

## **ВІДГУК**

офіційного опонента

завідувачки кафедри мікробіології та імунології

ННЦ «Інститут біології та медицини»

Київського національного університету імені Тараса Шевченка,

доктора біологічних наук, професора **СКІВКИ Лариси Михайлівни**

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»

галузі знань 201 «Агрономія»

**Актуальність теми дослідження.** Згідно прогнозів фахівців, попит на сільськогосподарське виробництво зросте щонайменше на 70 % до 2050 року, зважаючи на експоненційне зростання людського населення (9,6 мільярдів до кінця 2050 року) та виснаження невідновлюваних природних ресурсів. Це ставить питання розроблення наукових засад для інтенсифікації методів вирощування сільськогосподарських культур у ряд найбільш пріоритетних для аграрної науки. Глобальні зміни клімату вимагають створення і впровадження інноваційних стратегій збільшення виробництва сільськогосподарських культур при збереженні природних ресурсів: оптимізації екологічної стійкості та зменшення впливу на екосистему виробництва продуктів харчування. Ключовим питанням сталого розвитку сільськогосподарського виробництва є збереження якості ґрунту, невідновлюваного природного ресурсу, значна частина функцій якого керується ґрунтовими мікроорганізмами. Ризосфера рослин – це частина ґрунту, яка безпосередньо контактує з корінням рослин і відповідає за регулювання стабільності агроєкосистеми. З мікробіологічної точки зору ризосферна мікробіота характеризується інтенсивною динамікою функціональних груп з високою специфічністю до доступного субстрату та здатністю перетворювати його на доступні для рослин форми. На думку фахівців маніпулювання ризосферною мікробіотою має потенціал для інтеграції та поступової заміни невідновлюваних мінеральних ресурсів у рослинництві. Використання ризосферних мікроорганізмів з ріст-стимулювальними властивостями в агробіотехнології є потужною стратегією інтенсифікації

сталого сільськогосподарського виробництва шляхом покращення якості врожаю, здоров'я ґрунту через боротьбу з фітопатогенами та абіотичними стресами (посуха та засолення), а також зменшення застосування агрохімікатів. Для її запровадження в агропромислове виробництво докладаються значні зусилля, щоб охарактеризувати структурне та функціональне різноманіття мікробних спільнот, пов'язаних із ризосферою, висвітлили складні взаємодіючі домени ризосферних мікроорганізмів, пов'язаних із сільськогосподарськими культурами, які сприяють здоров'ю агроєкосистеми, а сама ризосферна мікробіота розглядається як невикористаний відновлюваний природний ресурс для подолання проблем стійкості сільського господарства в умовах екологічного стресу.

Особливої уваги при дослідженні ризосферної мікробіоти заслуговує науковий напрям, пов'язаний із ризосферним мікробіомом зернових культур, у т. ч. ячменю ярого. Ячмінь – четверта найбільш культивована злакова культура в усьому світі. Ярий ячмінь посідає одне з провідних місць у зерновому балансі України, оскільки він є культурою багатоцільового призначення і однією з найбільш витратних експорто-орієнтованих культур. Однак, потреби в зерні ячменю значно перевищують його виробництво, що потребує розроблення технологій його інтенсифікації. Враховуючи величезну різноманітність видів, комплексну і багаторівневу взаємодію та складну структуру спільноти в ризосфері ячменю ярого, розуміння біологічних властивостей її мікробіоти все ще знаходиться в зародковому стані. Поглиблене дослідження ризосферної мікробіоти ячменю ярого, у т. ч. в умовах використання різних систем удобрення ґрунту, може допомогти повністю зрозуміти вплив, який ключове ризосферне мікробне різноманіття має на продуктивність цієї сільськогосподарської культури, а також виявити стратегії її використання в агробіотехнології.

Саме цим питанням присвячене дисертаційне дослідження Мідії Олегівни Кіроянц і саме вони визначають високий ступінь його актуальності за фундаментальними і прикладними аспектами.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертація є частиною 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.).

