

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 350.002.01 НА БАЗЕ
ФЕДЕРАЛЬНОГО БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ
«ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР ПРИКЛАДНОЙ
МИКРОБИОЛОГИИ И БИОТЕХНОЛОГИИ» ФЕДЕРАЛЬНОЙ СЛУЖБЫ ПО
НАДЗОРУ В СФЕРЕ ЗАЩИТЫ ПРАВ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ И БЛАГОПОЛУЧИЯ
ЧЕЛОВЕКА РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ ПО ДИССЕРТАЦИИ НА
СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

Аттестационное дело № _____

Решение диссертационного совета от 25.09.2020 г. № 8

о присуждении Храповой Анне Викторовне, гражданину РФ, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Эпифитные дрожжи высших грибов как объекты для получения белковых кормовых продуктов» по специальности 03.02.03 – микробиология принята к защите 12.03.2020 г., протокол № 4, диссертационным советом Д 350.002.01 на базе Федерального бюджетного учреждения науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека Российской Федерации, 142279, Московская обл., Серпуховский р-н, Оболенск, приказ о создании № 714/нк от 02.11.2012 г.

Соискатель Храпова Анна Викторовна, 1985 г. рождения, в 2009 г. окончила магистратуру Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Астраханский государственный технический университет» Федерального агентства по рыболовству по направлению «Биология» (специализация «Микробиология и вирусология»). С 2009 по 2012 гг. А.В. Храпова обучалась в очной аспирантуре Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Астраханский государственный технический университет» по направлению 03.02.10 – «Гидробиология»; работает младшим научным сотрудником отдела эпидемиологического мониторинга, диспансеризации и реабилитации больных лепрой в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Научно–исследовательский

институт по изучению лепры» Министерства здравоохранения России и старшим преподавателем кафедры «Прикладная биология и микробиология» Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Астраханский государственный технический университет» Федерального агентства по рыболовству.

Диссертация выполнена в научно-исследовательской лаборатории микробиологического мониторинга кафедры «Прикладная биология и микробиология» Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Астраханский государственный технический университет» Федерального агентства по рыболовству и в лабораторно-экспериментальном отделе Федерального государственного бюджетного учреждения «Научно-исследовательский институт по изучению лепры» Министерства здравоохранения России.

Научные руководители – доктор биологических наук (специальность 03.02.08 – экология), профессор Сопрунова Ольга Борисовна, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Астраханский государственный технический университет» Федерального агентства по рыболовству, заведующая кафедрой «Прикладная биология и микробиология»;

кандидат биологических наук (специальность 03.03.01 – физиология), доцент Лужнова Светлана Алексеевна, Пятигорский медико-фармацевтический институт, филиал Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения России, заведующая кафедрой «Микробиология и иммунология с курсом биохимии».

Официальные оппоненты:

Градова Нина Борисовна, доктор биологических наук (специальность 03.02.03 – микробиология), Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева», г. Москва, кафедра

биотехнологии факультета биотехнологии и промышленной экологии, профессор, главный специалист;

Глушакова Анна Марковна, кандидат биологических наук (03.02.03 – микробиология), Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», г. Москва, лаборатория почвенной микробиологии кафедры биологии почв Факультета почвоведения, младший научный сотрудник,

дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация Уфимский Институт биологии - обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, г. Уфа, в своем положительном заключении, подписанном Коршуновой Татьяной Юрьевной, доктором биологических наук, ведущим научным сотрудником лаборатории биотехнологии и Бакаевой Маргаритой Дмитриевной, кандидатом биологических наук, старшим научным сотрудником той же лаборатории указали, что диссертационная работа Храповой А.В. «Эпифитные дрожжи высших грибов как объекты для получения белковых кормовых продуктов» является законченной научно-квалификационной работой, методический уровень которой соответствует поставленным задачам. В диссертации, на основании проведенных автором исследований, предложено научно-обоснованное решение проблемы, имеющей большое народно-хозяйственное значение, а именно – поиска различных потенциальных источников белка, которые могут использоваться в качестве кормовой составляющей. По актуальности избранной темы, научной новизне полученных результатов, практической значимости, объему выполненных исследований, данная работа соответствует требованиям ВАК РФ пп. 9–14 «Положения о порядке присуждении учёных степеней», утверждённого Правительством РФ от 24.09.2013 г. № 842, с изменениями, опубликованными в Постановлениях Правительства РФ от 24.04.2016 г. № 335, от 02.06.2016 г. № 748, от 29.05.2017 г. № 650, от 28.08.2017 г. № 1024, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор, Храпова

Анна Викторовна, заслуживает присуждения искомой степени по специальности 03.02.03 – микробиология.

