

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»,**

представляемую 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*

В диссертационной работе Шмыгой Екатериной Юрьевной разработаны подходы создания комплексного микробного препарата для улучшения фитосанитарного состояния посевов и повышения продуктивности зерновых культур на основе установления биологических особенностей высокоэффективных штаммов спорообразующих бактерий. Выделены и отобраны наиболее активные штаммы бактерий (*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), проведена характеристика их морфологических, физиолого-биохимических и молекулярно-генетических свойств. В работе применены современные методы микробиологических, биохимических и молекулярно-генетических исследований.

Объектом исследования являлись высокоактивные штаммы спорообразующих бактерий, обладающие комплексом агрономически ценных свойств.

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

Экспериментальный раздел диссертационной работы включает:

- выделение, отбор высокоактивных штаммов спорообразующих бактерий, характеристику их антагонистической, целлюлолитической, азотфиксирующей и фосфатмобилизующей активностей и изучение морфолого-культуральных, физиолого-биохимических, молекулярно-генетических свойств отобранных штаммов;

- разработку технологии получения препарата микробного «Биопродуктин» на основе отобранных и охарактеризованных штаммов бактерий, оптимизацию условий его хранения;

- проведение испытаний эффективности фитозащитного и ростостимулирующего действия препарата «Биопродуктин» в условиях

лабораторного и модельного опытов.

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»).

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».

Таким образом, по совокупности таких признаков, как объекты, предметы и методы исследования, рассматриваемая диссертационная работа Шмыги Е.Ю. соответствует специальности 03.01.06 — биотехнология (в том числе бионанотехнологии).

Актуальность темы диссертации

Актуальность обусловлена необходимостью развития экологически безопасных способов биологического контроля возбудителей болезней корневых гнилей зерновых культур. Корневые гнили представляют собой наиболее вредоносные заболевания зерновых культур, которые способны комплексно поражать растения несколькими видами патогенов одновременно. Это приводит к значительному снижению урожайности озимой и яровой пшеницы, ячменя, ржи, злаковых трав и овса. В настоящее время химический метод защиты растений продолжает занимать ведущее место в системах интенсивных технологий возделывания зерновых культур. Однако длительное применение пестицидов оказывает негативное влияние на экологическую обстановку вследствие их способности накапливаться в почве и растениях, что обуславливает необходимость поиска альтернативных способов защиты растений. Применение биологических средств защиты на

основе живых культур микроорганизмов приводит к повышению урожайности растений и качеству сельскохозяйственной продукции. При этом, одним из перспективных направлений в сельском хозяйстве является использование микробных препаратов полифункционального действия, основу которых составляют консорциумы микроорганизмов с взаимодополняющими свойствами, т.е. обладающие высокими показателями антимикробной, ферментативной, азотфиксирующей, фосфатмобилизующей активностей. Применение таких препаратов в технологии возделывания зерновых способствует снижению пестицидной нагрузки, улучшению фитосанитарного состояния посевов, повышению урожайности зерновых культур и получению экологически чистой продукции.

В диссертационной работе Шмыги Е.Ю. на обширном опытном материале показана целесообразность и эффективность применения такого комплексного препарата микробного «Биопродуктин», что подтверждает актуальность диссертационной работы.

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

Новизна результатов диссертационной работы и научных положений, выносимых на защиту, заключается в том, что:

- соискателем создан уникальный бактериальный консорциум, характеризующийся наличием 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), научно аргументирована перспективность его использования в качестве основы микробного препарата «Биопродуктин», предназначенного для улучшения фитосанитарного состояния посевов и повышения продуктивности зерновых культур;

- высокий фитопротекторный потенциал бактерий *B. amyloliquefaciens* БИМ В-1267 Д, *B. mojavensis* БИМ В-1268 Д и *B. amyloliquefaciens* БИМ В-1270 Д подтвержден наличием в их геномах генов, ответственных за синтез биологически активных соединений, обладающих антимикробным действием (бациллин, бациллибактин, бацилломицин, диффицидин, фенгицин, макролактин, сурфактин, итурин);

