

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 16.12.2016 г. № 18  
о присуждении Клыковой Марине Викторовне, гражданке РФ, ученой  
степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Биологическое обоснование использования штамма *Pseudomonas chlororaphis* Vsk-26a3 в качестве продуцента антимикробных препаратов» по специальностям 03.02.03 – микробиология и 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии) принята к защите 10.10.2016 г., протокол № 13 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 Клыкова Марина Викторовна 1961 года рождения в 1985 г. окончила Московский ордена Трудового Красного Знамени технологический институт пищевой промышленности по специальности «Технология микробиологических производств», работает в Федеральном бюджетном учреждении науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Федеральной службы по надзору в сфере

защиты прав потребителей и благополучия человека, отдел биологических технологий, научный сотрудник.

Диссертация выполнена в отделе биологических технологий Федерального бюджетного учреждения науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

Научный руководитель – кандидат биологических наук Дунайцев Игорь Анатольевич, Федеральное бюджетное учреждение науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека Российской Федерации, ведущий научный сотрудник отдела биологических технологий.

Научный консультант – доктор биологических наук Коломбет Любовь Васильевна, Федеральное бюджетное учреждение науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека Российской Федерации, заведующая научной частью.

Официальные оппоненты:

Нугманова Татьяна Алексеевна – доктор технических наук, профессор, академик РАЕН, Общество с ограниченной ответственностью «Биоин-Ново», Москва, директор;

Соколов Михаил Сергеевич – академик РАН, доктор биологических наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт фитопатологии», Московская обл., п. Большие Вяземы, научный консультант, дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация Федеральное бюджетное государственное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений», Санкт-Петербург, г. Пушкин, в своем положительном

заключении, подписанном доктором биологических наук Новиковой Ириной Игоревной, ведущим научным сотрудником лаборатории микробиологической защиты растений, и кандидатом биологических наук Бойковой Ириной Васильевной, ведущим научным сотрудником той же лаборатории, указала, что диссертация является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение поставленных задач, имеющих существенное значение для теоретической и прикладной микробиологии и биотехнологии. Она полностью соответствует требованиям пунктов 9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней и присвоения ученых званий», утверждённого постановлением Правительства РФ № 842 от 24 сентября 2013 г., предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук. Диссертационная работа М.В. Клыковой имеет как теоретическую, так и практическую значимость. Представленная к защите диссертация соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а её автор Марина Викторовна Клыкова заслуживает присуждения ей ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 03.02.03 – микробиология и 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии).

Соискатель имеет 34 опубликованные работы, в том числе по теме диссертации 18 работ, в том числе опубликованных в рецензируемых научных изданиях - 5 статей и 3 патента, а также 11 работ, опубликованных в материалах научных конференций и симпозиумов.

Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:

1. Дунайцев, И.А. Фосфатмобилизующие микроорганизмы – антагонисты фитопатогенов / И.А. Дунайцев, Л.В. Коломбет, С.К. Жиглецова, Е.В. Быстрова, С.Г. Бесаева, **М.В. Клыкова**, Т.Н. Кондрашенко // **Микол. Фитопатол.** - 42, вып. 3.- 2008.- С. 264-269.

2. Дунайцев, И.А. Эффективность экспериментальных образцов микро-

биологических фосфорных удобрений на ячмене. / И.А. Дунайцев, А.А. Старшов, В.В. Перелыгин, **М.В. Клыкова**, Т.Н. Кондрашенко. // **Агро XXI**.- 2008. - №1-3. - С. 35-36.

3. Жиглецова, С.К. Высвобождение фосфатов из нерастворимого минерального сырья грибами рода *Trichoderma* - антагонистами фитопатогенов. / С.К. Жиглецова, А.А. Старшов, И.А. Дунайцев, Т.Н. Кондрашенко, **М.В. Клыкова**, А.В. Ариповский, Л.В. Коломбет // **Имунопатол. Аллергол. Инфектол.**-2009.- № 1.- С. 81-82.

4. Жиглецова, С.К. Совместное использование микроорганизмов с фосфат растворяющими и фунгицидными свойствами для повышения урожайности и защиты зерновых культур от фузариозов / С.К. Жиглецова, А.А. Старшов, **М.В. Клыкова**, Т.Н. Кондрашенко, О.А. Антошина, И.А. Дунайцев, Л.В. Коломбет // **Агрехимия**.- 2015.- № 7.- С. 49-57.

