

«УТВЕРЖДАЮ»

Ректор учреждения образования
«Белорусский государственный
технологический университет»
Д.Т.Н. профессор

И.В. Войтов

« 15 » апреля 2023 г.



ОТЗЫВ ОППОНИРУЮЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

УО «Белорусский государственный технологический университет» на
диссертационную работу Шмыги Екатерины Юрьевны
«Биотехнологические основы создания комплексного микробного препарата
для улучшения фитосанитарного состояния посевов и повышения
продуктивности зерновых культур»,
представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук
по специальности 03.01.06 — биотехнология (в том числе бионанотехнологии)

**Соответствие содержания диссертации заявленной специальности и
отрасли науки со ссылкой на область исследования паспорта
соответствующей специальности, утвержденного ВАК**

Тема диссертационной работы соответствует приоритетным
направлениям научной, научно-технической и инновационной деятельности
на 2021–2025 годы, утвержденным Указом Президента Республики Беларусь
от 07.05.2020 № 156 п. 2. «Биологические, медицинские, фармацевтические и
химические технологии производства: биотехнологии (геномные и
постгеномные, клеточные, микробные, медицинские, промышленные)» и п. 5.
«Агропромышленные и продовольственные технологии: продовольственная
безопасность и качество сельскохозяйственной продукции».

Цель работы – выделение, отбор и характеристика штаммов
спорообразующих бактерий с комплексом агрономически ценных свойств и
разработка на их основе технологии получения препарата микробного
«Биопродуктин» для контроля возбудителей болезней и повышения
продуктивности зерновых культур.

Объектом исследования являются высокоактивные штаммы
спорообразующих бактерий с комплексом агрономически ценных свойств.

Предмет исследования – морфолого-культуральные, физиолого-
биохимические и молекулярно-генетические свойства штаммов бактерий –
основы препарата микробного «Биопродуктин».

Диссертационная работа является законченным квалификационным
исследованием. Полученные результаты имеют как теоретическое, так и
прикладное значение. Среди наиболее значимых результатов работы, в
области биотехнологии, можно назвать следующие:

– выделение и отбор высокоактивных штаммов спорообразующих

бактерий с антагонистической, целлюлолитической, азотфиксирующей и фосфатмобилизующей активностями;

- изучение их морфолого-культуральных, физиолого-биохимических, молекулярно-генетических свойств;

- разработка технологии получения препарата микробного «Биопродуктин» в жидкой форме на основе отобранных штаммов бактерий и оптимизация условий его хранения;

- проведение испытаний эффективности фитозащитного и ростстимулирующего действия препарата в лабораторных и модельных опытах.

Важным результатом диссертационного исследования является разработка и внедрение технологии применения препарата микробного «Биопродуктин» для контроля возбудителей болезней и повышения продуктивности зерновых культур.

Таким образом, можно констатировать, что цель, объект и предмет исследования, структура работы, а также представленные к защите и обсуждению результаты, соответствуют биологической отрасли науки и паспорту специальности 03.01.06 — биотехнология (в том числе бионанотехнологии) (пункты «Технологические режимы выращивания микроорганизмов-продуцентов, культур клеток растений и животных для получения биомассы и ее компонентов, направленного биосинтеза биологически активных соединений и других продуктов метаболизма, их состава, создание эффективных композиций биопрепаратов и разработка способов их применения», «Процессы и аппараты для микробного синтеза. Физико-химическая кинетика, гидродинамика, массо- и теплообмен в аппаратах для ферментации, сгущение биомассы, разделение клеточных суспензий, сушка, грануляция, экстракция, выделение, фракционирование, очистка, контроль и хранение конечных целевых продуктов. Оптимизация и масштабирование процессов микробного синтеза»), по которой она представлена в Совет по защите диссертаций Д 01.34.01 при государственном научном учреждении «Институт микробиологии Национальной академии наук Беларуси».

