отримання цільових продуктів мікробного синтезу.

Для практичного використання як ефективний метод сучасного аграрного виробництва рекомендовано застосовувати удобрення ячменю ярого рослинними рештками попередника та мінеральним добривом у нормі (3,0 т/га) +  $N_{45}P_{42}K_{55}$ , а також здійснювати обробку насіння та рослин ячменю ярого суспензією виділених штамів бактерій для збільшення урожайності та профілактики грибкових захворювань.

**Повнота викладу результатів дисертації в опублікованих працях.** Список публікацій за темою дисертації включає 9 праць. Опубліковано 4 статті у наукових фахових виданнях України, 2 – у виданнях, які включені до

наукометричних баз Scopus або Web of Science. Оpubліковано матеріали тез доповідей на 4 наукових конференціях та з'їздах. Оpubліковані роботи досить повно висвітлюють отримані експериментальні дані і висновки дисертації.

**Оцінка змісту дисертації.** Дисертаційна робота складається зі вступу, огляду літератури, експериментальної частини, яка містить сім розділів, а також висновків, пропозицій для виробництва, списку використаних джерел і додатків. Оpubліковані анотації українською та англійською мовами цілком відповідають положенням, що викладені в тексті дисертації та не містять даних, які були б відсутні в основному тексті роботи і оформлені відповідно до діючого Порядку присудження наукових ступенів.

**Структура дисертаційної роботи** має логічний характер, матеріали і методи досліджень викладено відповідно до мети і поставлених задач. Вони відповідають об'єкту і предмету дослідження. Дисертантка поставила за мету вивчити біологічні характеристики виділених домінантних штамів *Bacillus velezensis* 10 та *Phyllobacterium ifriqiense* 1, що є перспективними для аграрної науки і практичного використання. Об'єктом дослідження були особливості формування структури та різноманіття мікробного комплексу чорнозему типового в агрофітоценозі ячменю ярого та функціонально-значущі домінантні мікроорганізми, що впливають на ріст і розвиток ячменю ярого, їх біохімічні, морфологічні та функціональні властивості. Дисертаційну роботу викладено на 203 сторінках друкованого тексту. Дисертація складається із анотації, вступу, семи розділів, висновків, рекомендацій виробництву, списку використаних джерел. Загальний обсяг роботи становить 203 сторінки. Дисертація містить 14 таблиць, 43 рисунків. У списку використаних джерел 308 найменувань.

У вступі обґрунтовано актуальність обраної теми, вказано на зв'язок роботи з науковими програмами, сформовано мету та завдання дослідження, наукову новизну, практичне значення отриманих результатів, зазначено особистий внесок автора. Результати досліджень повною мірою відображені в

наукових публікаціях, а також були представлені та обговорені на наукових конференціях.

У першому розділі дисертантка систематизувала сучасні відомості щодо ролі мікробіоти у функціонуванні ґрунту, охарактеризовано екологічні особливості ризосферних мікроорганізмів, вплив різних факторів на формування просторової та функціональної структури мікробних угруповань. Також наведено дані про значення ризосферних мікроорганізмів для аграрних технологій, зокрема у регулюванні ґрунтово-мікробних процесів при створенні високопродуктивних агроecosystem.

У другому розділі наведено опис методик, які використані для вирішення поставлених задач та аналізу результатів. Відповідно до поставлених задач було використано мікробіологічні, фізіолого-біохімічні, молекулярно-генетичні, інструментальні, вегетаційні, польові, математично-статистичні методи досліджень.

У третьому розділі досліджено вплив різних варіантів удобрення на формування мікробного комплексу чорнозему типового в агроценозі ячменю ярого. Проаналізовано чисельність мікроорганізмів різних фізіологічних груп, структуру якісного складу та розподіл домінуючих форм бактерій. Автором показано, що застосування саме удобрення побічною продукцією з меншою нормою мінерального добрива сприяє формуванню найширшого різноманіття бактеріального комплексу чорнозему типового в агроценозі ячменю ярого. Показано, що застосування тільки мінеральних добрив призводить до зниження бактеріального біорізноманіття ґрунту та формування однорідного мікробного комплексу з високим ступенем домінування певних морфотипів бактерій на початку та в період активної вегетації.