- доказано, что максимальные показатели титра и биологической активности бактерий – основы препарата микробного «Биопродуктин» – достигаются при их выращивании в опытно-промышленном ферментере 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 в минуту и скорости перемешивания – 120 об./мин;

– разработана технология, обеспечивающая получение отечественного микробного препарата «Биопродуктин» комплексного действия, эффективного в отношении корневых гнилей озимой тритикале (21,6–56,0%) и не уступающего по своим характеристикам известным отечественным и мировым аналогам: «Бактавен», «Алирин-Б», «Гамаир»; показано, что микробный препарат «Биопродуктин» помимо фитозащитного действия также обладает способностью ускорять процессы минерализации растительных остатков, фиксировать атмосферный азот и растворять труднорастворимые фосфаты, переводя их в доступную для растений форму.

Таким образом, новизна результатов работы, полученных соискателем, и научных положений, выносимых на защиту, не вызывает сомнений и представляет научную и практическую значимость.

Обоснованность и достоверность выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Все выводы и ключевые положения диссертации Шмыги Е.Ю. обоснованы большим объемом статистически обработанных экспериментальных данных, полученных с использованием современных микробиологических, молекулярно-генетических, биохимических методов исследований, которые суммированы и проиллюстрированы в 29 таблицах и 23 рисунках. Экспериментальные данные неоднократно публично обсуждены, в том числе, на международных конференциях, и отражены в публикациях автора в рецензируемых научных журналах.

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

Научная значимость результатов диссертации:

Научная значимость представленных результатов заключается в получении новых данных об активностях и свойствах выделенных 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; установлении высокого фитопротекторного потенциала указанных бактерий путем подтверждения наличия в их геномах генов, ответственных за синтез биологически активных соединений, обладающих антимикробным действием (бациллин, бациллибактин, бацилломицин, диффицидин, фенгицин, макролактин, сурфактин, итурин), а также в создании уникального бактериального консорциума, обладающего комплексной активностью (высокой антимикробной, азотфиксирующей, целлюлолитической и фосфатмобилизующей активностями) – основы микробного препарата для защиты зерновых культур и повышения их продуктивности.

Практическая и экономическая значимость полученных результатов

закключается в разработке технологии получения и применения препарата микробного «Биопродуктин», предназначенного для улучшения фитосанитарного состояния посевов и повышения продуктивности зерновых культур. Препарат микробный «Биопродуктин» был зарегистрирован и внесен в Государственном реестре средств защиты растений и удобрений, разрешенных к применению на территории Республики Беларусь.

Экономическая значимость полученных результатов подтверждается успешной реализацией препарата микробного «Биопродуктин» предприятиям агропромышленного комплекса: за период 2021–2024 гг. произведено и реализовано свыше 6 000 л препарата, а также снижением затрат на закупку зарубежных аналогов. Кроме того, применение указанного препарата в сельском хозяйстве привело к снижению заболеваемости растений и повышению их урожайности.

Социальная значимость работы обусловлена потребностью предприятий агропромышленного комплекса в новых эффективных средствах защиты растений. Применение разработанного высокоэффективного экологически безопасного препарата микробного «Биопродуктин» способствует экологизации сельского хозяйства в Республике Беларусь.

На основании полученных в работе результатов к практическому использованию рекомендуются: штаммы бактерий *B. amyloliquefaciens* БИМ В-1267 Д, *B. mojavensis* БИМ В-1268 Д, *P. megaterium* БИМ В-1269 Д, *B. amyloliquefaciens* БИМ В-1270 Д с взаимодополняющими свойствами (высокой антимикробной, целлюлолитической, азотфиксирующей, фосфатмобилизующей и фитостимулирующей активностями) и разработанный на их основе препарат микробный «Биопродуктин», предназначенный для улучшения фитосанитарного состояния посевов и повышения продуктивности зерновых культур.