### **Оформлення дисертації та дотримання академічної доброчесності.**

Дисертація Мідії Олегівни Кіроянц написана українською мовою і оформлена відповідно до наказу Міністерства освіти і науки України № 40 від 12 січня 2017 року «Про затвердження Вимог до оформлення дисертації» (із змінами, внесеними згідно з наказом Міністерства освіти і науки України № 759 від 31 травня 2019 року). Рукопис має класичну структуру і складається з анотації, вступу, розділу огляду літератури, методичного розділу і п'яти розділів власних результатів, висновків, списку використаних літературних джерел та додатків. Дисертація має чітко обґрунтовану концепцію, логічно підпорядковану структуру, рукопис написаний з використанням загально-прийнятої фахової термінології.

Аналіз дисертації та наукових публікацій Мідії Олегівни Кіроянц не дає підстав для сумнівів щодо наукової доброчесності здобувачки. Використання ідей, результатів, текстів і рисунків інших авторів мають посилання на відповідні джерела.

**Структура роботи, ступінь обґрунтованості та достовірності наукових положень, висновків, сформульованих у дисертації.** Дисертація Мідії Олегівни Кіроянц містить авторські висновки, наукові положення і рекомендації, що відповідають вимогам МОН України щодо дисертацій на здобуття освітньо-наукового ступеня доктора філософії.

У *вступній частині* аргументовано актуальність обраного наукового питання. Мета сформульована стисло і лаконічно. Завдання підпорядковані досягненню мети логічно і послідовно.

*Перший розділ* присвячено огляду та аналізу сучасної наукової літератури щодо ролі ризосфери в аспекті реципрокних рослинно-мікробних взаємодій та екосистемних процесів, таких як секвестрація вуглецю та цикл живлення біоти. Детально проаналізовано значення і механізми залучення ризосферної мікробіоти у біогеохімічних процесах, а також її роль у підвищенні доступності поживних речовин для рослини. Висвітлено основні структурні компоненти

ризосферного угруповання мікроорганізмів, а також ключові механізми взаємодії між рослинами та мікробіотою, які включають ріст-стимулювальні ефекти ризобактерій, вплив мікробіоти на формування комплексної стресостійкості рослини-хазяїна до абіотичних стресорів, а також підвищення імунітету рослин до біотичних навантажень, що у підсумку сприяє збільшенню їх продуктивності. Окреслено праймуючу роль ризосферної мікробіоти у формуванні рослинного мікробіому в цілому. Важливим елементом огляду літератури є підрозділ, присвячений впливу агротехнічних заходів на структуру та функціонування мікробних ценозів ґрунту, у т. ч. ризосферної мікробіоти.

Розділ завершується висновком, у якому узагальнено проведений літературний аналіз, а також окреслено недосліджені аспекти наукового напрямку, якому присвячена дисертація, що дозволило сформулювати власні мету і завдання дослідження. Розділ засвідчує глибоке володіння авторкою матеріалом з наукового напрямку, що вивчається.

*У другому розділі* наведено опис методичних підходів, застосованих у дисертаційному дослідженні. Всі елементи методології описані достатньо детально з посиланням на відповідні першоджерела. Розділ логічно структурований, послідовність опису методів узгоджена з етапами проведеного дослідження. Перегляд цієї частини рукопису свідчить про використання авторкою комплексної методології, яка включала польові, агрохімічні, екологічні, мікробіологічні, молекулярно-генетичні, біохімічні та інші методи, які є сучасними і цілком адекватними поставленим завданням, що дозволило з успіхом реалізувати сформовану мету роботи.

*Третій розділ* містить результати дослідження впливу різних варіантів удобрення на формування мікробного комплексу чорнозему типового в агроценозі ячменю ярого. Авторкою проведено всебічне дослідження кількісних і якісних показників мікроорганізмів різних фізіологічних груп в агроценозі ячменю ярого. Експерименти проведені в динаміці фаз росту рослини-хазяїна, що дозволило здійснити додатково оцінку сукцесії мікробного угруповання. Проведено оцінку морфотипів за частотою їх виявлення та комплексний порівняльний аналіз залежності частки виявлених

морфотипів від застосованої системи удобрення. Розділ логічно завершується порівняльною оцінкою впливу різних систем удобрення на різноманітність мікробіоти в агроценозі ячменю ярого, дослідженого з використанням класичних методів ґрунтової мікробіології.