Соискатель имеет **19** опубликованных работ, в том числе по теме диссертации опубликовано **14** работ, из них в рецензируемых научных изданиях опубликовано **3** работы. Общий объем работ – 3,95 п. л.

Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:

1. **Храпова, А.В.** Скрининг новых штаммов дрожжей для получения кормового белка / **А.В. Храпова, О.Б. Сопрунова** // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2011. – Т. 13. – №. 5-3. – С. 210 – 213. РИНЦ ИФ=0.272, WoS(ZR). Количество цитирований: 6

2. **Храпова, А.В.,** Новые изоляты дрожжей как перспективные объекты для получения кормового белка на пивной барде / **А.В. Храпова, О.Б. Сопрунова** // Естественные и технические науки. – 2011. – №. 6. – С. 113 –117. РИНЦ ИФ=0.197, Chemical Abstract.

3. **Храпова, А.В.** Дрожжи как перспективные объекты микробиологического синтеза каротиноидов / **А.В. Храпова, О.Б. Сопрунова** // Естественные и технические науки. – 2018. – №. 10 (124). – С. 48 –51. РИНЦ ИФ=0.197 Chemical Abstract.

На диссертацию и автореферат поступило **4** положительных отзыва без замечаний от: **(1)** д-ра биол. наук **Юрия Викторовича Нестерова**, профессора кафедры физиологии, морфологии, генетики и биомедицины Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Астраханский государственный университет», г. Астрахань; **(2)** канд. биол. наук **Андрея Васильевича Щербакова**, научного сотрудника лаборатории экологии симбиотических и ассоциативных ризобактерий Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии», г. Санкт-Петербург, г. Пушкин; **(3)** канд. биол. наук **Юлии Викторовны Батаевой**, доцента кафедры биотехнологии, зоологии и аквакультуры Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Астраханский государственный университет», г. Астрахань; **(4)** д-ра биол. наук **Александра Ивановича**

Нетрусова, профессора кафедры микробиологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», г. Москва.

Выбор официальных оппонентов обосновывается тем, что д-р биол. наук **Градова Нина Борисовна** является признанным специалистом в сфере промышленной микробиологии и биотехнологии, имеет научные публикации в сфере исследований, соответствующей кандидатской диссертации Храповой А.В. (**J. Pure Appl. Microbiol.** – 2014. – Vol. 8. – N.5 – P.3555–3562; **Биотехнол.** – 2014. – N. 6. – С.18–26; **Appl. Biochem. Microbiol.** – 2015. – Vol. 51. – N. 9. – P. 873–880; **Изв. Горского гос. аграрн. универ.** – 2015. – Т. 52. – N.1. – С.228–234; **Бутлеровские сообщения.** – 2017. – Т.50. – N.5 – С.46–56; **Биотехнол.** – 2019. – Т. – 35. – N. 1. – С. 82–88);

канд. биол. наук **Глушакова Анна Марковна** является специалистом в области экологии дрожжевых грибов и имеет научные публикации в сфере исследований, соответствующей кандидатской диссертации Храповой А.В. (**Микробиол.** – 2015. – Т.84. –N.5. – С.612-615; 2017. – Т. 86. – № 2. – С. 239-246; 2017. – Vol. 86. – N. 6. – P. 786-792; 2018. – Vol. 87. – N 3. – P. 407-415; **Почвовед.** – 2016. – N. 7. – С. 857–861; **Klin. Lab. Diagn.** – 2017. – Vol. 62. – N. 5. – P. 296-300; **Успехи Мед. Микол.** – 2018. – Т. 19. – С. 98-103; **Eurasian Soil Sci.** – 2018. – Vol. 51. – N 4. – P. 460-466; **Gigiiena i sanitariia.** – 2018. – Vol. 97. – N.1. – P. 50–53; **Peer J.** – 2019. – Vol. 7. – P. 64-74; **Mycol. Progr.** – 2019. –Vol.18. – N 7. – P. 945-971; **IOP Conf. Ser.: Earth and Environ. Sci. (United Kingdom)** – 2019. – Vol. 368. – P. 01201).