Научный вклад соискателя в решение научной задачи с оценкой его значимости

Одной из важных задач предприятий сельского хозяйства республики Беларусь является совершенствование технологий выращивания сельскохозяйственных культур, внедрение новых агротехнических приемов и биопрепаратов, обеспечивающих устойчивость к заболеваниям, стрессовым факторам окружающей среды и придающих продуктам питания более высокое качество. Зерновые культуры занимают основное место в структуре посевных площадей Республики Беларусь (порядка 45 %) и вносят огромный вклад в обеспечении продовольственной безопасности нашей страны, являясь главным источником производства кормов для сельскохозяйственных животных, а также ценным сырьем для разных отраслей промышленности:

производства хлебных, макаронных изделий, круп, муки, спирта, крахмала, патоки.

Среднемировой уровень потерь урожая сельскохозяйственных культур вследствие поражения посевов фитопатогенными микроорганизмами оценивается в 12–28%. Пораженность зерновых культур болезнями в отдельные годы может достигать 44%, а потери урожая – 30–50%. Возбудители болезней сельскохозяйственных растений являются причиной и послеуборочных потерь во время хранения, которые достигают 10–50% и выше. В условиях Беларуси особый ущерб злаковым наносят корневые гнили. Болезнь вызывает гибель всходов, отставание в росте, щуплость колоса у пораженных растений или полное отмирание продуктивных стеблей. Химический метод защиты растений пока продолжает занимать ведущее место, особенно в системах интенсивных технологий возделывания зерновых культур. Однако длительное применение пестицидов отрицательно влияет на экологическую ситуацию из-за их способности накапливаться в почве и растениях.

Учитывая вышесказанное, разработка технологии получения полифункционального микробного препарата на основе консорциума бактерий, способных ускорять разложение растительных остатков в почве, улучшать фитосанитарное состояние посевов, повышать биологическую активность почв и урожайность зерновых культур, несомненно имеют как научную, так и практическую значимость.

В рамках диссертационного исследования автором проделана масштабная и логически последовательная работа. Выделены, отобраны, изучены, идентифицированы и депонированы в Белорусской коллекции непатогенных микроорганизмов штаммы бактерий *Bacillus amyloliquefaciens* БИМ В-1267 Д, *B. mojavensis* БИМ В-1268 Д, *B. amyloliquefaciens* БИМ В-1270 Д и *Priestia megaterium* БИМ В-1269 Д, обладающие взаимодополняющими свойствами, на их основе создан препарат микробный «Биопродуктин» с комплексной (антимикробной, азотфиксирующей, целлюлолитической и фосфатмобилизующей) активностью. Установлен высокий фитозащитный потенциал исследуемых бактерий, который подтвержден наличием в их геномах генов, ответственных за синтез биологически активных соединений с антимикробным действием (*baeB*, *dhbACE*, *bmyD*, *dfnA*, *fenA*, *mfnA*, *srfAA*, *ituABD*). Оптимальные условия роста и накопления целевых метаболитов бактериями *B. amyloliquefaciens* БИМ В-1267 Д, *B. mojavensis* БИМ В-1268 Д, *P. megaterium* БИМ В-1269 Д и *B. amyloliquefaciens* БИМ В-1270 Д достигаются при внесении в состав питательной среды смеси микроэлементов $MnCl_2 \times 4H_2O$ и $ZnSO_4 \times 7H_2O$ в концентрации 0,2 мг/л, норме посевного материала – 2,0 об.%, интенсивности аэрации – 1,0 л воздуха/л среды·мин и скорости вращения мешалки – 120 об./мин. Разработаны лабораторная и опытно-промышленная технологии получения препарата микробного «Биопродуктин».

Отмеченные результаты составили значимый научный вклад Шмыга Е.Ю. в разработку научно-обоснованной и экологически безопасной технологии получения препарата микробного «Биопродуктин» для контроля

возбудителей болезней и повышения продуктивности зерновых культур, обеспечивающей высокий титр и фитозащитные свойства препарата, применение которого позволяет снизить распространенность и развитие корневых гнилей на 21,6–56,0%, а также повысить урожайность тритикале озимой на 4,6–6,1 ц/га.

