

## **ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА**

на диссертационную работу **Назаровой Янины Иордановны**

**«Оценка потенциальных рисков использования генетически модифицированных растений для почвенной микробной системы»**, представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.08 – Экология (биология)

Диссертационная работа Назаровой Янины Иордановны представляет собой комплексное исследование двух видов генетически модифицированных растений и ризосферных актиномицетов, которые автор рассматривает как возможные индикаторы изменений в окружающей среде под воздействием трансгенных растений.

### **Актуальность темы**

Современное развитие биотехнологий на основе генетической модификации организмов в растениеводстве позволяет получать новые формы и линии растений со многими заданными полезными свойствами. В частности, известны трансгенные формы культурных растений с повышенной устойчивостью к болезням и вредителям, гербицидам, сложным климатическим условиям, обладающие улучшенной пищевой и технологической ценностью, увеличенным сроком хранения продукции. При этом по мнению ряда специалистов, не исключены риски проявления побочных и нецелевых характеристик, которые могут повлиять на стабильность биотопов и устойчивое развитие экосистем в целом. Поиск информативных показателей для оценки подобных изменений в почве, где выращиваются генетически модифицированные растения, актуален. Решение этих вопросов рассматривается рядом нормативных документов как неотъемлемая составляющая комплексной оценки безопасности применяемых в растениеводстве генетических технологий. Поэтому тема представленной к защите диссертации Я.И. Назаровой несомненно актуальна.

## Структура и содержание работы

Диссертация построена по общепринятой форме, состоит из введения, обзора литературы, шести глав экспериментальной части, заключения, одного приложения, списка использованной литературы, включающего 225 источника, из них 162 – англоязычных. Большинство цитируемых работ выполнено в течение последнего десятилетия. Диссертация изложена на 157 страницах, содержит 18 таблиц и 36 рисунков.

В работе представлен добротный обзор литературы (на 38 страницах), что свидетельствует о знании диссертантом проблемы и степени ее разработки на экспериментальном уровне. Охарактеризована роль актиномицетов в почве и ризосфере растений, что убеждает в обоснованности выбора этой группы микроорганизмов как модельной для выяснения поставленных в диссертации вопросов. Подробно отражены различные положительные эффекты, сопровождающие экспрессии внедренных генов, обеспечивающих новые свойства культурным растениям (солеустойчивость, термотолерантность, повышение ферментативной активности, улучшение пищевых качествах продукции и др.). Проанализированы работы, в которых изучено воздействие трансгенных растений на почвенные бактериальные сообщества и сделан вывод, что эти изменения, если и отмечались, то не имели критических значений. В действительности, проведенный обзор литературы дает основание утверждать, что практическую опасность может представлять лишь горизонтальный перенос генов между организмами (horizontal gene transfer-HGT), поскольку это может привести, в частности, к повышению антибиотикорезистентности у микроорганизмов, или появлению высокоустойчивых к гербицидам сорных растений («супер-сорняков»).

Следует отметить, что в обзоре литературы многопланово рассматриваются проблемы и распространение генетически-модифицированных растений в разных странах мира. Масштабность обсуждаемой проблемы (а она касается изменений почвенных характеристик

под действием трансгенных растений) для нашей страны не очень ясна. В обзоре региональных проблем в этой сфере акцент сделан лишь на запрещающих постановлениях и прочих регулирующих актах, изданных для контроля генетически-модифицированной продукции зарубежных производителей в нашу страну. Тем не менее, автор ставит интересную научную экологическую задачу - выявить возможные изменения в ризосферных комплексах микроорганизмов. В качестве хорошо изученной модели разумно выбраны актиномицеты.

**Материалы и методы исследования.** Арсенал подходов и методик очень широк, что является несомненным достоинством работы. В экспериментах использованы как инструментальные методы: свето-оптическая микроскопия, спектрофотометрия, молекулярно-генетический анализ, так и различные культивационные подходы: микробиологический посев, культивирование растительной ткани, микро- и вегетационные эксперименты. Для уточнения таксономического положения выделенных культур выборочно проводили анализ фрагментов 16S рРНК в НПК «Синтол» и сопоставляли полученные результаты идентификации с данными генбанка NCBI. Конечно, хорошо бы было проанализировать состав микроорганизмов, используя метагеномный подход, а не только культивируемые формы, доля которых в почвенных сообществах невелика. Однако, автор посчитала достаточным заменить этот пока еще труднодоступный и дорогостоящий способ анализа структуры на оценку функционального разнообразия, что в итоге было оправдано найденными отличиями в актиномицетных сообществах трансгенных и исходных линий..