Назначение ведущей организации обосновано широкой известностью ее достижений в области разработки биотехнологических процессов получения препаратов и продуктов, улучшающих состояние окружающей среды, препаратов для медицины, сельского хозяйства на основе культивирования бактерий, грибов, растительных клеток и тканей, наличием публикаций в сфере исследований, соответствующей кандидатской диссертации Храповой А.В. (**Вестн. Башкир. Универ.** –2015. – Т. 20. – N.1. – С. 115-118; **Изв. Уфимск. Науч. Центра РАН** – 2015. – N.4(1). – С. 22-24; **Прикл. Биохим. Микробиол.**

– 2016. – Т. 52. – N.5. – С. 520_н-526; **Изв. Уфимск. Науч. Центра РАН.** – 2017. – N.2. – С.45-49; 2017. – N.3. – С. 47-51; **Токсикол. вестник.** – 2017. – N.3. – С. 58–60; **Зоотехния.** – 2017. – N.7. – С. 22–26; **Микробиол.** – 2018. –Т. 87. –N. 5. – С. 599-609; **Экобиотех.** – 2018. –Т.1. –N.2. – С. 63–70; **Изв. УНЦ РАН.** – 2018. – N. 4. – С. 85– 89; **Экобиотех.** – 2019. – Т.2. – N.3. – С. 219–222; **World Journ. of Microbiol. and Biotech.** – 2019. – Vol.35, N. 2:18. – P.1– 13; **Chemistry of Heterocyclic Compounds.** – 2019. – Vol.55. – Iss.1. – P.31–37), а также наличием ученых, являющихся безусловными специалистами по теме диссертации Храповой А.В.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

разработана схема использования выделенных из природных источников и депонированных в Ведомственной коллекции полезных микроорганизмов ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии», г. Санкт-Петербург, г. Пушкин, штаммов дрожжей в качестве добавки к аквариумным кормам;

предложена процедура скрининга и молекулярно-генетической идентификации чистых культур дрожжей, включающая в себя комплекс микро- и макроморфологических, физиолого-биохимических исследований, изучение кинетики роста и оценку качества дрожжевой биомассы, и определение методом секвенирования по Сэнгеру прямой нуклеотидной последовательности фрагмента 18S ITS–региона рДНК;

доказано, что выделенные в ходе исследования культуры дрожжей способны активно накапливать биомассу (до концентрации 9×10^6 кл/мл) на питательных средах, содержащих побочные продукты производства пива;

установлена безопасность рассмотренных дрожжевых штаммов для живых организмов: отсутствие острой токсичности при введении пороговой дозы 1×10^{10} КОЕ/мышь, токсигенности - 1×10^7 КОЕ/мышь, вирулентности и диссеминации – при введении фильтратов трехсуточных (объем фильтрата 1,0 и 1,7 мл) и семисуточных (объем фильтрата 0,8 и 1,5 мл) бульонных культур.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

доказано, что в эпифитной микробиоте высших грибов Астраханской области присутствуют преимущественно виды дрожжей аскомицетового аффинитета: *Candida tanzawaensis*, *Clavispora lusitaniae* и *Wickerhamomyces anomalus*, за исключением вида *Rhodotorula mucilaginosa*, выделенного с поверхности плодового тела шампиньона *Agaricus* spp., имеющего базидиомицетовый аффинитет;

применительно к проблематике диссертации результативно использован комплекс существующих базовых методов исследования: микробиологических (выделение и культивирование чистых культур дрожжей, определение их культурально-морфологических и физиолого-биохимических свойств); молекулярно-генетических (секвенирование по Сэнгеру нуклеотидной последовательности фрагмента 18S ITS-региона рДНК); биохимических (определение массовой доли влажности, массовой доли золы, массовой доли сырого протеина); биологических (исследование острой токсичности, вирулентности, диссеминации, токсигенности) и статистических (с применением программы BioStat-2009 (Analist Soft Ins., США) и пакета программ Microsoft Excel).

