ОТЗЫВ

официального оппонента Франк Юлии Александровны
на диссертационную работу Дудник Дины Евгеньевны
«Биотехнологический потенциал штаммов *Bacillus* spp. и *Lactiplantibacillus* spp. и разработка биологического препарата на их основе»,
представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.6. Биотехнология

Актуальность темы. Актуальность диссертационной работы Дины Евгеньевны Дудник не вызывает сомнений и обусловлена необходимостью поиска безопасной альтернативы химической дезинфекции животноводческих помещений. Высокая микробная обсемененность объектов животноводства, включая бактерии группы кишечной палочки, *Staphylococcus* spp., *Clostridium* spp. и микромицеты, создает повышенную нагрузку на иммунную систему животных и способствует распространению инфекционных заболеваний. Химические дезинфектанты при всех их достоинствах имеют существенные ограничения, такие как токсичность и персистентность в окружающей среде.

Актуальность диссертационной работы определяется необходимостью получения новых высокоактивных, безопасных и биосовместимых штаммов, пригодных для промышленного культивирования и создания многокомпонентных микробных консорциумов. Разработка биологических препаратов на основе микроорганизмов-антагонистов, способных закрепляться в среде животноводческих помещений и вытеснять патогенную и условно-патогенную микрофлору, является современным и практически значимым направлением биотехнологии. Работа Д.Е. Дудник соответствует мировому тренду перехода к экологически чистому сельскому хозяйству и задачам импортозамещения в области биологических средств для животноводства.

Научная новизна. Научная новизна работы заключается в комплексном изучении биотехнологического потенциала новых штаммов *Bacillus* spp. и *Lactiplantibacillus* spp. и создании на их основе многокомпонентного биологического препарата для санации животноводческих помещений и подстилки. Автором из природных и антропогенных источников выделено 25 новых штаммов, из которых пять признаны перспективными для разработки биологических препаратов для животноводства. Впервые для штаммов *Bacillus atrophaeus* RCAM06423, *Bacillus subtilis* RCAM06733, *Lactiplantibacillus plantarum* B-14828, *L. plantarum* B-14829 и *Lactiplantibacillus paraplantarum* B-14830 проведён анализ биохимических свойств и метаболомных профилей. Практическая ценность этих штаммов подтверждена депонированием в российских коллекциях микроорганизмов и двумя патентами РФ.

Существенным элементом новизны является разработанная и экспериментально обоснованная технология получения мультиштаммового биологического препарата, включающая раздельное культивирование двух ко-

культур – двух штаммов *Bacillus* spp. и трех штаммов *Lactiplantibacillus* spp. – при 30 °С в течение 24 ч с последующим смешиванием культуральных жидкостей в соотношении 1:1. Показано, что такая технология обеспечивает в жидкой форме препарата содержание не менее 1×10^9 КОЕ/мл.

В реальных условиях животноводческого помещения (телятника) показана эффективность созданного прототипа препарата: снижение численности патогенных и условно-патогенных микроорганизмов на поверхностях и в подстилке, а также увеличение среднесуточного привеса телят по сравнению с контрольными условиями. Совокупность полученных данных расширяет представления о биотехнологическом потенциале штаммов *Bacillus* spp. и *Lactiplantibacillus* spp. и обосновывает возможность их применения в животноводстве.

Теоретическая и практическая значимость исследования. Теоретическая значимость работы состоит в дополнении существующих знаний о морфолого-культуральных, физиологических, биохимических и биотехнологических свойствах представителей родов *Bacillus* и *Lactiplantibacillus*. Полученные данные о метаболомных профилях, продукции внеклеточных ферментов, биосурфактантов, молочной кислоты и других биологически активных соединений вносят вклад в понимание механизмов антагонистического действия и биотехнологического потенциала исследуемых микроорганизмов. Российские коллекции микроорганизмов пополнены новыми депонированными штаммами, что создает основу для их использования в дальнейших исследованиях.

Практическая значимость работы подтверждается созданием прототипа мультиштаммового биологического препарата для санации животноводческих помещений и подстилки, разработкой нормативно-технической документации на производство опытных партий (Технических условий и Технологической инструкции). Прототип прошёл испытания в производственных условиях Племенного завода «Комсомольское» – филиала ФГБНУ ФАНЦА в Алтайском крае. Показана эффективность препарата как средства коррекции микробного фона телятника и установлено положительное влияние на среднесуточный привес телят.

Результаты работы могут быть использованы практикующими микробиологами, биотехнологами и ветеринарными специалистами животноводческих предприятий при проведении санитарно-ветеринарных мероприятий, а также в учебном процессе при подготовке специалистов по микробиологии и промышленной биотехнологии. Рекомендации по хранению препарата имеют непосредственное прикладное значение.

