

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора биологических наук, профессора Максимова Игоря Владимировича на диссертацию Ананьева Алексея Александровича на тему «Ассоциированные с *Vitis amurensis* Rupr. микроорганизмы, как стимуляторы роста растений», представленную в диссертационный совет 99.0.064.02, созданный на базе ФГБУН «Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии» ДВО РАН, на соискание ученой степени кандидата биологических наук по научной специальности 1.5.6. – Биотехнология (биологические науки)

Работа Ананьева А.А. посвящена выделению и молекулярно-генетическому анализу эндофитных бактерий из тканей амурского винограда с использованием комплекса современных подходов, включающих молекулярно-генетический анализ, биохимические испытания и тестирования на растениях с последующей целью рекомендовать их в качестве основы для разработки биопрепаратов сельскохозяйственного назначения.

Актуальность исследования

Поиск эффективных экологически безопасных подходов к улучшению физиолого-биохимических показателей растений и, в конечном итоге, их продуктивности, является одним из важных шагов к получению высококачественной сельскохозяйственной продукции. Один из таких подходов – использование в качестве биологического защитного агента микроорганизмов, тесно ассоциированных с растениями, названных эндофитами. Как отмечает автор диссертации, «Бактериальные эндофиты обладают преимуществом над эпифитными микроорганизмами, так как формируют более устойчивую связь с растением-хозяином и поддерживают постоянный контакт с клетками, васкулярной системой и метаболитами, что позволяет эффективнее влиять на рост растения». Вместе с тем, таких, успешно выделенных и активно применяемых в сельскохозяйственной практике, штаммов крайне мало и их выделение, идентификация и поиск способов эффективного культивирования,

без потери их биологической активности, – одно из приоритетных направлений современной биотехнологии. С открытием методов быстрого прочтения геномов у исследователей появилась возможность более четкой оценки микробиомов, ассоциированных с растениями, что позволяет обсуждать не только культурально-морфологические и таксономические показатели микроорганизмов, но и физиологические изменения, происходящие в растениях, с позиции холобионта. Этот новый мир биоразнообразия микроорганизмов, как оказалось, эффективно управляет с адаптивным потенциалом растений. В соответствии с этим тема диссертационной работы является актуальной.

Цель работы – изучить эндофитные бактерии, ассоциированные с диким амурским виноградом *V. amurensis*, и оценить их ростостимулирующий потенциал для разработки сельскохозяйственных биопрепаратов.

Для достижения поставленной цели диссертанту необходимо было решить несколько задач: отобрать из внутренних тканей лозы винограда амурского *V. amurensis* изоляты бактерий, проявляющие ростостимулирующий в отношении растений потенциал, а также оценить по признакам повышения биодоступности калия, фосфора, серы, азота и биосинтеза индолил-3-уксусной кислоты (ИУК); оценить способность линий колонизации растений *Arabidopsis thaliana* и *Oryza sativa* как модельных, а также измерить морфометрические показатели растений, подвергнутых обработке этими изолятами; провести полногеномный анализ наиболее перспективных штаммов и определить генетические детерминанты и биологически активные соединения, выбранных бактериальных изолятов *V. amurensis*, обуславливающих рост стимулирующий эффект на растения.

Содержание работы:

Диссертация Ананьева А.А. написана по классической схеме и состоит из введения, обзора литературы, объектов и методов исследования, результатов и их обсуждения, заключения, выводов и списка литературы, включающего ссылки на 312 отечественных и иностранных источников. Работа изложена на 144 страницах, проиллюстрирована 32 рисунком, содержит 13 таблиц. Материалы диссертации изложены в 10 публикациях, из них 3 в журналах,

индексируемых в базах WoS и Scopus, а также включённых в «Белый список».

Во введении диссертант обосновывает актуальность выбранной темы, определяет характер и направление работы, четко обозначает основную цель исследования и указывает на задачи, необходимые для ее выполнения.