У четвертому розділі проведено метагеномний аналіз біорізноманіття ґрунтового мікробіому та порівняльний аналіз результатів з даними, отриманими методами мікробіологічних досліджень з попереднього розділу. Дослідження складу мікробного комплексу чорнозему типового в умовах Панфілівської дослідної станції показав, що у контрольному варіанті

розвивалось у 2–3,8 рази менше видів бактерій, порівняно з варіантом застосування органо-мінеральної системи удобрення. При цьому варіанти удобрення із рослинними рештками попередника та мінеральним добривом призводили до розвитку бактерій (до 70%), які не культивувалися на селективних середовищах.

У п'ятому розділі автор проводить ідентифікацію домінантних штамів бактерій ризосфери ячменю ярого, використовуючи також сучасні мікробіологічні методи визначення морфологічних та фізіолого-біохімічних особливостей мікроорганізмів. На основі проведених досліджень щодо використання штамми вуглеводних джерел живлення, фарбування за Грамом, мікроскопії та філогенетичного аналізу послідовностей гена 16S рРНК автор визначила таксономічне положення домінантних ризосферних штамів бактерій. Встановлено, що перший ізолят належить до виду *Phyllobacterium ifriqiense*, а другий до *Bacillus velezensis*.

Шостий розділ присвячений дослідженню антагоністичної активності домінантних морфотипів ризосферних штамів бактерій *Bacillus velezensis* 10 та *Phyllobacterium ifriqiense* 1. Показана їх здатність пригнічувати ріст і розвиток фітопатогенних мікроміцетів, тому ці штами є перспективними для використання як агентів біоконтролю для захисту рослин.

У сьомому розділі дисертаційної роботи описаний вплив інокуляції насіння та обробки рослин ячменю ярого домінантними морфотипами бактерій ризосфери. Обробка насіння та рослин ячменю ярого бактеріальною суспензією виділених штамів показала високий рівень позитивного впливу на морфологічні показники та активізацію функцій фотосинтетичного апарату.

Автором встановлено, що у контролі та у варіанті із застосуванням лише мінеральних добрив урожайність ячменю ярого була низькою та не відповідала адекватному біокліматичному потенціалу агроландшафту і становила відповідно 4,65 та 5,74 т/га. Найвищі показники урожайності були за органо-мінеральної системи удобрення, і становили відповідно 6,42 та 6,81 т/га при меншій та більшій нормі внесення мінерального добрива.

Встановлено, що виробничі витрати по вирощуванню ячменю ярого склали від 7193 до 11637 грн/га залежно від варіантів удобрення ґрунту. Найвищими вони були за варіантів з використанням мінерального добрива, оскільки технологія вирощування за даного варіанту є найбільш витратною, а найнижчими – за контролю та удобрення побічною продукцією, оскільки не використовувались добрива, що значно зменшило витратну частину.

**Відсутність (наявність) порушення академічної доброчесності.** З аналізу змісту дисертації М. О. Кіроянц мною, як офіційним опонентом, вбачається дотримання вимог академічної доброчесності в повному обсязі. Робота містить посилання на згадані у тексті джерела інформації, автором дотримано вимоги норм законодавства про авторське право, надано повну інформацію про результати наукової діяльності, а також використані методи досліджень.

**Дискусійні положення, запитання та побажання щодо змісту дисертації.** Викладені в дисертації результати досліджень, їх аналіз та сформульовані висновки в цілому не викликають принципових зауважень, але разом з тим є до дисертанта деякі побажання та зауваження:

1. В анотації до дисертації не треба описувати методики досліджень, які використовували у роботі (стор.4, 3, 5), вони відображені у розділі «Матеріали та методи досліджень».
2. В анотації також згадується, що досліджені ризосферні бактерії виявляли високу антагоністичну активність щодо фітопатогенних мікроорганізмів за рахунок синтезу екзометаболітів різної хімічної природи. Це твердження можливе лише на рівні припущення (з літературних даних), оскільки у роботі синтез метаболітів штамами виділених бактерій не вивчався.
3. В анотації до дисертації слід було б чіткіше і логічніше викласти всі основні результати роботи.
4. У розділі «Матеріали та методи досліджень» не слід докладно описувати камеру Горяєва, прилад «Флоратест» та ін.