5. Дунайцев, И.А. Эффективность использования фосфатрастворяющих микроорганизмов в составе гранулированных биоудобрений с фосфатной рудой. / И.А. Дунайцев, А.Н. Сомов, С.Н. Вирясов, А.А. Старшов, Т.Н. Кондрашенко, **М.В. Клыкова**, С.К. Жиглецова // Политем. сетевой эл. научн. ж-л Кубанского государственного аграрного университета [Электронный ресурс]. – Краснодар: **КубГАУ**, 2016. – №03(117). – IDA [article ID]: 1171603014. – Режим доступа: <http://ej.kubagro.ru/2016/03/pdf/14.pdf>. - 18с.

На диссертацию и автореферат поступили положительные отзывы от: (1) доктора технических наук **Медведевой Надежды Григорьевны**, заведующей лабораторией биологических методов экологической безопасности Санкт-Петербургского научно-исследовательского центра экологической безопасности РАН, г. Санкт-Петербург, содержит замечания: 1. «Автор характеризует штамм *P. chlororaphis* Vsk-26a3 как впервые выделенный, что не вполне корректно, т.к. штамм не выделен автором, а отобран из числа ранее выделенных коллекционных культур»; 2. «Требует

пояснения, каким образом с помощью газовой хроматографии идентифицировали основную антимикробную фракцию как 2,4-ДАФГ»; (2) кандидата биологических наук **Сарычевой Ларисы Михайловны**, менеджера по развитию сотрудников технического маркетинга ООО «Сингента», г. Москва, содержит замечание: «При представлении и описании результатов полевых испытаний при искусственном заражении озимой пшеницы возбудителем *M. nivale* было бы более показательным отразить данные по степени поражения посевов снежной плесенью»; (3) доктора технических наук **Белова Алексея Алексеевича**, доцента кафедры биотехнологии РХТУ им. Д.И. Менделеева, г. Москва, содержит замечание: «Не все сокращения приведены в списке принятых сокращений, и трудно читаемы графики»; (4) кандидата биологических наук, старшего научного сотрудника **Самойленко Владимира Александровича**, заведующего центром экспериментальной биотехнологии Института биохимии и физиологии микроорганизмов им. Скрябина РАН, г. Пущино, содержит замечание: «При перечислении наиболее опасных для Российской Федерации в настоящее время фитопатогенных микроорганизмов целесообразно дополнить перечень бактериями *Erwinia amylovora* и *Acidovorax citrulli*, отмеченными специалистами Всероссийского центра карантина растений как наиболее опасные»; (5) доктора медицинских наук, профессора **Бурмистровой Александры Леонидовны**, декана биологического факультета, заведующего кафедрой микробиологии, иммунологии и общей биологии Челябинского государственного университета - не содержит замечаний; (6) доктора биологических наук **Назиной Тамары Николаевны**, заведующей лабораторией нефтяной микробиологии Федерального исследовательского центра Биотехнологии РАН и кандидата геолого-минералогических наук **Борзенкова Игоря Анатольевича**, старшего научного сотрудника той же лаборатории, содержит замечания: 1. «В целях исследования указан поиск... Поиск не может быть целью исследования,

точнее было бы ... Выделить новый психрофильный штамм. Не понятно, почему штамм новый, если он отобран из коллекции»; 2. «Исходя из представленных данных, штамм правильнее характеризовать как психротолерантный или психроактивный»; 3. «В настоящее время идентификация требует использования также данных по сиквенсу гена 16S рРНК».

Выбор официальных оппонентов обосновывается тем, что доктор технических наук, профессор, академик РАЕН Нугманова Т.А. является компетентным специалистом в сфере разработки и применения биопрепаратов для производства и хранения сельскохозяйственных продуктов, а также имеет научные публикации в сфере исследований, соответствующей кандидатской диссертации Клыковой М.В. (**Картофель и овощи. - 2014. – Т. 10. - С. 23; Картофель и овощи. – 2016. - №.8.- С. 2; Пат. РФ № 2302303, 2011; Акт. Пробл. Инновац. Совр. Вет. Фарм. Токсикол. - Витебск, 2015. - ISBN 978-985-512-837-4; Сборн. Науч. Труд. РАЕН, 2015. - ISBN 978-5-94515-150-5**); академик РАН, доктор биологических наук, профессор Соколов М.С. является признанным специалистом в области защиты растений, экологической токсикологии, санитарно-гигиенических и экологических аспектов производства трансгенных растений и имеет научные публикации в сфере исследований, соответствующей кандидатской диссертации Клыковой М.В. (**Агробизн. Экол. - 2015. - Т. 1. - № 1. - С. 4-7.; Int. J. Environ. Probl. - 2015. - № 2 - С. 78-96; Biogeosyst. Tech. - 2015. - № 1 - С. 29-49; Rus. J. Agricult. Socio-Econ. Sci. - 2015. - Т. 48. - № 12. - С. 3-9; Плодовод. Ягод. Росс. - 2015. - Т. XXXXIII. - С. 184-190; Агрохим. - 2015. - № 5. - С. 96; Агрохим. - 2015. - №3. - С. 3-9; Агрохим. - 2016. - № 1. - С. 3-16**).