Сформулированные в диссертации заключительные выводы логично вытекают из результатов экспериментальных исследований, выполненных в соответствии с обоснованными методическими подходами. Обращает на себя внимание хорошая методологическая база исследования, сочетающая методы разных дисциплин, что свидетельствует о разносторонней подготовке исполнителя.

Конкретные научные результаты (с указанием их новизны и практической значимости), за которые соискателю может быть присуждена искомая ученая степень

Научная новизна диссертационного исследования заключается в:

- создании уникального бактериального консорциума с комплексной (антимикробной, азотфиксирующей, целлюлолитической и фосфатмобилизующей) активностью (штаммы *Bacillus amyloliquefaciens* БИМ В-1267 Д, *Bacillus mojavenensis* БИМ В-1268 Д, *Bacillus amyloliquefaciens* БИМ В-1270 Д и *Priestia megaterium* БИМ В-1269 Д) и научно аргументированной перспективности его использования в качестве основы микробного препарата «Биопродуктин» для улучшения фитосанитарного состояния посевов и повышения продуктивности зерновых культур;

- подтверждении высокого фитозащитного потенциала бактерий *B. amyloliquefaciens* БИМ В-1267 Д, *B. mojavenensis* БИМ В-1268 Д и *B. amyloliquefaciens* БИМ В-1270 Д путем наличия в их геномах генов, ответственных за синтез биологически активных соединений с антимикробным действием (*baeB* (бациллин), *dhbACE* (бациллибактин), *bmyD* (бацилломицин), *dfnA* (диффицидин), *fenA* (фенгицин), *mlnA* (макролактин), *srfAA* (сурфактин), *ituABD* (итурин));

- доказательстве, что максимальные показатели титра и биологической активности бактерий, основы препарата микробного «Биопродуктин», достигаются при их выращивании в опытно-промышленном ферментере BIOFLO 5000 120L на модифицированной питательной среде Мейнелла с добавлением микроэлементов $MnCl_2 \times 4H_2O$ и $ZnSO_4 \times 7H_2O$ в концентрации 0,2 мг/л при норме внесения посевного материала – 2,0 об.%, интенсивности аэрации – 1,0 л воздуха/л среды·мин и скорости перемешивания – 120 об./мин;

- разработке технологии, обеспечивающей получение отечественного микробного препарата «Биопродуктин» комплексного действия с биологической эффективностью в отношении корневых гнилей озимой тритикале (21,6–56,0%), не уступающего известным отечественным и мировым аналогам «Бактавен», «Алирин-Б», «Гамаир», а также обладающего способностью ускорять процессы минерализации растительных остатков, фиксировать атмосферный азот и растворять труднорастворимые фосфаты,

переводя их в доступную для растений форму.

Практическая значимость работы состоит в разработке опытно-промышленной технологии получения препарата микробного «Биопродуктин», подтвержденной необходимой нормативно-технической документацией (ЛР, ОПР, ТУ), и внедренной на опытно-промышленном производстве Института микробиологии НАН Беларуси, ГНПО «Химический синтез и биотехнологии» и государственного предприятия «Бобруйский завод биотехнологий», за период 2021–2024 гг. произведено и реализовано свыше 6 000 л препарата.

Таким образом, экспериментальные данные, полученные соискателем, представляют несомненную научную и практическую значимость и могут быть использованы в научных организациях НАН Беларуси, отраслевых институтах и сельскохозяйственных предприятиях.

Замечания и вопросы к соискателю

1. В трудоемких процессах отбора изолятов с хозяйственно-ценными свойствами, составления бактериального консорциума, перспективного в качестве основы микробного препарата, и выбора варианта культивирования бактерий, уместно было бы планирование многофакторного эксперимента, поскольку к этим этапам работы имеются некоторые замечания:

- не вполне согласуются данные таблиц 3.3, 3.4 и 3.5: из таблицы 3.3 следует, что наибольшей целлюлолитической активностью обладают изоляты 160к и 55к, в то время, как в таблице 3.5 указана более высокая 1,4-β-эндоглюканазная активность у изолятов А-145, 1 и 61; в таблице 3.5 добавлены штаммы 160к и 17в, имеющие фосфатмобилизующую активность, хотя согласно таблице 3.4 она не самая высокая; результаты отбора изолятов с азотфиксирующей активностью не приведены;

- при составлении бактериального консорциума изучены только 2 варианта соотношения штаммов: 1:1:1:1 и 1:1:1:2;

- сложно оценить результаты совместного культивирования, т.к. результаты отдельного культивирования 2-х и 3-х штаммов бактерий-антагонистов не приведены.

