

## О Т З Ы В

официального оппонента на диссертацию Хомяк Анны Игоревны «Оптимизация условий культивирования бактерий рода *Bacillus* – продуцентов новых биопрепаратов для защиты растений», представленную в диссертационный совет 64.1.001.01 на базе ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.6 – биотехнология

**1. Актуальность темы.** Создание новых микробных биологических препаратов для защиты растений от болезней и их практическое использование при выращивании культурных растений имеет важное экологическое значение в качестве альтернативы химическим пестицидам, вызывающим загрязнение окружающей среды и токсичность полученной продукции. Важной задачей на этом пути является обеспечение жизнеспособности, биологической активности и чистоты культуры клеток штаммов-продуцентов, разработка и усовершенствование технологий производства биопрепаратов на их основе.

В качестве бактериальной основы биопрепаратов против болезней растений в мире наиболее распространен род *Bacillus*. А штаммы бактерий вида *Bacillus subtilis* являются наиболее продуктивными и перспективными представителями рода *Bacillus* в микробиологической промышленности.

Особенно актуальным данное направление исследования является для российской науки, в которой ощущается недостаточное изучение биологических особенностей штаммов-продуцентов и отсутствие современных стандартов и биотехнологий получения биопрепаратов для защиты растений в России.

Таким образом, актуальность диссертации А.И. Хомяк весьма высока.

**2. Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации.** Диссидентом проведен глубокий анализ научной литературы по изучаемой проблеме, на основании которого были определены цель и задачи исследования. Научные положения, выводы и практические рекомендации, сформулированные в диссертационной работе Хомяк А.И., соответствуют поставленной цели и задачам, обоснованы обработкой фактического материала, включающего большой объем экспериментальных исследований с применением современных методов.

**3. Достоверность и новизна научных положений, выводов и рекомендаций.** Подтверждена 8-летними (2013-2021 гг.) лабораторными и полевыми исследованиями, проведенными на базе лаборатории микробиологической защиты растений ФГБНУ ФНЦБЗР с использованием материально-технической базы УНУ «Технологическая линия для получения микробиологических средств защиты растений нового поколения»

Российской академии наук, изучением обширного экспериментального материала и его статистическим анализом.

В процессе проведения исследования А.И. Хомяк были получены результаты, являющиеся новыми для науки и направленные на решение важной народно-хозяйственной проблемы – оптимизацию условий культивирования штаммов бактерий рода *Bacillus* – продуцентов новых биопрепараторов для защиты растений от корневых гнилей фузариозной этиологии.

Автором изучены биотехнологические особенности штаммов *B. subtilis* BZR 336 g и *B. subtilis* BZR 517. Впервые определены оптимальные источники углеродного (меласса) и азотного (пептон и кукурузный экстракт) питания и параметры температуры для культивирования штаммов бактерий *B. subtilis* BZR 336g (20,0°C) и *B. subtilis* BZR 517 (30,0°C) и при разных pH (8,0 и 6,0-8,0), а также оптимальное время культивирования для штамма *B. subtilis* BZR 336g 36-48 ч, для штамма *B. subtilis* BZR 517 – 24-36 ч. Разработан состав питательных сред для культивирования штаммов *B. subtilis*, обеспечивающий получение ЖК с титром не менее  $1 \times 10^9$  КОЕ/мл, высокой антрафунгальной активностью (от 49,7 до 90,0 % в отношении *F. graminearum*) и биологической эффективностью в отношении корневых гнилей фузариозной этиологии от 24,7 до 37,0 % на фоне искусственного заражения.

Таким образом, значительным научным достижением диссертанта является биологическое обоснование применения изученных штаммов бактерии *B. subtilis* для получения новых биопрепараторов. Предпринятый автором подход к решению поставленных задач, в целом, соответствует современным концепциям биотехнологии.

**4. Практическая значимость.** Полученные в исследовании А.И. Хомяк результаты имеют высокую практическую значимость.

Автором доказано, что лабораторные образцы биопрепараторов на основе исследуемых штаммов соответствуют техническим характеристикам современных биопрепараторов: титр составляет не менее  $1,4-2,4 \times 10^9$  КОЕ/мл; антагонистическая активность по отношению к *F. graminearum* составляет от 49,7 до 90,0%; имеют однородный состав, хорошо растворимы в воде.

Важно, что проведены исследования эффективности лабораторных образцов биопрепараторов на основе штаммов бактерий *B. subtilis* BZR 336g и *B. subtilis* BZR 517 в полевых условиях. При этом биологическая эффективность против корневой гнили фузариозной этиологии составила от 13,6 до 45,0%, а величина сохраненного урожая составила 0,1-3,9 т/га.

На основании теоретического и экспериментального обоснования разработаны ТУ и лабораторные регламенты на производство биопрепараторов на основе изученных штаммов для защиты озимой пшеницы от болезней. Установленная возможность получения новых биопрепараторов вносит вклад в научные основы их использования в защите растений от фитопатогенов.

Работа представляет интерес в качестве теоретического и практического материала для научных сотрудников, студентов и аспирантов по специальностям «биотехнология», «микробиология» и «защита растений».

**5. Общая характеристика диссертационной работы.** Текст диссертации Хомяк А.И. изложен на 136 страницах, включая список использованной литературы. Структура диссертационной работы традиционна и содержит следующие разделы: «Список использованных сокращений», «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы», «Результаты и обсуждения», «Заключение», «Практические рекомендации». Список литературы, Список использованной литературы оформлен согласно требованиям ГОСТ и включает 226 наименований, в том числе 132 на иностранных языках. Диссертация иллюстрирована 6 таблицами и 37 рисунками.