В обзоре литературы (глава 1) рассматриваются известные данные о микроорганизмах, ассоциированных с растениями, их важной роли в формировании фитоадаптивного потенциала к неблагоприятным условиям среды биотической и абиотической природы, способности стимулировать рост растений, что связано не только с выработкой ими гормоноподобных метаболитов ими, но улучшением в холобионтной системе, доступности макро- и микроэлементов. В конце обзорной части работы автор делает закономерный вывод, что «эндофитный потенциал растений является источником ценных для сельского хозяйства и биотехнологического производства штаммов микроорганизмов». Изложена экономическая ценность винограда и его эндофитного микробиома, а также уникальные свойства амурского дикого винограда как потенциального источника ценных эндофитных бактерий.

В разделе **«Материалы и методы исследования»**, дано описание основных методов, использованных в работе, включая методы полногеномного секвенирования геномов микроорганизмов на платформе Illumina MiSeq («Illumina», Сан-Диего, Калифорния, США) и MinION, а также хромато-масс-спектрометрический анализ бактериальных метаболитов на системе ВЭЖХ, сопряженной с масс-спектрометром Q-Exactive HF-X с электроспрейной ионизацией, в режиме положительных ионов в диапазоне m/z 100–1500 и последующее поэтапное описание хода выполнения работы.

Далее, **глава 3** посвящена описанию полученных в ходе выполнения работы результатов. Глава состоит из 6-и разделов, где автор поэтапно выделяет эндофитные изоляты бактерий из тканей амурского винограда, оценивает их эндофитность и рост регулирующую потенцию в отношении модельных растений не-хозяев *Arabidopsis thaliana* и *Oryza sativa*. В разделах 3.4 – 3.6 автором описывается молекулярно-генетическая характеристика и

фенотипические особенности, способствующее стимуляции роста растений, наиболее эффективных выделенных штаммов *Gordonia* sp. P6PL2, *Pseudomonas* sp. RA62c-B2 и *Pantoea* sp. P7SCH-B5, соответственно. Результаты, полученные в главе 3, являются новыми. Особый интерес представляет часть работы, опубликованной в соавторстве в международном журнале *Plants*, где автор с использованием 2-х недельных растений *A. thaliana*, семена которых были предварительно обработаны соответствующими штаммами, показывает, что часть выделенных и идентифицированных как эндофиты штаммов способны колонизировать растения *A. thaliana*, то есть обладают межвидовой коммуникацией. Но, в то же время, есть штаммы, не обладающие таким свойством, хотя и выделяются из тканей амурского винограда как эндофиты. Поскольку анализируемые микроорганизмы выделены как эндофиты из тканей амурского винограда, возникает вполне закономерный вопрос, относительно их способности проникать и колонизировать ткани самого хозяина.

В Заключение (2 страницы) автором обобщаются данные полученные в ходе выполнения работы.

А.А. Ананьевым, на основании собственных экспериментальных данных и анализа сведений, опубликованных в научной литературе, были сформулированы обоснованные **выводы**, которые адекватно отражают результаты проведенной работы, указывают на выполнение поставленной цели, задач и положений, выносимых на защиту.

Научная новизна работы заключается в том, что автор впервые, в ходе выполнения диссертационной работы выделил и идентифицировал эндофитные изоляты бактерий *Gordonia aichiensis* P6PL2, *Pseudomonas marginalis* RA62c-B2 и *Pantoea agglomerans* P7SCH-B5 из тканей амурского дикого винограда *V. amurensis*, произрастающего на Дальнем Востоке России, и определил их способность к повышению биодоступности элементов питания для растений и синтезу фитогормонов.

Практическая значимость работы заключается в том, что полученные автором результаты могут лечь в основу разработки биопрепаратов, для

укрепления фитоадаптивного потенциала сельскохозяйственных культур, что будет способствовать развитию высокопроизводительного и экологически безопасного производства сельскохозяйственной продукции.

