

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу Сасіної Тетяни Сергіївни "Біологічна модифікація мінеральних добрив як засіб підвищення їх ефективності при вирощуванні картоплі", подану на здобуття ступеня доктора філософії за спеціальністю 201 – Агрономія у галузі знань 20 – Аграрні науки та продовольство

Актуальність теми дисертації.

У сучасних технологіях вирощування сільськогосподарських культур мінеральні добрива займають одне із провідних місць. Необхідність пошуку шляхів підвищення їх ефективності обумовлена значними фінансовими витратами, недостатньо високими коефіцієнтами засвоєння рослинами поживних речовин через втрати та зменшення доступності без належних способів та строків їх внесення. Перспективними в цьому напрямі є технології оптимізації агрохімічних, фізичних та біологічних властивостей мінеральних добрив. У цьому аспекті актуальним є стартові умови розвитку груп мікроорганізмів. Контамінація добрив бактеріями може відігравати позитивну роль.

Відомо, що застосування мікробних препаратів за вирощування сільськогосподарських культур на певних агрофонах дає можливість зменшувати норми добрив та забезпечити сталу їх продуктивність. Проте недоліком застосування мікробних препаратів є додаткова технологічна процедура у вигляді передпосівної інокуляції насіння, яка суттєво стримує впровадження біопрепаратів у практику сільськогосподарського виробництва. Особливо актуальним це є для картоплі, висока маса насіннєвих бульб на одиницю площі, їх діаметр, що ускладнюють використання біопрепаратів перед висаджуванням бульб у ґрунт в передвисадковий період та потребують спеціальної техніки.

Нині у науковій літературі з'являються поодинокі публікації, автори яких повідомляють про можливість оброблення гранул добрив агрономічно цінними мікроорганізмами. Виготовлення таких біологічно модифікованих

ліофілізованих форм безпосередньо на гранули добрив.

Однак даний напрям досліджень висвітлений недостатньо, він започаткований недавно. У зв'язку з цим тема дисертаційних досліджень Сасіної Т. С. є актуальною і своєчасною.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.

Дисертаційну роботу виконано в лабораторії ґрунтової мікробіології Інституту сільськогосподарської мікробіології та агропромислового виробництва НААН в межах завдань 08.00.01.01.Ф «Дослідження особливостей перебігу біологічних процесів трансформації органічної речовини та сполук азоту в ґрунті за моделювання різних рівнів вуглецево-азотного співвідношення» та 08.00.01.06 Пк «Біологічна модифікація мінеральних добрив як засіб підвищення їх ефективності» у межах ПНД 08 "Оптимізація біологічних процесів в агроєкосистемах для забезпечення ефективного, екологічно збалансованого аграрного виробництва" ("Сільськогосподарська мікробіологія").

Наукова новизна отриманих результатів.

Представлені в дисертаційній роботі результати доповнюють знання про вплив мікроорганізмів на ріст і розвиток рослин та продукційний процес картоплі.

Вперше показано, що гранули мінеральних добрив контаміновані бактеріями. При цьому чисельність бактеріальних клітин не залежить від виду мінеральних добрив (азотні, фосфорні, калійні, комплексні) та сягає десятків тисяч/г добрив. Серед бактеріальних угруповань поверхні добрив домінують представники *Bacillus amyloliquefaciens*. Також на поверхні гранул виявлено *B. amyloliquefaciens* subsp. *plantarum*, *B. cereus* та *Micrococcus* sp. Мікроміцетів на поверхні гранул мінеральних добрив не виявлено.

Автором ізольовано з поверхні гранул добрив бактеріальні штами та досліджено їх властивості. Виявлено що вони володіють целюлозолітичною, рістстимулюючою, фосфатсолюбілізівною та антифунгальною

бактеріальні штами, які проявляють значні агрономічно цінні властивості.