Введение содержит необходимые разделы: «Актуальность темы исследования», «Степень изученности темы», «Цель и задачи исследования», «Научная новизна», «Теоретическая и практическая значимость работы», «Положения, выносимые на защиту», «Методология и методы исследований», «Степень достоверности и апробация работы», «Личный вклад соискателя», «Структура и объём диссертации». Все разделы написаны корректно и соответствуют тому материалу, который изложен в основных главах диссертации.

Глава «Обзор литературы» написана грамотным языком, соответствует тематике данной работы. Она включает 9 разделов, посвященных современным исследованиям по изучению условий культивирования штаммов-продуцентов биопрепаратов и эффективности применения биопрепаратов на основе бактерий-антагонистов.

Глава «Материалы и методы» исчерпывающе представляет использованные методики и свидетельствует о большом объеме проделанной автором работы.

Глава «Результаты и обсуждения» содержит 7 разделов, в которых представлены результаты исследований по оптимизации условий культивирования штаммов бактерий рода *Bacillus* и испытанию эффективности лабораторных образцов биопрепаратов на основе штаммов бактерий *B. subtilis*. Проведен глубоко осмысленный, подробный анализ полученных результатов исследования.

В главе «Заключение» представлены все результаты, полученные автором. Все позиции в Заключении четко сформулированы, обоснованы и соответствуют поставленным задачам.

**6. Значимость для науки и практики проведенной соискателем работы.** Полученные соискателем результаты представляют высокую научную и практическую значимость как для научных учреждений, ведущих исследования по биотехнологии микроорганизмов и получению новых биологических средств защиты растений, так и для коммерческих организаций, выпускающих отечественные биопрепараты, а также для

сельскохозяйственных производителей, выращивающих озимую пшеницу, для защиты данной культуры от фузариозных корневых гнилей.

**7. Обоснованность** заключения и практических рекомендаций в диссертации достигается использованием метода многофакторного дисперсионного анализа с расчетом многогранового теста Дункана по первичным данным, полученным с применением классических методов сбора материала, постановки и проведения полевых и лабораторных экспериментов.

В работе сформулированы три положения, которые автор выдвигает для публичной защиты. Они отражают научную новизну результатов и по каждому из них приводятся достаточно аргументированные научные доказательства. Защищаемые положения и заключение подкреплены и обоснованы обширным аналитическим обзором.

Содержание автореферата диссертации и публикаций соответствуют содержанию, основным идеям и выводам диссертационной работы.

Диссертационная работа написана логично, ясно, с анализом каждого эксперимента, подробно иллюстрирована.

Основные результаты диссертационной работы достаточно полно опубликованы – 16 печатных работ, из них 2 – в изданиях, рекомендованных Перечнем ВАК, 3 – в изданиях, находящихся в базах данных Web of Science и Scopus, апробированы на 12-ти международных и всероссийских форумах и научно-практических конференциях.

При изложении работы автору, к сожалению, не удалось избежать некоторых упущений и неточностей.

### **Замечание.**

#### **1. Вопрос использования результатов статистического анализа описании результатов.**

Разделы 3.1, 3.2 С. 53-82. Автором выполнена корректная статистическая обработка опытных данных с помощью метода многофакторного дисперсионного анализа с расчетом многогранового теста Дункана. В разделах 3.1 и 3.2 статистические показатели представлены в Приложениях 2-6. Следует отметить, что автор в тексте разделов 3.1 и 3.2 ни разу не упоминает о результатах статистической обработки результатов и не использует их для доказательства полученных результатов по изучению биотехнологических особенностей штаммов *B. subtilis* BZR 336 g и *B. subtilis* BZR 517: оптимальным источникам углеродного и азотного питания параметрам температуры и pH, а также оптимальному времени культивирования. Таким образом, в указанных разделах преобладает описательный подход к анализу данных, а доказательность полученных результатов на 95%-ном уровне вероятности не используется в качестве научного аргумента.

В целом, приведенное выше замечание в существенной мере не снижает научной значимости и практической ценности представленной диссертации.

## **Заключение**

На основании вышесказанного считаю, что представленная диссертационная работа Хомяк Анны Игоревны на тему «Оптимизация условий культивирования бактерий рода *Bacillus* – продуцентов новых биопрепаратов для защиты растений», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.6 – биотехнология, является завершенной научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненного автором исследования содержится решение актуальной научной проблемы оптимизации условий культивирования штаммов бактерий рода *Bacillus* – продуцентов новых биопрепаратов для защиты растений от корневых гнилей фузариозной этиологии. Работа Хомяк Анны Игоревны по актуальности, научной новизне, практической значимости, полноте изложения и обоснованности выводов полностью соответствует требованиям пп. 9-14 Положения «О порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24.09.2013 (с изменениями в ред. Постановления Правительства Российской Федерации №335 от 21.04.2016, №748 от 02.08.2016, №650 от 29.05.2017, №1024 от 28.08.2017, №1168 от 01.01.2018, № 426 от 20.03.2021), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а её автор заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.6 – биотехнология.

Официальный оппонент:

заведующий кафедрой защиты растений,

ФГБОУ ВО НГАУ

доктор сельскохозяйственных наук,

доцент

Беляев Анатолий Аркадьевич

28.07.2022 г.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Новосибирский государственный аграрный университет» (ФГБОУ ВО НГАУ)

630039, г. Новосибирск, ул. Добролюбова, 60,

тел. (383) 264-25-46,

E-mail: belyaev.an.ar@gmail.com