Данные замечания не затрагивают сути диссертационной работы и не влияют на положительную оценку диссертационного исследования в целом.

Соответствие научной квалификации соискателя ученой степени, на которую он претендует

Диссертация Шмыги Е.Ю. представляет собой целостное, завершенное, выполненное на высоком теоретическом и методическом уровне квалификационное исследование в области биотехнологии. Рукопись диссертации оформлена в соответствии с требованиями ВАК Республики Беларусь.

Автором диссертационной работы собран, проанализирован, грамотно изложен большой объем научно-технической литературы по теме исследования, что позволило обосновать актуальность работы, сформулировать ее цели и задачи, выбрать адекватное методическое и аппаратное сопровождение.

Экспериментальные данные, полученные соискателем лично или совместно с сотрудниками отраслевой лаборатории молекулярной диагностики и регуляции почвенных и водных микробоценозов ГНПО «Химический синтез и биотехнологии», Института микробиологии НАН Беларуси и УО «Гродненский государственный аграрный университет», статистически обработаны, проанализированы, логически представлены и хорошо проиллюстрированы. Достоверность представленных в диссертации экспериментальных данных, полученных с использованием современных микробиологических, биохимических и молекулярно-генетических методов исследования, не вызывает сомнения.

Приведенные в диссертационной работе результаты, сформулированные на их основе выводы и положения, выносимые на защиту, обсуждены на различных международных конференциях и отражены в 14 работах, из них 7 статей – в рецензируемых научных изданиях, 1 статья – в сборнике научных трудов, 3 статьи и тезисы 3 докладов – в материалах конференций. Общий объем опубликованных материалов составляет 3,0 авторских листа. Изложенные в заключительной части диссертации основные научные результаты и положения, выносимые на защиты, подтверждаются ссылками на печатные работы.

Автореферат информативен, полностью соответствует содержанию диссертации, оформлен согласно требованиям ВАК Республики Беларусь.

Шмыга Екатерина Юрьевна продемонстрировала способность решать актуальные научные и практические задачи в области защиты сельскохозяйственных культур и повышения их продуктивности. Она владеет сведениями о современном состоянии вопроса и хорошо ориентируется в литературных источниках при анализе полученных экспериментальных результатов. Используемая для достижения цели методологическая база характеризует ее как всесторонне подготовленного в сфере биотехнологии исследователя. Из 14 опубликованных по теме диссертации работ в 12-ти она является первым автором, что свидетельствует о ее способности обобщать экспериментальные данные, делать необходимые выводы. Все отмеченное выше подтверждает соответствие научной квалификации Шмыга Е.Ю. ученой степени кандидата биологических наук.

Заключение

Диссертационная работа Шмыга Е.Ю. «Биотехнологические основы создания комплексного микробного препарата для улучшения фитосанитарного состояния посевов и повышения продуктивности зерновых культур» представляет собой актуальное в теоретическом и практическом отношении законченное квалификационное исследование, содержащее оригинальный экспериментальный материал. Работа по теоретическому и методическому уровню выполнения, объему проведенных исследований и значимости полученных результатов полностью отвечает требованиям, предъявляемым ВАК Беларуси к кандидатским диссертациям.