Досліджено терміни збереження бактеріальних клітин на гранулах мінеральних добрив та встановлено, що протягом тривалого зберігання їх чисельність залишається на достатньо високому рівні.

Автором доведено, що застосування біологічно модифікованої азофоски при вирощуванні картоплі позитивно впливає на продукційний процес культури та сприяє суттєвому зростанню врожайності, а також покращенню якості продукції (зокрема збільшенню вмісту крохмалю та зниженню вмісту нітратів в бульбах картоплі).

Розкрито механізм позитивного впливу мікроорганізмів на ріст і розвиток рослин картоплі, формування урожайності культури.

Практичне значення отриманих результатів.

Результати дисертаційного дослідження Сасіної Т. С. можуть бути використані при створенні технологій отримання біологічно модифікованих добрив на відповідних заводах або в агрохолдингах. У господарствах, що спеціалізуються на вирощуванні картоплі, вже сьогодні цілком можливе використання біологічно модифікованих добрив.

Апробація результатів дослідження.

Результати дисертаційної роботи оприлюднено на міжнародних і всеукраїнських науково-практичних конференціях та інших зібраннях науковців.

Повнота викладення матеріалів дисертації в опублікованих наукових працях.

Основні результати наукових досліджень за дисертацією опубліковано у 10 наукових працях: 4 статті в наукових фахових виданнях України та 6 тез доповідей у збірниках праць науково-практичних конференцій.

Структура, обсяг дисертації, стиль викладення.

Дисертаційна робота складається з анотації, переліку умовних позначень, вступу, 8 розділів, висновків і додатків. Список використаних

і 51 таблицю. Дисертаційну роботу викладено на 229 сторінках комп'ютерного тексту (з них 158 сторінок основного тексту).

Наукові результати, отримані у дисертаційній роботі (окремо по розділах).

У розділі 1 «Огляд літератури» наведено огляд вітчизняних та зарубіжних праць, присвячених використанню мінеральних добрив у сільському господарстві та шляхів підвищення ефективності їх застосування. Розділ складається з чотирьох підрозділів.

Дисертанткою проведено огляд джерел наукової літератури та проаналізовано вплив мінеральних добрив на забезпечення сільськогосподарських культур поживними речовинами. Детально розглянуті існуючі способи підвищення ефективності туків, зокрема – комплексне застосування NPK, використання стимуляторів росту рослин, вирощування сидеральних культур, дотримання сівозмін та ін. У окремому підрозділі висвітлено роль мікроорганізмів у забезпеченні зростання коефіцієнтів засвоєння рослинами діючої речовини з добрив. Детально проаналізовано публікації, присвячені особливостям і перспективам поєднання мінеральних добрив з агрономічно цінними мікроорганізмами. Варто зазначити, що такі публікації поодинокі та суперечливі, але при цьому заслуговують на увагу.

На основі аналізу наукової літератури обґрунтовано актуальність та необхідність проведення досліджень.

Розділ 2 «Матеріали та методи досліджень» присвячений методичним аспектам проведення досліджень. Описано методи визначення чисельності мікроорганізмів (шляхом висіву водних розведень змивів з поверхні мінеральних добрив та суспензій ризосферного ґрунту рослин картоплі на поживні середовища); методи визначення ферментативної активності мікроорганізмів; фізіолого-біохімічні методи для їх ідентифікації; інструментальні (метод MALDI-TOF для уточнення таксономічного положення бактерій; газохроматографічний метод для визначення активності

азотфіксації, мікроскопічні, спектрофотометричні); фізіологічні для визначення стану рослин; вагові; вегетаційного, польового і виробничого дослідів; статистичні.