*Четвертий розділ* присвячено оцінці метагеному прокариотного комплексу чорнозему за аграрного використання. У вступній частині до цього розділу авторка обґрунтовує переваги використання метагеномного аналізу в оцінці кількісних і якісних показників ґрунтової мікробіоти, яке дозволяє провести визначення некультурабельної мікробіоти і отримати більш вичерпну картину мікробного ценозу. Результати цього розділу підтверджують закономірність позитивного впливу застосування органо-мінеральної системи удобрення на різноманіття ґрунтової мікробіоти в агроценозі ячменю. Застосований методичний підхід дозволив виявити домінуючі філотипи, а також їх співвідношення в умовах використання різних агротехнологій. Особливої уваги заслуговує факт виявлення втрати представників деяких філотипів у складі ґрунтової мікробіоти за умов застосування мінеральних добрив, що узгоджується з даними щодо їх руйнівного впливу на біоценоз ґрунту у довгостроковій перспективі і додатково обґрунтовує необхідність формування наукових засад для контролю та управління ризосферною мікробіотою з мінімізацією використання агрохімікатів.

У *п'ятому розділі* наведено результати дослідження морфологічних, фізіологічних та молекулярно-генетичних характеристик двох домінантних ізолятів мікроорганізмів ризосфери ячменю ярого. Методами класичної мікробіології проведено характеристику двох домінантних ізолятів, виділених при культивуванні на глюкозо-пептонному агарі: оцінку характеристик колоній мікроорганізмів, морфології і ключових фізіологічних показників бактеріальних клітин. На наступному кроці проведено оцінку біохімічних властивостей досліджуваних ізолятів з метою їх попередньої ідентифікації. Остаточну ідентифікацію домінантних ізолятів здійснено на основі аналізу нуклеотидної послідовності гена 16S рРНК, відповідно до результатів якої ізоляти було ідентифіковано до видів *Phyllobacterium ifriqiense* та *Bacillus velezensis*.

Підсумовуючи результати цього розділу дисертаційного дослідження авторка логічно обґрунтовує необхідність проведення наступного етапу роботи, який полягав в оцінці біологічної активності виділених та ідентифікованих доміантних ізолятів, зокрема, у дослідженні їх антагоністичної активності щодо фітопатогенних мікроміцетів, результати якого наведені у *шостому розділі* роботи. Авторкою показана здатність виділених ізолятів, які були ідентифіковані до видів *Phyllobacterium ifriqiense* та *Bacillus velezensis*, чинити гальмівний вплив на ріст фітопатогенних мікроміцетів, які є не лише чинниками зниження врожаю ячменю ярого, а й джерелами мікотокситів, які забруднюють зерно, знижуючи його якість та експортний потенціал.

У *сьомому розділі* власних результатів авторкою встановлено рістстимулювальні властивості виділених доміантних ізолятів ризосферних мікроорганізмів ячменю ярого. Оцінено їх вплив на ріст і розвиток рослин, а також на ступінь активізації фотосинтетичного апарату тест-рослин. Крім того, показано та економічно обґрунтовано доцільність застосування комбінованої системи удобрення, яка поєднує використання побічної продукції і мінеральних добрив, для підвищення ефективності вирощування ячменю ярого.

Висновки дисертаційного дослідження ґрунтуються на значному фактичному матеріалі, їх достовірність не викликає сумнівів.

**Наукова новизна положень, результатів та висновків дисертації.** У дисертації дістав подальшого розвитку науковий напрям, присвячений дослідженню структури, кількісних та якісних показників ризосферної мікробіоти зернових культур, зокрема ячменю ярого.

З використанням сучасних методичних підходів розширено існуючі уявлення щодо співвідношення у складі ризосферної мікробіоти культурабельних і некультурабельних філотипів мікроорганізмів за різних систем удобрення.

Важливим аспектом новизни дисертаційного дослідження Мідії Олегівни Кіроянц слід вважати виявлення агробіотехнологічного потенціалу ризосферних мікроорганізмів ячменю ярого, що відкриває перспективи їх використання

для інтенсифікації виробництва цієї стратегічно важливої зернової культури при збереженні агроєкосистеми.

**Практичне значення результатів дисертаційного дослідження.** Виділені авторкою доміантні ізоляти ризосферної мікробіоти ячменю ярого можуть бути використані для створення на їх основі агробіотехнологічних препаратів для підвищення продуктивності цієї зернової культури. Практичну значимість результатів дисертації Мідії Олегівни Кіроянц засвідчує також акт їх впровадження у виробництво.