Отличия замерялись по индексу обилия (долевое участие в комплексе, %) и частоте встречаемости в комплексах стрептомицетов-антагонистов, целлюлозолитиков и продуцентов ауксиновых соединений с фиторегуляторной активностью.

При описании материалов и видов растений в этой главе упоминаются линии томата (*Solanum lycopersicum* L.) и табака

обыкновенного (*Nicotiana tabacum* L.), однако в работе использовались и растения картофеля (*Solanum tuberosum* L.), которые тоже следовало бы охарактеризовать в этом разделе, а также обосновать предпочтительность использования именно картофеля, а не растений томата, которые были выбраны для последующего анализа актиномицетов в их ризосфере.

Следовало бы также в этой части работы привести более детальное пояснение к способам исследования *in vitro* и *ex vitro*, относящихся в данном случае к анализу пробирочных растений картофеля и стрептомицетов (продолжительность стадий развития в том и ином варианте выращивания и др.). Далее при описании результатов приводятся данные опытов еще как бы в третьем варианте выращивания, называемом *in vivo* (табл.7).

**В главах, представляющих результаты,** отражены характеристики генетически модифицированных линий растений томата и табака, взятых в качестве модельных видов (глава 4) и комплексов актиномицетов, исследованных в их ризосфере (глава 5).

Начинается описание результатов с главы 3, которая посвящена изучению ассоциативного взаимодействия растений картофеля и стрептомицетов. Показана колонизирующая активность двух штаммов актиномицетов (*S. flavogriseus* ТК-5 и *S. anulatus* Т-2-20), выделенных соответственно из ризосферы табака и томата, по отношению к растениям картофеля, выращенным в пробирках на питательной среде. Автор подчеркивает их способность успешно заселять поверхность различных органов и проникать в ткани меристемных растений картофеля. Обсуждаются ассоциативные взаимодействия растений и микроорганизмов, при этом хотелось бы более четкого пояснения различий в понятиях «ассоциативное взаимодействие» и просто взаимодействие. Сами по себе эти фундаментальные результаты интересны и имеют определенную

теоретическую ценность, но необходимость их включения в данную работу для достижения поставленной цели мне представляется дискуссионной.

Глава 4. На нескольких линиях табака и томата проведена проверка функциональной активности гена *Fe-SOD1*, встроенного для усиления антиоксидантной защиты. Отмечены вариации активности СОД и морфометрических показателей на разных этапах развития растений томата, которые в целом, нельзя назвать существенными. Для растений табака проверку функциональной активности встроенного гена проводили модельных условиях стресса, обусловленного токсичностью алюминия в кислых почвах. Для отдельных линий трансгенных растений были найдены преимущества перед исходным сортом, которое заключалось в способности увеличивать количество пластидных пигментов (хлорофиллов и каротиноидов) именно в условиях стресса, что связывают с ростом активности супероксиддисмутазы.

Глава 5. Актиномицетные сообщества по отдельности проанализированы в ризосфере томата и табака. Результаты анализа структурных характеристик представлены в виде классических синэкологических данных, традиционно представляемых при исследовании разнообразия микроорганизмов. Приводятся сведения о численности, обилии, таксономической структуре ризосферных актиномицетов у контрольных (исходных) и трансгенных растений. Проведена большая экспериментальная работа, обследованы разные стадии развития растений. Вывод о том, что значимых изменений в анализируемых параметрах и индексах нет, статистически обоснован. Доказано, что структурные перестройки, наблюдаемые в ризосфере трансгенных растений, не перекрывают обычно встречающихся микроорганизмов прилического пространства.

Глава 6. Значимым вкладом в достижение поставленной в работе цели оказались данные по анализу изменчивости функциональных особенностей актиномицетных комплексов в ризосфере растений табака и томата, трансформированных гетерологичной вставкой (*FeSOD1*). Установлено, что частота встречаемости видов стрептомицетов -антагонистов фитопатогенным грибам (родов *Trichoderma*, *Alternaria*, *Fusarium* и бактериям *Arthrobacter*, *Erwinia*, *Pseudomonas*) целлюлозолитиков – это наиболее заметные и наиболее информативные показатели, отражающие присутствие корней трансгенных растений.

Следует согласиться с автором, констатирующим, что выявленные перестройки в функциональной структуре актиномицетных комплексов растений-трансформантов могут сопровождаться нарушением таких процессов, как биодеструкция в почве целлюлозных остатков, биологический контроль фитопатогенов и фитогормональная регуляция роста и продуктивности растений. И все это затрагивает комплекс экологических функций почв, от которого зависит устойчивое функционирование агроценозов.