Достоверность и обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций, приведенных в диссертации. Достоверность и обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций, приведенных в диссертации, обеспечиваются современным методическим уровнем исследования, достаточным объемом экспериментального материала и корректной статистической обработкой данных. В работе использованы

классические микробиологические и биохимические методы, молекулярно-генетическая идентификация по последовательностям гена 16S РНК, метаболомный анализ методом ВЭЖХ с тандемной масс-спектрометрической детекцией, оценка острой токсичности на лабораторных животных, а также глубинная ферментация и промышленные испытания прототипа препарата.

Выполнена математико-статистическая обработка полученных данных. Достоверность различий между опытными и контрольными группами оценивали с помощью t-критерия Стьюдента; статистически значимыми считали результаты при $p < 0.05$. Эксперименты выполнены с биологическими и аналитическими повторностями, результаты воспроизводимы и согласуются с данными современной научной литературы.

Соответствие диссертации и автореферата требованиям «Положения о присуждении ученых степеней». Представленная диссертация является завершенной научной работой, проведенной на высоком методическом и научном уровне. Результаты исследований позволили автору разработать эффективный биологический дезинфектант для сельскохозяйственных помещений и подстилки.

Диссертация и автореферат написаны лаконично, оформлены в соответствии с ГОСТ 7.0.11 – 2011 «Диссертация и автореферат диссертации. Структура и правила оформления». Автореферат соответствует содержанию диссертационной работы.

Диссертационная работа соответствует пунктам 3, 5, 6, 11, 25 паспорта специальности 1.5.6. Биотехнология.

Личный вклад автора в разработку научной проблемы. Диссертационная работа Дудник Дины Евгеньевны является комплексным исследованием, базируется на полученных лично автором экспериментальных результатах. Автор изучила и проанализировала большой объем научной литературы, сформулировала цель и задачи диссертации, разработала методическую часть проведения экспериментов и выполнила весь комплекс запланированных исследований. Дудник Д.Е. исчерпывающе представила результаты исследования в собственных публикациях и таким образом внесла личный вклад в развитие вопроса разработки современных биологических препаратов для сельского хозяйства.

Структура и объем работы. Диссертационная работа Дудник Д.Е. включает в себя следующие разделы: введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты исследования, выводы, практические рекомендации по использованию результатов исследования, список литературы и приложения.

Общий объем работы составляет 158 страниц машинописного текста, иллюстрированного 28 рисунками, в том числе графиками и 25 таблицами. Список литературы содержит 330 источников, включая 255 – на иностранном языке. Получено 2 патента на штаммы с технически-ценными свойствами и зарегистрирована нормативно-техническая документация (ТУ, ТИ) на технологию производства биологического препарата. Содержание опубликованных работ отражает основные результаты диссертационного исследования.

Общая характеристика работы. В разделе «Введение» подробно обоснованы актуальность и новизна работы, дана характеристика ее практической значимости. Автором сформулированы цель и задачи исследования, выдвинуто 3 защищаемых положения. Кроме того, во «Введении» кратко описаны методология и методы исследования, личный вклад автора, апробация работы и публикации по теме диссертации.

Глава «Обзор литературы» небольшая по объему, состоит из трех разделов (на 14 страницах) и содержит описание имеющихся литературных данных по теме исследования. Он включает в себя информацию о микрофлоре животноводческих помещений, технологиях коррекции и контроля состава и численности микрофлоры, описывает перспективы применения биопрепаратов для этих целей.

Главу «Материалы и методы исследований» автор начинает с подробного описания объектов исследования. Также в данной главе подробно описаны использованные в работе материалы и методики проведения экспериментов, включающие в себя все этапы подготовки и анализа объектов исследования, элементы и этапы технологии производства биологического препарата, а также условия промышленных испытаний разрабатываемого продукта. Более того, некоторые детали поставленных экспериментов также освещены в подглавах, отражающих полученные результаты и их обсуждение, что облегчает восприятие и понимание выполненной работы. Материалы этой главы показывают широкий диапазон современных экспериментальных методик, освоенных автором диссертации.