Достоверность результатов исследования определяются научно-обоснованными методическими подходами и адекватностью применяемых методик целям и задачам исследования. Все эти требования в диссертационной работе соблюдены в полной мере, поэтому приведенные автором научные данные объективны и достоверны, а сделанные на их основе выводы вполне обоснованы.

Соответствие требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук:

Диссертация Ананьева А.А. на тему «Ассоциированные с *Vitis amurensis* Rupr. микроорганизмы, как стимуляторы роста растений», соответствует паспорту научной специальности 1.5.6. – Биотехнология (биологические науки), является завершённым научным исследованием. Автором в полной мере достигнута заявленная цель и решены поставленные для этого задачи. Автореферат полностью отражает содержание диссертации.

Замечания, вопросы и комментарии по содержанию и оформлению работы:

1. Автор в новизне работы отмечает, что впервые «из *V. amurensis* были выделены и проанализированы с использованием методов современной генетики и биохимии штаммы *Gordonia aichiensis* P6PL2, *Pseudomonas marginalis* RA62c-B2 и *Pantoea agglomerans* P7SCH-B5». Вместе с тем, хотел бы заметить, что автор использовал не генетические методы. Метод секвенирования геномов является прерогативой другого направления биологической науки – молекулярной биологии.

2. В методической части работы автор на стр. 40 описывает способ стерилизации семян арабидопсиса в «парах хлора, полученным путём добавления 3 мл концентрированной HCl к 100 мл 7 % отбеливателя Белизна». Возникает вопрос о первоисточнике такого способа стерилизации семян.

3. Автор не полностью раскрыл метод стерилизации семян арабидопсиса. Остается не понятным, как долго в парах хлора выдерживались семена. Чем этот метод стерилизации лучше классических методов, которыми пользуются физиологи растений, например, «с использованием этилового спирта и перекиси водорода» (стр. 44). Был ли контроль стерильности семян, учитывая многообразие эндофитного микробиома семян арабидопсиса?

4. Судя по тексту диссертации в отношении семян риса автор придерживался традиционной методики стерилизации. Возникает вопрос, а почему в случае стерилизации семян риса перед началом экспериментов их обрабатывали «с использованием этилового спирта и перекиси водорода» (стр. 44), а не применяли метод в «парах хлора»? Был ли контроль стерильности семян, учитывая многообразие эндофитного микробиома семян риса?

5. Автор работы указывает, что метод стерилизации семян риса расширенно описан в разделе 2.1. Однако, раздел 2.1 посвящен сбору и поверхностной стерилизации растительного материала (лозы винограда), выделению из этих образцов изолятов и ДНК для геномного анализа. Метода стерилизации семян риса в этом разделе нет. Соответственно, есть вопросы о времени стерилизации, концентрационном составе стерилизующих реагентов и контроле стерильности экспериментальных семян.

6. На стр. 37 диссертации автор отмечает, что в экспериментах использовались образцы тканей «4-х лиан, расположенные друг от друга на расстоянии более 1 км» из окрестностей г. Владивосток. Но в последствии, в работе нет упоминаний о различиях/сходствах микробиома этих «лиан» (лозы). Еще, автору в работе следовало бы указать GPS координаты точек отбора образцов.

7. Автор указывает, что 3 статьи по теме диссертации опубликованы в Журналах из перечня ВАК. Однако в перечне ВАК отмеченных журналов (Horticulturae, Life и Plants) нет. Они индексируются в базах данных WoS и Scopus, а также отмечены в «Белом списке» (Едином государственном перечне научных изданий (ЕГПНИ)).

8. К сожалению, автор диссертационной работы не указывает в разделе практической значимости полученный им научный результат, упрощающий анализ микроорганизмов на эндофитность на определенной культуре-реципиенте (например, арабидопсисе) с использованием метода оценки уровня специфических ампликонов ДНК (ASV).