Назначение ведущей организации обосновано широкой известностью ее достижений в области укрепления продовольственной безопасности России путем создания и внедрения фитосанитарного мониторинга,

биорациональных пестицидов, биопрепаратов и естественных механизмов регуляции численности вредных организмов. (**Биотехнол.** - 2014. - № 1. - С. 32-37; **Вестн. Защит. Раст.** - 2015. - Т. 85. - № 3. - С. 10-15; **Сельскохозяйств. Биол.** - 2015, - Т. 50. - № 5, - С. 641-647; **Защит. Карант. Раст.** - 2015. - № 5. - С. 38-71; **Сельскохозяйств. Биол.** - 2016. - Т. 51. - № 1. - С. 111-118; **Защит. Карант. Раст.** - 2016. - № 8. - С. 35-43; **Вестн. Защит. Раст.** - 2016. - Т. 87. - № 1. - С. 14-21).

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

введены новые понятия о механизме мобилизации штаммом *P. chlororaphis* Vsk-26a3 фосфора из фосфатных руд, а именно - растворение фосфатов из нерастворимого минерального сырья происходит за счет синтеза группы глюконовых кислот; а также об основном механизме антагонистического действия штамма - за счёт одновременного синтеза нескольких антимикробных метаболитов;

доказана антифунгальная активность штамма *P. chlororaphis* Vsk-26a3 при низких температурах (2÷8) °С, синтез клетками штамма не менее семи антимикробных компонентов, совместимость препарата с основными агрохимикатами;

разработана технология создания экспериментального образца биопрепарата для сельского хозяйства на основе штамма *P. chlororaphis* Vsk-26a3 - антагониста микробных патогенов;

предложено использование биопрепарата на основе штамма *P. chlororaphis* Vsk-26a3 против психрофильных грибных патогенов, в частности, возбудителя снежной плесени *Microdochium nivale*;

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

доказано расширение границ применения антимикробных метаболитов, синтезируемых штаммом *P. chlororaphis* Vsk-26a3 против грибных и бактериальных патогенов человека и животных;

применительно к проблематике диссертации эффективно использованы микробиологические методы (идентификация бактерий, культивирование микроорганизмов, определение фосфатрастворяющих и антагонистических свойств микроорганизмов, культивирование в присутствии химических пестицидов), биотехнологические методы (оптимизация питательных сред и условий культивирования, выделение, концентрирование и высушивание отдельных компонентов, обеспечивающих основные биологические свойства микроорганизма), биохимические методы (определение питательных потребностей с помощью тест-систем, определение чувствительности к трипсину), физико-химические методы (УФ-спектрометрия, тонкослойная и газовая хроматография, хромато-масс-спектрометрия), биологические методы (полевые деляночные испытания, оценка безвредности бактериального штамма для животных в экспериментах *in vivo*, определение фитотоксичности), а также методы статистической обработки данных;

изложены доказательства высоких показателей фосфатрастворяющей способности и антимикробной активности штамма *P. chlororaphis* Vsk-26a3;

раскрыта проблема увеличения выхода антимикробных веществ при глубинном культивировании штамма, заключающаяся в лимитировании данного показателя продуктами собственного метаболизма;

изучена зависимость синтеза антимикробных веществ от состава питательной среды, pH и температуры культивирования;

проведена модернизация процесса оптимизации питательных сред и условий культивирования с помощью программного обеспечения IMMD (интегрированная математическая модель развития).