Изложению и обсуждению результатов диссертационного исследования посвящено четыре раздела в составе третьей главы (на 59 страницах), что указывает на большой объем экспериментальной работы, проделанной автором. В подглаве 3.1. охарактеризованы выделение и скрининг антагонистической активности штаммов *Bacillus* spp. и *Lactiplantibacillus* spp. Представлены также результаты оценки биосовместимости штаммов, что важно для составления промышленного консорциума. В подглаве 3.2. описаны биохимические и метаболические свойства штаммов, значимые для их биотехнологического применения, а также приведены сведения по биобезопасности исследуемых микроорганизмов. Подглава 3.3. посвящена разработке технологии получения биологического препарата и включает результаты исследований по подбору условий культивирования, масштабированию и определению оптимальных условий хранения. В подглаве 3.4. представлены и обсуждены результаты лабораторных и промышленных испытаний препарата на основе активных штаммов *Bacillus* spp. и *Lactiplantibacillus* spp. Результаты проведенного исследования в большинстве случаев уместно подкреплены математически обработанными данными в виде таблиц и диаграмм, хорошо иллюстрированы рисунками и фотографиями, что позволяет получить наиболее наглядное представление о проведенном исследовании.

Выводы написаны строго и лаконично, соответствуют выполненным задачам, прочно базируются на полученных автором экспериментальных результатах. Приложения качественно дополняют и раскрывают некоторые результаты диссертационного исследования.

В целом, представленная Дудник Д.Е. работа производит положительное впечатление, хорошо иллюстрирована, аккуратно оформлена.

При ознакомлении с полным текстом диссертации возникло несколько **вопросов и замечаний**:

1. Для оценки чувствительности штаммов *Bacillus* spp., *Lactiplantibacillus* spp. к антибиотикам и интерпретации данных использовали референсные значения диаметра зоны ингибирования, представленные в более ранней публикации и нормативных документах. Учитывали ли при этом состав используемых питательных сред?

2. На рисунках 22 и 23 не отражены результаты статистического анализа данных для сравнения динамики численности бактерий *Bacillus* spp., *Lactiplantibacillus* spp., что не позволяет оценить значимость отличий между вариантами хранения биопрепарата.

3. В названии и тексте раздела 3.2 использовано название рода *Lactobacillus*, хотя выделенные штаммы в итоге были классифицированы внутри рода *Lactiplantibacillus*. Это вносит некоторую путаницу при знакомстве с представленным материалом.

4. На микрофотографиях и фотографиях колоний (рисунки 2, 6, 8, 10) не хватает масштабной линейки. Масштаб рисунков может меняться в зависимости от форматирования, поэтому линейка всегда желательна.

5. В тексте встречаются отдельные орфографические и стилистические ошибки. Например, «среднеарифметическое значение» на с. 42, «ряд метаболитов были обнаружены» на с. 71, «не зависимо» на с. 82 и т.д.

6. В Приложениях Д и Е хотелось бы видеть перечни метаболитов, содержащихся в культуральной жидкости исследуемых штаммов бактерий, на русском языке.

Сделанные замечания не влияют на общую положительную оценку работы и являются скорее пожеланием по дальнейшему планированию исследований. Результаты научных исследований автором апробированы, в должном объеме опубликованы в печати и в полной мере раскрывают тему диссертационной работы, которая соответствует специальности 1.5.6 – биотехнология. Сформулированные в работе защищаемые положения, выводы и рекомендации логически вытекают из полученных экспериментальных данных. Результаты лабораторных исследований подтверждены испытаниями в промышленных условиях, а эффективность прототипа препарата подтверждена как микробиологическими показателями, так и зоотехническими данными. Принципиальных замечаний к обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций нет.

Диссертационная работа «Биотехнологический потенциал штаммов *Bacillus* spp. и *Lactiplantibacillus* spp. и разработка биологического препарата

на их основе» представляет собой законченное научное исследование, которое по актуальности, новизне, теоретической и практической значимости, методической подготовки и объему выполненных исследований соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении учёных степеней», утверждённого Постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 г. (в редакции Постановлений Правительства Российской Федерации от 30.07.2014 № 723, от 21.04.2016 № 335, от 02.08.2016 № 748, от 29.05.2017 № 650, от 28.08.2017 № 1024, от 01.10.2018 № 1168, от 20.03.2021 № 426, от 1 1.09.2021 № 1539, от 26.09.2022 №1690, от 26.01.2023 №101, от 18.03.2023 №415, от 26.10.2023 №1786, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор, Дудник Дина Евгеньевна, заслуживает присуждения ей ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.6 – биотехнология.

Официальный оппонент:
доктор биологических наук по специальности 1.5.15. Экология, доцент, профессор кафедры ихтиологии, гидробиологии и водной экологии НИ ТГУ

Франк Юлия Александровна

02.11.2026

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Томский государственный университет» (НИ ТГУ)

634050, г. Томск, пр. Ленина, 36; +7 (3822) 52-98-52; rector@tsu.ru; https://www.tsu.ru

Подпись удостоверяю
Ведущий документовед
Андриенко И. В.