9. Почему автором не определена эндофитность штаммов, выделенных из лозы винограда, предложенным методом оценки уровня ампликонов ASV, на растениях риса как дополнительной культуры не-хозяина и на растениях винограда, как культуры – хозяина?

Заключение

Диссертационная работа Ананьева А.А. это завершённый самостоятельный научный труд, который является цельным исследованием, выполненным на высоком методическом уровне, в котором была решена важная научная проблема. Следует отметить большой объем и трудоемкость проделанной работы. Основные результаты были получены впервые и не были известны ранее.

Материалы исследований представлены полно, они сгруппированы в таблицы, рисунки и графики и наглядно демонстрируют полученный фактический материал. Следует отметить, что четко сформулированные основные выводы диссертации хорошо обоснованы и полностью следуют из полученного материала. Научные положения, выводы и практические предложения, сформулированные в диссертации, обоснованы и вытекают из полученных результатов. Диссертация хорошо оформлена и написана ясным, грамотным языком, что делает прочтение достаточно сложного материала – интересным. Содержание автореферата соответствует основным положениям и выводам диссертации, отражает её в полном объёме.

Считаю, что диссертационная работа Ананьева А.А. на тему «Ассоциированные с *Vitis amurens* Rupr. микроорганизмы, как стимуляторы роста растений», по своей актуальности, новизне, теоретической и практической значимости, достоверности и обоснованности выводов, апробации основных положений соответствует требованиям пунктов 9-14 Положения «О порядке

присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 г. (в действующей редакции), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор, А.А. Ананьев заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по научной специальности 1.5.6. – Биотехнология (биологические науки).

Официальный оппонент, главный научный сотрудник, зав. лаб. биохимии иммунитета растений Института биохимии и генетики обособленного структурного подразделения Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра РАН, доктор биол. наук (03.01.05 – Физиология и биохимия растений), профессор.

02.09.2026 г.

 Максимов Игорь Владимирович

Институт биохимии и генетики обособленное структурное подразделение
ФБГНУ Уфимского федерального исследовательского центра (ИБГ УФИЦ РАН)

Адрес: 450054, г. Уфа, пр. Октября, 71, тел. 8(347)235-60-88, e-mail:
igor.mak2011@yandex.ru

Подпись д.б.н., проф. И.В. Максимова заверяю

Главный ученый секретарь УФИЦ РАН

 к.э.н. Р.Х. Фаттахова

Я, Максимов Игорь Владимирович, даю согласие на включение своих персональных данных в документы, связанные с защитой диссертации А.А. Ананьева, и их дальнейшую обработку.

Сведения об официальном оппоненте

Фамилия Имя Отечество	Максимов Игорь Владимирович
Гражданство	
Ученая степень, наименование отрасли науки, научных специальностей, по которым защищена диссертация	Доктор биологических наук, 03.01.05 – Физиология и биохимия растений
Ученое звание, специальность	Профессор, Физиология и биохимия растений
Академическое звание	-
Место работы	Федеральное государственное бюджетное научное учреждение Уфимский федеральный исследовательский центр Российской академии наук
Полное наименование организации (согласно уставу)	Федеральное государственное бюджетное научное учреждение Уфимский федеральный исследовательский центр Российской академии наук
Сокращенное наименование организации (согласно уставу)	УФИЦ РАН
Ведомственная принадлежность организации	Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
Тип организации	Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
Наименование структурного подразделения	Институт биохимии и генетики – обособленное структурное подразделение, Лаборатория биохимии иммунитета растений
Должность	Заведующий, главный научный сотрудник
Почтовый адрес организации	Адрес: 450054, г. Уфа, пр. Октября, 71.
Веб-сайт организации	http://ufaras.ru/
Адрес электронной почты	igor.mak2011@yandex.ru , maksimov@ufaras.ru
Номер рабочего телефона	8-(347)2356088
Список основных публикаций официального оппонента в соответствующей сфере исследования в рецензируемых научных изданиях за последние 5 лет (не более 10 публикаций):	
1. Веселова С. В., Сорокань А. В., Алексеев В. Ю., Максимов И. В. Влияние эндوفитных бактерий <i>Bacillus subtilis</i> на компоненты про-/антиоксидантной системы растений томатов (<i>Solanum lycopersicum</i> L.), инфицированных вирусами картофеля X и Y // Прикладная биохимия и микробиология. - 2025. - Т. 61. № 6. - С. 583-591. DOI: 10.7868/S3034574X25060051.	
2. Veselova S., Nuzhnaya T., Burkhanova G., Rumyantsev S., Maksimov I. Absciscic acid can play a dual role in the <i>Triticum aestivum</i> – <i>Stagonospora nodorum</i> pathosystem	