Розділ 3 «Ефективність азофоски, збагаченої колекційними штамми мікроорганізмів» присвячений дослідженню ефективності азофоски (N-16 P-16 K-16), збагаченої агрономічно корисними мікроорганізмами, а саме колекційними штамми – *Trichoderma harzianum* PD3, *Bacillus* sp. B-22, *B. vallismortis* 44, *B. cereus* CB1. Дослідження виконано у польовому дрібно ділянковому досліді при вирощуванні картоплі на дерново-підзолистому ґрунті. Результати показують перспективність використання для модифікації добрива триходерми та бактеріального штаму *Bacillus* sp. B-22, який раніше був ізольований з поверхні гранул азофоски. Проте при дослідженні виживаності мікроорганізмів на гранулах добрива *T. harzianum* PD3 не виявлено вже через 7 днів зберігання добрива, що свідчить про позитивний вплив фізіологічно активних речовин культуральної рідини мікроміцета. При цьому збереженість *Bacillus* sp. B-22 на гранулах мінерального добрива була високою, що наптовхнуло на пошук перспективних штамів серед угруповань мікробіоти на гранулах мінеральних добрив. На думку автора ці мікроорганізми можуть бути краще адаптованими до умов агресивного хімічного середовища.

Розділ 4 «Мікроорганізми на гранулах мінеральних добрив» присвячений дослідженню ступеню контамінації мікроорганізмами гранул різних видів мінеральних добрив. Дисертанткою встановлено, що поверхня гранул добрив контамінована бактеріями (більшість із яких відносяться до одного морфотипу), при цьому не виявлено мікроміцетів. Для подальших досліджень з поверхні гранул різних видів мінеральних добрив автором виділено 112 ізолятів бактерій. При визначенні їх таксономічної приналежності встановлено, що ізоляти відносяться до видів *Bacillus amyloliquefaciens*, *B. amyloliquefaciens* subsp. *plantarum*, *Micrococcus* sp., *B. cereus*. Представники *B. amyloliquefaciens* домінують серед виділених ізолятів.

мікроорганізмів за впливу хімічного чинника добрив у літературі не зустрічалась. Розділ 4 достатньо інформативний та цікавий.

Розділ 5 «Дослідження фізіологічних властивостей ізолятів, виділених з поверхні гранул мінеральних добрив» присвячений визначенню властивостей отриманих ізолятів. Автором досліджено такі властивості ізолятів: азотфіксувальні, рістстимуляторні, фосфатсолюбілізівні та антифунгальні. Серед досліджених бактерій не виявлено азотфіксаторів, близько 80 % ізолятів мали целюлозоруйнівні властивості, фосфатсолюбілізівну активність виявлено у 25 % ізолятів, рістстимуляторною активністю володіли 20 % бактеріальних культур. Виходячи з результатів досліджень було відібрано три активні бактеріальні штами для використання у подальших дослідженнях, а саме – *B. amyloliquefaciens* B-22, *B. cereus* 3/7 та *B. amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* 5/13. Також встановлено, що досліджувані штами бактерій проявляють фунгістатичну дію до низки фітопатогенних мікроміцетів в лабораторних дослідженнях *in vitro*.

Важливим дослідженням було визначення збереженості бактерій на гранулах азофоски, проведене за умов модельного лабораторного досліду. За результатами досліджень доведено, що для збагачення добрива і тривалого зберігання (протягом 180 діб) бактерій на гранулах азофоски достатнім є вихідне їх забезпечення бактеріальними клітинами у кількості не менше 200 тис/г добрива.

Розділ 6 «Ефективність біологічно збагаченої азофоски в технології вирощування картоплі» присвячений визначенню впливу експериментальних варіантів біологічно модифікованої азофоски на синтезуючі процеси рослин картоплі. У розділі описано дослідження у польових дрібно ділянкових дослідах за використання бактерій, які були відібрані у ході досліджень, описаних у попередньому розділі.