**Новизна работы.** Полученные результаты расширяют ранее имевшиеся представления о влиянии трансгенных растений на жизнедеятельность микроорганизмов, в частности актиномицетов, в микролокусах ризосферы и ризопланы. Таким образом, определенным образом привлекают внимание и восполняют пробел в информации об экологических последствиях распространения генно-инженерных продуктов.

#### **Практическая значимость работы**

Результаты работы полезны для внедрения биотехнологических приемов и поиска новых эффективных средств для повышения адаптивности, стимуляции роста и защиты культурных растений. Они способствуют выявлению причин нарушения нормального функционирования микробно-растительных ассоциаций при трансформации в результате инженерно-

генного вмешательства, как нового фактора антропогенного воздействия на почвенные экосистемы.

Выделенные в ходе работы ризосферные штаммы стрептомицетов с антагонистической и целлюлазной активностью, продуцирующие ауксины представляют интерес для оценки и последующего использования их биотехнологического потенциала.

Новые знания о количественном и качественном составе ризосферных сообществ можно рекомендовать для учебных курсов экологических специальностей.

**Личный вклад автора.** Судя по опубликованным работам и апробации в докладах, все результаты получены при личном участии автора, обработаны самостоятельно. Ключевые результаты исследований апробированы в докладах на международных, всероссийских и региональных конференциях.

**Обоснованность и достоверность** научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации, определяется достаточно большим количеством фактического материала, полученного на основе экспериментальных исследований, проведенных соискателем лично, их статистической обработкой.

По материалам диссертации опубликовано 5 статей в журналах, рекомендованных ВАК, из них 4 статьи – в журналах, соответствующих научной специальности 03.02.08 – Экология (биология), по которой представлена к защите диссертационная работа.

**Вопросы и замечания.** При общем благоприятном впечатлении от этого обширного исследования необходимо запросить пояснения к некоторым моментам диссертации и сделать замечания рекомендательного характера, которые возможно будут приняты во внимание в будущих исследованиях в этом направлении.

- 1) Можно ли считать, что трансгенные растения могут служить более мощным триггером изменений в сообществах почвенных микроорганизмов, чем новые линии и сорта культурных растений, полученные традиционными методами селекции? На чем основаны распространенные представления о большей опасности выращиваемых трансгенных растений, чем новых сортов, полученных иными способами? Известны ли примеры и достоверные доказательства того, что дестабилизации экологических функций почв и нарушений от генно-инженерных технологий имеет большую экологическую значимость для изменений микробного населения почв, чем инвазивные виды или новые сорта?
- 2) Требуются пояснения к некоторым понятиям и терминам, которые следовало бы дать по ходу описания, в частности,
- неясно из текста, в чем суть отличий методов наблюдения за растениями в вариантах *in vitro*, *ex vitro* и *in vitro*?
  - каковы отличия «ассоциативного взаимодействия» и просто взаимодействия ризосферных актиномицетов с растениями?

Указанные замечания не умаляют научной значимости выполненного многопланового диссертационного исследования. Выводы соответствуют поставленным задачам. Автореферат полностью отражает содержание диссертации. Результаты работы широко обсуждались в публикациях и докладах на различных научных форумах, включая международные..

Диссертационная работа Назаровой Я.И. «Оценка потенциальных рисков использования генетически модифицированных растений для почвенной микробной системы» полностью соответствует требованиям п. 9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» постановления Правительства РФ от 24 сентября 2013 года № 842, предъявляемым к



кандидатским диссертациям, а ее автор – Назарова Янина Иордановна – заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.08 – Экология (биология).

Официальный оппонент:



доктор биологических наук Терехова Вера Александровна,  
профессор кафедры земельных ресурсов и оценки почв факультета почвоведения ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, доцент по специальности экология

.....18.11.2019

Контактные данные:

тел.: +7 (903) 260 44 69, e-mail: [vterekhova@gmail.com](mailto:vterekhova@gmail.com)

Специальности, по которой официальным оппонентом

защищена диссертация:

03.00.16 – экология (в настоящее время шифр 03.02.08 – экология); 03.00.24 – микология

Адрес места работы:

119234 Москва, Ленинские горы, д.1, стр.12

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, факультет почвоведения

Тел.: +7 (495) 9392947, e-mail: [soil.msu@mail.ru](mailto:soil.msu@mail.ru)

Подпись В.А. Тереховой удостоверяю

Декан факультета  
почвоведения МГУ



|Шоба С.А|