

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу Шмыги Екатерины Юрьевны «Биотехнологические основы создания комплексного микробного препарата для улучшения фитосанитарного состояния посевов и повышения продуктивности зерновых культур», представляемой на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии)

Соответствие диссертации специальности и отрасли науки по которым она представлена к защите, со ссылкой на область исследования паспорта соответствующей специальности, утвержденного ВАК

Диссертационная работа Шмыги Е.Ю. посвящена научному обоснованию и на его основе биотехнологии создания отечественного микробного препарата «Биопродуктин» для улучшения фитосанитарного состояния посевов и повышения продуктивности зерновых культур.

В качестве объекта исследования служили высокоактивные штаммы спорообразующих бактерий с комплексом агрономически ценных свойств, а предметом исследования – морфолого-культуральные, физиолого-биохимические и молекулярно-генетические свойства штаммов используемых бактерий.

Этапы экспериментального раздела диссертационной работы включали:

- выделение и отбор высокоактивных штаммов спорообразующих бактерий с антагонистической, целлюлолитической, азотфиксирующей и фосфатмобилизующей активностями;
- изучение их морфолого-культуральных, физиолого-биохимических, молекулярно-генетических свойств;
- разработку 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.

Диссертация соответствует 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».

Таким образом, по совокупности таких признаков, как цель и задачи, объект, предмет, методы и области исследований, рассматриваемая диссертационная работа полностью соответствует специальности 03.01.06 — биотехнология (в том числе бионанотехнологии), по которой она представлена в Совет по защите диссертаций Д 01.34.01 при государственном научном учреждении «Институт микробиологии Национальной академии наук Беларуси».

Актуальность темы диссертации

Актуальность темы диссертационной работы определяется её соответствием 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».

В рамках этих приоритетных направлений научной, научно-технической и инновационной деятельности актуальной является проблема потерь урожая сельскохозяйственных культур вследствие поражения посевов фитопатогенными микроорганизмами. Пораженность зерновых культур болезнями в отдельные годы может достигать 44%, а потери урожая – 30–50%.

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.

В связи с вышеизложенным, актуальность темы диссертации по созданию 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, не вызывает сомнений.

Кроме того, актуальность темы диссертации подтверждается ее связью с плановыми исследованиями, выполняемыми в рамках официальных проектов, входящих в научные программы разного уровня (в том числе ГПНИ, ГП).

Степень новизны результатов, полученных в диссертации, и научных положений, выносимых на защиту

В результате выполнения работы были получены результаты, характеризующиеся научной новизной. Среди наиболее значимых можно выделить следующие:

- создание уникального бактериального консорциума с комплексной антимикробной, азотфиксирующей, целлюлолитической и фосфатмобилизующей активностями (штаммы *Bacillus amyloliquefaciens* БИМ В-1267 Д, *Bacillus mojavensis* 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;

- подтверждение высокого фитозащитного потенциала бактерий *B. amyloliquefaciens* БИМ В-1267 Д, *B. mojavensis* БИМ В-1268 Д и *B. amyloliquefaciens* БИМ В-1270 Д вследствие 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));

- доказательство положения, 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;

- разработку 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.

Научная новизна в полной мере отражена в положениях, выносимых на защиту.

Обоснованность и достоверность выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Все выводы и ключевые положения диссертации Шмыги Е.Ю. обоснованы большим объемом экспериментальных данных, которые суммированы и иллюстрированы в 29 таблицах и 23 рисунках. Они неоднократно публично обсуждены и отражены в публикациях автора,

включающих статьи в рецензируемых научных изданиях. Автором проведена статистическая обработка результатов, которая дает основание утверждать о достоверности полученных экспериментальных данных и сформулированных на их основе выводов.

Научная, практическая, экономическая и социальная значимость результатов диссертации с указанием рекомендаций по их использованию

Научная значимость результатов диссертации:

Полученные результаты и сформулированные выводы позволяют сделать заключение о научном и прикладном вкладе диссертанта в биологию спорообразующих бактерий.

Скрининг из более 300 природных микроорганизмов с поиском штаммов, обладающих определенными целевыми свойствами (высокой антимикробной, азотфиксирующей, целлюлолитической и фосфатмобилизующей активностями), позволил создать уникальный бактериальный консорциум, обладающий комплексной активностью. Выдвинутый и используемый автором экспериментальный подход позволяет создавать многовекторные консорциумы и использовать их в качестве основ микробных препаратов для защиты сельскохозяйственных культур и повышения их продуктивности.