За використання експериментальних варіантів біологічно модифікованої азофоски в ризосферному ґрунті рослин картоплі зросла чисельність

амоніфікувальних мікроорганізмів. Важливим показником, який свідчить про підсилення мінералізаційних процесів, є коефіцієнт мінералізації-імобілізації азоту. Розрахунки свідчать про зростання цього показника у дослідних варіантах. Крім того у варіантах зі збагаченням відмічено зростання чисельності азотфіксувальних бактерій та мікроорганізмів, що розчиняють мінеральні сполуки фосфору. У варіантах з використанням біологічно модифікованих добрив встановлено зменшення вмісту рухомого P_2O_5 у ризосферному ґрунті картоплі, що опосередковано свідчить про інтенсивніше засвоєння фосфору рослинами.

Встановлено, що застосування біологічно модифікованої азофоски позитивно впливає на ріст і розвиток рослин картоплі, окремі фізіологічні показники, а саме вміст хлорофілу *b* в листках, площу листкового апарату, питому поверхневу щільність листків, масу кореневої системи та площу адсорбційної поверхні кореня.

У польовому дрібно ділянковому досліді приріст урожайності культури відмічено у найбільшій мірі для варіантів зі збагаченням азофоски *B. cereus* 3/7 і *B. amyloliquefaciens* B-22. Також досліджено позитивний вплив збагачення азофоски на якість продукції, а саме збільшення вмісту крохмалю та зменшення вмісту нітратів. Результати польових випробувань підтверджено виробничою перевіркою. За виробничих умов приріст урожайності картоплі при використанні азофоски, збагаченої *B. amyloliquefaciens* B-22, становив 17,5 %.

У розділі 7 «Економічна та енергетична ефективність застосування збагаченої мікроорганізмами азофоски в технологіях вирощування картоплі» наведено результати розрахунків економічної та енергетичної ефективності застосування біологічно модифікованого добрива. Показник економічної ефективності має найвищі результати у варіанті із застосуванням азофоски, збагаченої *B. cereus* 3/7 – рівень доходу підвищився на 31052 грн./га (на 71,4 %), а рентабельність виробництва – на 38,7 в.п. Також високою

економічною ефективністю характеризувався варіант із застосуванням добрива, модифікованого за участі *B. amyloliquefaciens* B-22 (окупність витрат при цьому склала 9,50 грн/грн). Показники енергетичної ефективності також свідчать про позитивну дію біологічно модифікованої азофоски в польових умовах.

Розділ 8 «Узагальнення отриманих результатів» присвячений аналізу і узагальненню отриманих результатів. Наведено дані кореляційного аналізу між показниками урожайності картоплі та окремими властивостями досліджуваних бактерій. Дані свідчать про вплив рістстимуляторної та фосфатсолюбілізівної активності штамів на продуктивність культури. Авторкою розкрито механізми позитивного впливу біологічно модифікованої азофоски, які відрізняються залежно від використаного для збагачення бактеріального штаму.

Дискусійні положення та зауваження до змісту та оформлення дисертації.

У процесі ознайомлення з дисертацією у порядку дискусії до авторки виникли деякі зауваження і запитання.

1. У розділі 3 описані результати досліджень зі збагаченою азофоскою колекційними штамами мікроорганізмів. Проте більш детально ці штами не описані (звідки і коли були виділені, їх властивості, як і ким досліджувались раніше).

2. У дисертаційній роботі використовується термін «формування врожайності». Слід зазначити що формується не урожайність, а врожай як частина рослин. Урожайність є лише математичним вираженням інтенсивності цього процесу (т/га, кг/га і т.д.).

3. Урожайність є підсумовуючим результатом впливу всіх факторів на умови росту і розвитку рослин. Тому доцільно було б інформацію про урожайність сорту Беллароза розмістити не в розділі 3, а в розділі 6. Окрім

середню урожайність за роки досліджень.

4. У розділі 4 описані певні результати досліджень, подібність до яких у науковій літературі не зустрічаються. Вважаю, що цей розділ можна було б розширити, додавши більш детальний опис потенційних джерел контамінації мінеральних добрив бактеріями. Доцільно було б вказати виробників кожного добрива та умови їх зберігання. Крім того важливим є не лише наявність тих чи інших бактерій, а й інтенсивність і тривалість їх розвитку (для подальших досліджень).