Крім того, матеріали дисертаційного дослідження представляють значний інтерес щодо застосування в навчальному процесі підготовки фахівців освітнього ступеня «Бакалавр» і «Магістр» за спеціальністю 201 «Агрономія».

**Повнота викладення в опублікованих працях наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації,** відповідає вимогам МОН України. Основні положення та висновки дисертації знайшли відображення у 9 наукових працях здобувачки, з яких 2 статті у періодичних наукових виданнях, включених до категорії «А» Переліку наукових фахових видань України та/або у закордонних виданнях, проіндексованих у базах даних Scopus та/або Web of Science Core Collection, 4 статті у наукових виданнях, включених до Переліку наукових фахових видань України, 3 тези наукових доповідей.

Результати дисертаційного дослідження достатньою мірою оприлюднено на вітчизняних та зарубіжних фахових наукових форумах.

#### **Дискусійні положення та зауваження щодо змісту дисертації:**

1. У методичному розділі при описі використаних поживних середовищ для культивування мікроорганізмів у разі застосування комерційних варіантів варто було вказати назву компанії-виробника і країну виробництва, в іншому випадку доцільно детально зазначати всі компоненти середовища. Опису фарбування за Грамом у методичній частині бракує зазначення використаної модифікації або комерційної тест-системи у разі її застосування.

2. Опис використаних методів статистичної обробки отриманих результатів доцільно було об'єднати в одному підрозділі для зручності сприйняття.

3. На деяких рисунках у підрозділі 3.1 відсутні позначки статистичної достовірності відмінності показників кількості мікроорганізмів/г ґрунту у групах порівняння.

4. У назві розділу, що стосується оцінки антагоністичної активності ризосферних бактерій, варто використовувати термін «ізоляти» або «штами» замість «морфотипи», оскільки у попередньому розділі наведено результати ідентифікації цих двох штамів до виду. У рукописі присутні також ще деякі термінологічні неточності.

5. Чим зумовлений вибір терміну 3 і 10 діб культивування для оцінки антагоністичної активності доміантних штамів ризосферних мікроорганізмів щодо фітопатогенних мікроміцетів?

6. *Nigrospora oryzae* добре відомий як збудник нігроспорозу кукурудзи. Чим обумовлений його вибір в якості тест-культури для оцінки антагоністичної активності мікроорганізмів ризосфери ячменю ярого?

7. Рістстимулювальні властивості доміантних штамів ризосфери ячменю ярого в роботі встановлені з використанням двох сортів цієї зернової культури (Себастьян та Акордіна). Наскільки порівняним був ефект для цих двох сортів і від яких характеристик сортів, на думку авторки, він може залежати?

8. Чи є підстави припускати синергічну рістстимулювальну та антагоністичну дію виділених доміантних штамів мікроорганізмів ризосфери ячменю ярого?

Слід зазначити, що висловлені зауваження не носять принципового характеру, не стосуються концепції дисертаційного дослідження і не впливають на його загальну позитивну оцінку.

**Загальний висновок та оцінка дисертації.** Дисертація Кіроянц Мідії Олегівни на тему: «Формування ризосферного мікробного біому ячменю ярого за різних систем удобрення ґрунту» є завершеною кваліфікаційною науковою працею, яка повністю відповідає спеціальності 201 «Агрономія».



За актуальністю тематики, високим методичним рівнем, ступенем новизни отриманих результатів та їх практичним значенням, повнотою викладення отриманих даних в опублікованих наукових працях дисертація відповідає вимогам 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 (із змінами, внесеними згідно з постановами Кабінету Міністрів України № 341 від 21 березня 2022 року, № 502 від 19 травня 2023 року та № 507 від 03 травня 2024 року), а її авторка Кіроянц Мідія Олегівна заслуговує на присудження освітньо-наукового ступеня доктора філософії зі спеціальності 201 «Агрономія» галузі знань 20 «Аграрні науки та продовольство».

**Офіційний опонент завідувачка кафедри мікробіології та імунології  
ННЦ «Інститут біології та медицини» Київського національного  
університету імені Тараса Шевченка МОН України, доктор біологічних  
наук, професор Лариса СКІВКА**