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

разработаны и внедрены: лабораторный технологический регламент ЛР 78095326-153-2015 от 17.12.15 на получение биопрепарата на основе штамма *Pseudomonas chlororaphis* Vsk-26a3 (учрежденческий уровень внедрения);

определены перспективы практического использования штамма *P. chlororaphis* Vsk-26a3 в качестве продуцента антимикробных препаратов для борьбы с фитопатогенами и возбудителями болезней человека и животных;

штамм *P. chlororaphis* Vsk-26a3 депонирован в Государственной коллекции патогенных микроорганизмов «ГКПМ-Оболенск» - справка о депонировании № 7427 от 9 сентября 2013 г. (федеральный уровень внедрения);

получено положительное решение о выдаче патента «Фосфатрастворяющий штамм *Pseudomonas chlororaphis* ssp. *chlororaphis* с фунгицидными свойствами» от 21.09.2016 г. по заявке №2015152834 RU (федеральный уровень внедрения);

проведены четыре независимых полевых испытания, получены акты об их проведении от Государственного научного учреждения «Рязанский научно-исследовательский институт сельского хозяйства» по договорам № 402/2013 и № 403/2013 от 6 мая 2013 г., а также Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Рязанский государственный агротехнологический университет имени П.А. Костычева» по договорам № 918/13 (23-2013) от 1 декабря 2013 г. и № 210К/2014 от 21 декабря 2014 г. (межведомственный уровень внедрения);

представлены предложения по использованию IMMD программного обеспечения для контроля процесса культивирования.

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

результаты исследования получены в экспериментах с использованием сертифицированного оборудования и программного обеспечения, современных методов исследований;

идея диссертационного исследования базируется на анализе имеющихся в литературе данных об актуальности исследований, касающихся

роли ризосферных бактерий-антагонистов в получении новых антимикробных средств, разработке технологий производства биопрепаратов для сельского хозяйства и защиты окружающей среды;

использовано сравнение авторских данных с опубликованными ранее в научной литературе - относительно показателей штамма *Pseudomonas chlororaphis* Vsk-26a3 по растворению фосфора из руд, степени антагонистической активности при температурах +28 °С и +8 °С, по влиянию экспериментального образца биопрепарата на урожайность в полевых деляночных испытаниях с применяемым в настоящее время биопрепаратом Фитоспорин (г. Уфа, БашИнком) и химическими протравителями семян – Виал ТТ (ЗАО «Август», Россия) и Максим экстрим (ЗАО «Август», Россия);

установлено совпадение полученных автором результатов о том, что представители бактерий рода *Pseudomonas* являются не только антагонистами почвенных патогенов, за счет синтеза широкого спектра антимикробных метаболитов и антибиотиков, но также значительно стимулируют рост растений, улучшая их фосфорное питание, с опубликованными ранее в научной литературе данными других авторов;

использованы современные методы получения и обработки информации.

Личный вклад соискателя состоит в:

планировании и выполнении экспериментов по выделению активного психрофильного штамма-антагониста *P. chlororaphis* Vsk-26a3, по его идентификации и исследовании антимикробных, ростостимулирующих и фосфатрастворяющих свойств, по выявлению механизмов противомикробного действия и фосфатрастворения, выбору питательных сред и условий культивирования штамма и изготовлению на его основе экспериментальных образцов биопрепаратов, а также в подготовке научных публикаций по результатам исследований. Совместно с сотрудниками Государственного научного центра прикладной микробиологии и

биотехнологии к.х.н. Ариповским А.В., к.х.н. Жиглецовой С.К., н.с. Кондрашенко Т.Н., к.ф.-м.н. Суриным А.К. и м.н.с. Детушевым К.В. автор принимала участие в проведении экспериментов по идентификации штамма с помощью прибора MALDI-TOF Biotyper, определению активных метаболитов на хроматографе HP5890, выявлению состава и структуры основного антимикробного метаболита на хромато-масс-спектрометре TSQ 8000. Полевые деляночные испытания проведены совместно с к.с.-х.н. Антошиной О.А. - сотрудницей Рязанского научно-исследовательского института сельского хозяйства.

На заседании 16.12.2016 г. диссертационный совет принял решение присудить Клыковой М.В. ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве **19** человек, из них **9** докторов наук по специальности 03.02.03 – микробиология и **9** докторов наук по специальности 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии), участвовавших в заседании, из **23** человек, входящих в состав совета, проголосовали: за **19**, против **нет**, недействительных бюллетеней **нет**.

Председатель

диссертационного совета \_\_\_\_\_ (Дятлов Иван Алексеевич)

Ученый секретарь диссертационного

совета \_\_\_\_\_ (Фурсова Надежда Константиновна)

Дата оформления Заключения – 16.12.2016 г.

Печать организации, на базе которой создан диссертационный совет.