Разработанные лабораторный и опытно-промышленный регламенты на производство препарата микробного «Биопродуктин» (ЛР–4/2018 от 10.09.2018 и ОПР-1/2020 от 09.06.2020, ведомость изменений № 1 к ОПР-1/2020 от 10.08.2023), технические условия на препарат микробный «Биопродуктин» ТУ ВУ 100289066.154-2018 от 26.11.2018 явились основой для освоения технологии получения препарата и организации его опытно-промышленного производства в Институте микробиологии НАН Беларуси, ГНПО «Химический синтез и биотехнологии» и Государственном предприятии «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

Диссертация написана хорошим научным языком и оформлена согласно требованиям ВАК Республики Беларусь. Диссертационная работа построена по традиционному плану и 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 список из 14 публикаций соискателя. В работе также имеются 23 приложения.

Аннотация отражает содержание диссертации, включает все основные результаты исследования, сделанные на их основе выводы и положения, выносимые на защиту.

Замечания по диссертации

Имеется несколько замечаний:

- в диссертации приведён перечень сокращенных названий микроорганизмов, вместе с тем, в тексте встречаются полные наименования микроорганизмов (например, страницы 10, 21, 22);
- на странице 90 в примечании к таблице 5.1 допущена техническая ошибка: поменяны местами расшифровки примечания 3 и 4;
- встречаются некоторые грамматические ошибки (например, «вклад в обеспечении» – стр.14, «республика Беларусь» - стр. 14, «в почвенных процессах» - стр. 17, «безазотистой» - стр. 52, «*B. amyloliquefacien*» - стр. 55, «пачатков» – стр. 99 и пр.).

Высказанные замечания не снижают значимость работы и не отражаются на научной новизне, практической значимости и заключении диссертационного исследования.

Соответствие научной квалификации соискателя ученой степени, на которую он претендует

Содержание диссертации и аннотации свидетельствует о высоком квалификационном уровне соискателя. Достигнуты результаты, имеющие несомненную теоретическую и практическую значимость. Актуальность и практическая значимость полученных результатов не вызывает сомнения и позволяет сделать заключение о соответствии квалификации соискателя ученой степени кандидата биологических наук.

Заключение

Диссертационная работа Шмыги Екатерины Юрьевны «Биотехнологические основы создания комплексного микробного препарата для улучшения фитосанитарного состояния посевов и повышения продуктивности зерновых культур» представляет собой завершенное 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, отбор и характеристику высокоактивных штаммов спорообразующих 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, характеризующихся комплексной антимикробной, азотфиксирующей, целлюлолитической и фосфатмобилизующей активностями;

- установление генетической основы антимикробной активности у отобранных штаммов бактерий *B. amyloliquefaciens* БИМ В-1267 Д, *B. mojavensis* БИМ В-1268 Д и *B. amyloliquefaciens* БИМ В-1270 Д в отношении фитопатогенных микроорганизмов, 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);

- создание на основе отобранных штаммов бактерий уникального бактериального консорциума, являющегося основой микробного препарата «Биопродуктин», предназначенного для улучшения фитосанитарного состояния посевов и повышения продуктивности зерновых культур;

- разработку промышленной 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 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.

Выражаю свое согласие на размещение отзыва о диссертации на официальном сайте Государственного научного учреждения «Институт микробиологии Национальной академии наук Беларуси».

15.04.2025 г.

Официальный оппонент,

заведующий научно-исследовательской
лабораторией молекулярной генетики и
биотехнологии кафедры генетики
биологического факультета
Белорусского государственного университета
к.б.н.

И.Н.

И.Н. Феклистова



С отзывом ознакомлена 16.04.2025
соискатель *Шмога*
ученый секретарь совета
по защите *Сен Сен* Т.В.