Практическая и экономическая значимость полученных результатов заключается в том, что на основе высокоэффективных спорообразующих штаммов бактерий *B. amyloliquefaciens* БИМ В-1267 Д, *B. mojavensis* БИМ В-1268 Д, *B. amyloliquefaciens* БИМ В-1270 Д и *P. megaterium* БИМ В-1269 Д с комплексной антимикробной, азотфиксирующей, целлюлолитической и фосфатмобилизующей активностями разработана и внедрена в опытно-промышленное производство Института микробиологии НАН Беларуси, ГНПО «Химический синтез и биотехнологии» и государственного предприятия «Бобруйский завод биотехнологий» технология получения препарата микробного «Биопродуктин» для улучшения фитосанитарного состояния посевов и повышения продуктивности зерновых культур. Биологическая эффективность препарата в отношении корневых гнилей озимой тритикале составляет 21,6–56,0%, а хозяйственная эффективность определяется в повышении урожайности тритикале озимой на 4,6–6,1 ц/га. За период 2021–2024 гг. произведено и реализовано свыше 6 000 л препарата.

Экономическая значимость результатов может возрасти, так как технология получения препарата микробного «Биопродуктин» является современной и конкурентоспособной.

Социальная значимость заключается в сокращении использования химических средств защиты растений и, соответственно, уменьшении негативных последствий их применения на человека и окружающую среду при использовании биологического препарата «Биопродуктин».

На основании полученных в работе результатов к практическому использованию рекомендуются: микробный препарат «Биопродуктин» с

комплексной антимикробной, азотфиксирующей, целлюлолитической и фосфатмобилизующей активностями; разработанные лабораторный и опытно-промышленный регламенты на производство препарата микробного «Биопродуктин», технические условия на препарат микробный «Биопродуктин». Разработанная технология получения препарата внедрена в опытно-промышленное производство Института микробиологии НАН Беларуси, ГНПО «Химический синтез и биотехнологии» и государственного предприятия «Бобруйский завод биотехнологий».

Опубликованность результатов диссертации в научной печати

Основные результаты диссертационной работы достаточно полно 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. Объем публикаций, соответствующих пункту 19 Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий в Республике Беларусь, составляет 3,0 авторских листа.

Соответствие оформления диссертации требованиям ВАК

Диссертационная работа содержит введение, общую характеристику работы, основную часть (включающую обзор литературы, описание объектов и методов исследования, 4 главы экспериментальной части), заключение, библиографический список, приложения. Работа изложена на 179 страницах, содержит 29 таблиц и 23 рисунка. Библиографический список содержит 189 наименований использованных источников, а также 14 публикаций соискателя. В работе также имеются 23 приложения.

Материал диссертации изложен логично и последовательно, проведен анализ всех полученных результатов, на основе которого сформулированы корректные выводы.

Замечания по диссертации

Замечаний по диссертационному исследованию Е.Ю. Шмыга не имею.

В целом, оформление диссертации, автореферата и изложение материала соответствует требованиям Инструкции ВАК по оформлению диссертаций.

Соответствие научной квалификации соискателя ученой степени, на которую он претендует

Полученные результаты исследований, изложенные в диссертации и автореферате, свидетельствует о высоком профессиональном уровне соискателя. Актуальность и практическая значимость полученных выводов не вызывает сомнения и позволяет сделать заключение о соответствии квалификации соискателя 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 завершённое научное исследование, оформленное в соответствии с требованиями, установленными главой 3 Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий в Республике Беларусь, предъявляемым к кандидатским диссертациям.

Соискатель Шмыга Е.Ю. достойна присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.06 биотехнология (в том числе бионанотехнологии) за:

- 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 активностями и создание на их основе 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.

Отзыв представлен в Совет по защите диссертаций Д 01.34.01 при государственном научном учреждении «Институт микробиологии Национальной академии наук Беларуси».

Выражаю свое согласие на размещение отзыва о диссертации на

официальном сайте Государственного научного учреждения «Институт микробиологии Национальной академии наук Беларуси».

Официальный оппонент:

Доктор биологических наук, профессор,
академик НАН Беларуси

 В.Н. Решетников

«10» апреля 2025 г.

Личную подпись Решетникова В.Н.
(фамилия, инициалы)

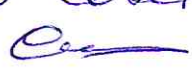
удостоверяю:

начальник Главного
управления кадров и кадровой политики
аппарата НАН Беларуси


(подпись)
10.04.2025


С отзогом ознакомлена 11.04.2025
соискатель  Е.Ю. Шмига

Ученый секретарь совета
по защите

 С.С. Розенская
Личную подпись Решетникова В.Н.
удостоверяю

10.04.2025