5. Згадуючи вперше у тексті словосполучення «удобрення побічною продукцією» слід було б пояснити, який склад цієї продукції.
6. Огляд літератури можна було б розширити та навести, наприклад, більш повний аналіз сучасних опублікованих даних щодо характеристики мікробіому ґрунту.
7. Підрозділ “Значення молекулярної філогенетики як основи генетичної структури популяції екосистеми” (5.3., стор.127) слід було б віднести до розділу “Огляд літератури”, оскільки він не містить результатів власних досліджень дисертанта.
8. Назва розділу 4.2. «Вплив систем удобрення на формування метагеному ґрунтових прокариот» (стор.113) не відповідає назві цього розділу, заявленому у змісті дисертації («Значення формування ризосфери біому та метагеному ризосфери ячменю ярого, вплив систем удобрення на генетичну різноманітність ґрунтових прокариот»).
9. У висновку 1 при описі зміни чисельності мікроорганізмів різних фізіологічних груп після застосування удобрення побічною продукцією +  $N_{45}P_{42}K_{55}$ , слід було б вказати для порівняння їх чисельність у контролі.
10. Висновок 5 слід було б скоротити, та залишити в ньому лише отримані дисертантом конкретні результати досліджень, прибравши загальні фрази («Ризосферні бактерії цих родів часто виявляють властивості азотфіксації, що дозволяє зменшити використання хімічних добрив та підвищити врожайність рослин. Здійснювати біологічний контроль захворювань рослин, виробляючи різні антибіотики та біоактивні сполуки, які допомагають у боротьбі за патогенними мікроорганізмами»).
11. У назвах розділу 7 «Оцінка біологічної та економічної ефективності перспективних домінантних морфотипів бактерій ризосфери ячменю ярого», а також таблиць даного розділу коректніше вказувати видову назву вже ідентифікованих дисертантом штамів бактерій (*Bacillus velezensis* 10, *Phyllobacterium ifriqiyense* 1).

12. У таблиці 7.1. (стор.147) не вказано вихідний титр суспензії бактерій, якою обробляли ячмінь ярий у модельних вегетаційних дослідах.

13. Зустрічаються у роботі невдалі вислови, стилістичні та граматичні помилки.

Усі висловлені зауваження та побажання не носять принципового характеру, не стосуються концепції дисертаційного дослідження і не впливають на його загальну позитивну оцінку.

#### **Висновок про відповідність дисертації встановленим вимогам.**

Дисертаційна робота Кіроянц Мідії Олегівни на тему «**Формування ризосферного мікробного біому ячменю ярого за різних систем удобрення в чорноземі типовому**» є самостійним, завершеним науковим дослідженням. Актуальність обраної теми, обґрунтованість наукових положень, висновків та запропонованих рекомендацій, сформульованих у дисертації, їх достовірність та наукова новизна, повнота їх викладу в опублікованих працях свідчать про наукову самостійність авторки та її високий рівень теоретичної підготовки. В роботі теоретично обґрунтовано та експериментально підтверджено, що застосування удобрення у вигляді побічної продукції (3,0 т/га) +  $N_{45}P_{42}K_{55}$  дає можливість оптимізувати мікробіологічні процеси в період активної вегетації ячменю ярого, що сприяє створенню умов для формування більш складної філотипової структури та високого рівня біорізноманіття прокаріот чорнозему типового. А виділені штами домінуючих морфотипів аборигенної мікробіоти є перспективними для біотехнологічної селекції агентів біопрепаратів сільськогосподарського призначення та отримання цільових продуктів мікробного синтезу.

Таким чином, дисертаційна робота М.О. Кіроянц відповідає спеціальності 201 – «Агрономія» та основним вимогам до оформлення дисертацій (наказ МОН України №40 від 12.01.2017 р.), а також «Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про

присудження ступеня доктора філософії», затвердженого постановою Кабінету Міністрів України №44 від 12 січня 2022 року, а її авторка Кіроянц Мідія Олегівна заслуговує на присудження наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 201 «Агрономія».

Офіційний опонент  
доктор біологічних наук,  
старший науковий співробітник,  
заступник директора з наукової роботи  
Інституту мікробіології і вірусології  
імені Д. К. Заболотного НАН України

**Лариса САФРОНОВА**