5. У розділі 5 представлено результати перевірки патогенності штамів *B. amyloliquefaciens* B-22 та *B. cereus* 3/7, які також наводяться у додатках Б та В, тому детальний опис можна було б не робити (або не наводити додатки). У цьому розділі деяка інформація має методичний характер, тому її доцільно розміщувати в розділі 2.

6. На рис. 5.5 «Антагоністична активність бактерій до фітопатогенних мікроміцетів» наведено фотографії чашок Петрі за дослідження антагоністичної активності штамів щодо фітопатогенних мікроміцетів. Фотографії якісні та зрозумілі, але можна було б додати позначки зон росту бактерії та мікроміцета. З наведених результатів не зрозуміло який вплив на титр бактерій, що досліджувались здійснюють аналогічні штами аборигенів.

7. У розділі 6 доцільно було б навести фракційний склад врожаю картоплі. Це б значно спростило аналіз і розуміння процесів впливу на рослини картоплі модифікованих добрив.

8. Доцільно було б окремі таблиці замінити на діаграми для кращого сприйняття результатів досліджень.

Вищезазначені зауваження не мають принципового характеру, не стосуються основної концепції дисертаційного дослідження, не змінюють позитивного враження і не впливають на його загальну позитивну оцінку.

Дотримання принципів академічної доброчесності.

плагіату. Результати наукових досліджень отримано аспіранткою особисто, оприлюднено у наукових працях. У тексті дисертації виявлено окремі співпадіння з власними публікаціями, термінологією та загальноновживаними фразами.

Відповідність дисертації спеціальності та галузі знань.

Дисертаційна робота Сасіної Тетяни Сергіївни відповідає спеціальності 201 – Агрономія (галузь знань 20 – Аграрні науки та продовольство).

Пошук шляхів підвищення ефективності мінеральних добрив має важливе значення для розвитку сільськогосподарського виробництва. Виділені та досліджені авторкою штами агрономічно корисних бактерій можуть використовуватись в аграрних технологіях для виробництва біологічно модифікованих мінеральних добрив.

Загальний висновок щодо відповідності дисертаційної роботи нормативним вимогам та рекомендації щодо атестації здобувача.

Дисертаційна робота Сасіної Тетяни Сергіївни на тему: «Біологічна модифікація мінеральних добрив як засіб підвищення їх ефективності при вирощуванні картоплі» є самостійним, завершеним науковим дослідженням, що містить нові науково-обґрунтовані результати щодо впливу мікроорганізмів на ріст і розвиток рослин та продукційний процес картоплі.

Науковий рівень дисертаційної роботи, наукових публікацій свідчить про високий рівень здобувачки, а набуті нею теоретичні знання, уміння, навички та інші компетентності - достатні для розв'язання комплексних проблем у галузі знань 20 – Аграрні науки та продовольство. Дисертаційна робота Сасіної Тетяни Сергіївни повністю відповідає вимогам Порядку підготовки здобувачів вищої освіти ступеня доктора філософії та доктора наук у закладах вищої освіти (наукових установах), який затверджено постановою КМУ від 23.03.2016 № 261 (зі змінами), наказу МОН України від 12.01.2017 № 40 (зі змінами) та Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти,

наукової установи про присудження ступеня доктора філософії, який затверджено постановою КМУ від 12.01.2022 № 44 (зі змінами), а її авторка – Сасіна Тетяна Сергіївна заслуговує присудження ступеня доктора філософії за спеціальністю 201 – Агрономія (галузь знань 20 – Аграрні науки та продовольство).

Офіційний опонент:
професор кафедри агрохімії та якості
продукції рослинництва
ім. О. І. Душечкіна Національного
університету біоресурсів і
природокористування України, доктор
сільськогосподарських наук, професор,
академік НААН



Анатолій БИКІН