Руководствуясь требованиями, установленными главой 3 Положения о присуждении ученых степеней, считаем, что автору диссертационной работы «Биотехнологические основы создания комплексного микробного препарата

для улучшения фитосанитарного состояния посевов и повышения продуктивности зерновых культур» Шмыга Екатерине Юрьевне может быть присуждена ученая степень кандидата биологических наук по специальности 03.01.06 биотехнология (в том числе бионанотехнологии) за совокупность новых научно-обоснованных экспериментальных данных, включающих:

- выделение и изучение высокоактивных штаммов спорообразующих бактерий *Bacillus amyloliquefaciens* БИМ В-1267 Д, *B. mojavensis* БИМ В-1268 Д, *B. amyloliquefaciens* БИМ В-1270 Д и *Priestia megaterium* БИМ В-1269 Д, характеризующихся комплексной (антимикробной, азотфиксирующей, целлюлолитической и фосфатмобилизующей) активностью;

- создание на основе отобранных штаммов уникального бактериального консорциума, перспективного в качестве основы микробного препарата «Биопродуктин» для улучшения фитосанитарного состояния посевов и повышения продуктивности зерновых культур;

- установление генетической основы антимикробной активности против бактериальных (*Pseudomonas*, *Xanthomonas*, *Pectobacterium*, *Pantoea*) и грибных (*Alternaria*, *Arthrrium*, *Epicoccum*, *Fusarium*) патогенов у отобранных штаммов бактерий *B. amyloliquefaciens* БИМ В-1267 Д, *B. mojavensis* БИМ В-1268 Д и *B. amyloliquefaciens* БИМ В-1270 Д, что подтверждается наличием в их геномах целого ряда генетических детерминант (в частности, *baeB*, *dhbACE*, *bmyD*, *dfnA*, *fenA*, *mlnA*, *srfAA* и *ituABD*), кодирующих антимикробные соединения широкого спектра действия (бациллин, бациллибактин, бацилломицин, диффицидин, фенгицин, макролактин, сурфактин, итурин соответственно);

- разработку технологии получения препарата микробного «Биопродуктин», основанную на раздельном глубинном культивировании бактерий *B. amyloliquefaciens* БИМ В-1267 Д, *B. mojavensis* БИМ В-1268 Д, *P. megaterium* БИМ В-1269 Д и *B. amyloliquefaciens* БИМ В-1270 Д в оптимизированных условиях в ферментерах АНКУМ-10М и BIOFLO 5000 120L (температура 30°C, pH 7,0–7,5, норма внесения 20-часового посевного материала 2,0 об.%, интенсивность аэрации – 1,0 л воздуха /л среды·мин, скорость вращения мешалки – 180 об./мин и 120 об./мин, продолжительность ферментации 32 ч) и последующем смешивании КЖ монокультур бактерий в соотношении 1:1:1:1, обеспечивающую высокий титр и фитозащитные свойства препарата, применение которого позволяет снизить распространенность и развитие корневых гнилей на 21,6–56,0%, а также повысить урожайность тритикале озимой на 4,6–6,1 ц/га,

что в совокупности вносит существенный вклад в развитие биотехнологии и решение проблем при возделывании зерновых культур в условиях интенсивного ведения сельского хозяйства.

Отзыв составлен на основе всестороннего анализа материалов представленной диссертационной работы и устного доклада соискателя и одобрен на научном семинаре кафедры биотехнологии учреждения образования «Белорусский государственный технологический университет» (протокол № 2 от 15.04.2025 г.).

На научном семинаре присутствовало 15 сотрудников, из них докторов наук – 1, кандидатов наук 9.

В открытом голосовании приняло участие 10 человек.
Проголосовали: за – 10, против – нет, воздержавшихся – нет.

Председатель научного собрания

Зав. кафедрой биотехнологии
Белорусского государственного
технологического университета,
кандидат химических наук, доцент

 В.Н.Леонтьев

Эксперт

Доцент кафедры биотехнологии,
кандидат химических наук, доцент

 Р.М.Маркевич

Секретарь научного собрания

Доцент кафедры биотехнологии,
кандидат биологических наук, доцент

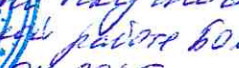
 О.С.Игнатовец

Выражаем согласие на размещение отзыва на сайте ГНУ «Институт микробиологии НАН Беларуси» в глобальной компьютерной сети Интернет.

С отзывом ознакомлена 16.04.2025

соискатель  Е.Ю.Шмота

Членский секретарь совета
по защите  Семашко Т.В.


Министр  Семашко Т.В.
участник  работы
и секретарь  работы  16.04.2025