изложены методические подходы, использованные для выделения культур эпифитных дрожжей и изучения их культурально-морфологических и физиолого-биохимических характеристик;

раскрыты закономерности кинетики роста дрожжевых культур на средах с добавлением глюкозы, мелассы и пивной барды, заключающиеся в стабильности стационарной фазы и интенсивности роста подавляющего большинства дрожжевых культур преимущественно на среде с мелассой;

изучены особенности роста дрожжей при жидкофазном глубинном культивировании и при периодическом культивировании в ферментере, которые сводятся к способности выделенных и охарактеризованных дрожжевых культур наращивать биомассу значительно быстрее, чем контрольный штамм *Candida tropicalis* СК-4-1;

проведено исследование безопасности выделенных и охарактеризованных штаммов *Rhodotorula mucilaginosa* AgIV, *Candida*

tanzawaensis TrP, *Clavispora lusitaniae* CmIII и *Wickerhamomyces anomalus* PhabV на мышах линии BALB/c: острой токсичности при введении пороговой дозы 1×10^{10} КОЕ/мышь не выявлено, способности к диссеминации и вирулентности при пороговой дозе 1×10^7 КОЕ/мышь не зафиксировано, высеваемости исследуемых культур из органов лабораторных мышей не отмечено, токсигенности не обнаружено.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:

разработаны и внедрены результаты апробации автолизата штамма *Rhodotorula mucilaginosa* AgIV в составе комбикорма для гуппи (*Poecilia reticulata*) и тилляпии нильской (*Oreochromis niloticus*) – Акты производственных испытаний на базе Инновационного центра «Биоаквапарк – НТЦ Аквакультуры», г. Астрахань, от 12.04.2019 г. и 15.04.2019 г. - региональный уровень внедрения;

выделенные и охарактеризованные штаммы дрожжей *Candida tanzawaensis* TrP, *Wickerhamomyces anomalus* PhabV, *Clavispora lusitaniae* CmIII и *Rhodotorula mucilaginosa* AgIV депонированы в Ведомственной коллекции полезных микроорганизмов сельскохозяйственного назначения Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии», г. Санкт-Петербург, г. Пушкин (Справки о депонировании №№ 484/10 - 487/10 от 22.10.2018 г.) - Федеральный уровень внедрения;

определены показатели качества биомассы исследуемых штаммов дрожжей согласно ГОСТ 20083-74 «Дрожжи кормовые. Технические условия»: массовой доли влажности (от 8,0 до 12,4 %), массовой доли золы (от 4,3 до 9,8 %), массовой доли сырого протеина (от 28,0 до 93,9 %);

созданы научно обоснованные рекомендации для использования биомассы штаммов *Rhodotorula mucilaginosa* AgIV, *Candida tanzawaensis* TrP, *Clavispora. lusitaniae* CmIII, *Wickerhamomyces anomalus* PhabV в качестве добавок к аквариумным кормам;

представлены результаты анализа нуклеотидных последовательностей фрагмента 18S ITS–региона рДНК выделенных и идентифицированных в ходе исследования дрожжевых штаммов.

Оценка достоверности результатов исследования выявила, что:

результаты получены при использовании большого количества экспериментального материала, который обеспечивает репрезентативность выборок;

идея диссертационного исследования об использовании эпифитных дрожжей высших грибов в качестве объектов для получения белковых кормовых продуктов опирается на анализ имеющихся в научной литературе экспериментальных и теоретических данных, обобщении опыта ведущих исследовательских групп по изучению источников биоразнообразия дрожжей и применению функциональных добавок на основе дрожжевого белка;

установлена качественная оценка биомассы дрожжевых штаммов: массовая доля влажности (от 8,0 до 12,4 %), массовая доля золы (от 4,3 до 9,8 %), массовая доля сырого протеина (от 28,0 до 93,9 %), демонстрирующие преимущество выделенных и охарактеризованных в ходе исследования штаммов, по сравнению с контрольным промышленным штаммом *Candida tropicalis* СК-4-1, используемым в качестве продуцента кормового белка при культивировании на питательных средах, содержащих отходы промышленного производства - торф, отруби, меласса, барда и др.;

использованы программы статистической обработки результатов и визуализации полученных данных BioStat-2009 (Analist Soft Ins., США) и Microsoft Excel.

Личный вклад соискателя состоит в

проведении автором следующих этапов работы: самостоятельный информационный поиск, анализ теоретических источников, выполнение микробиологических, химических, биологических исследований, оформление первичной документации и статистическая обработка полученных экспериментальных результатов. Вместе с научными руководителями были сформулированы цель и задачи работы, проанализированы и обобщены полученные результаты экспериментов.