// Plants. - 2025. - V. 14. № 3. - Art. 355. DOI: 10.3390/plants14030355

3. Хайруллин Р.М., **Максимов И.В.** Участие оксалатов в физиологических процессах у растений: потенциальная роль эндофитных бактерий – оксалотрофов // Физиология растений. – 2024. – Т. 71, – № 6. – С. 649-665. DOI: 10.31857/S0015330324060011.
4. Nuzhnaya T.V., Sorokan A.V., Burkhanova G.F., **Maksimov I.V.**, Veselova S.V. The role of cytokinins and abscisic acid in the growth, development and virulence of the pathogenic fungus *Stagonospora nodorum* (Berk.) // Biomolecules. – 2024. – Vol. 14 (5). – P. 517. DOI: 10.3390/biom14050517.
5. Sorokan A.V., Gabdrakhmanova V.F., Mardanshin I.S., **Maksimov I.V.** Effect of endophytic bacteria *Bacillus subtilis* 26D and *Bacillus velezensis* M66 on resistance of potato plants to the causative agent of early blight *Alternaria solani* // Applied Biochemistry and Microbiology. – 2024. – Vol. 60. – № 6. – P. 1313-1320. DOI: 10.1134/S0003683824605080.
6. Veselova S., Nuzhnaya T., **Maksimov I.** The role of salicylic, jasmonic acid and ethylene in the development of the resistance/susceptibility of wheat to the SnTox1-producing isolate of the pathogenic fungus *Stagonospora nodorum* (Berk.) // Plants. – 2024. – Vol. 13. – № 18. – Art. 2546. DOI: 10.3390/plants13182546.
7. Сорокань А.В., Габдрахманова В.Ф., Марданшин И.С., **Максимов И.В.** Влияние эндофитных бактерий *Bacillus velezensis* M66 на транскрипционную активность генов системы РНК-интерференции при развитии защитных реакций против возбудителя фитофтороза *Phytophthora infestans* (Mont.) De Bary // Физиология растений. – 2024. – Т. 71, – № 4. – С. 409-417. DOI: 10.31857/S0015330324040039.
8. **Максимов И.В.**, Шеин М.Ю., Бурханова Г.Ф. РНК-интерференция в защите растений от грибной и оомицетной инфекции // Прикладная биохимия и микробиология. – 2023. – Т. 59, – № 3. – С. 219-234. DOI: 10.31857/S0555109923030133.
9. Maslennikova D., Ivanov S., Petrova S., Burkhanova G., **Maksimov I.**, Lastochkina O. Components of the phenylpropanoid pathway in the implementation of the protective effect of sodium nitroprusside on wheat under salinity // Plants. – 2023. – Vol. 12. – № 11. – P. 2123. DOI: 10.3390/plants12112123
10. **Maksimov I.V.**, Shein M.Yu., Burkhanova G.F. RNA interference in plant protection from fungal and oomycete infection // Applied Biochemistry and Microbiology. – 2022. – Vol. 58. – № S1. – Pp. S16-S31. DOI: 10.1134/S0003683822100106

22.07.2026

Дата

Подпись д.б.н., проф. И.В. Максимов
Главный ученый секретарь УФИ

Подпись

к.э.н. Р.Х. Фаттахова

