

Утверждаю
Директор Федерального государственного бюджетного
учреждения науки Федерального исследовательского центра
«Саратовский научный центр Российской академии наук»
(ФИЦ СЦ РАН)

доктор физико-математических наук

Б.Н. Хлебцов

«01» декабря 2025 г.



ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра «Саратовский научный центр Российской академии наук», г. Саратов на диссертационную работу **Ляховченко Никиты Сергеевича «Биотехнология получения виолацена на основе бактерии *Janthinobacterium lividum* для производства биопрепаратов с антимикробной активностью»**, представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.6. «Биотехнология».

Актуальность темы диссертационной работы

В настоящее время достижения биотехнологии – один из ключевых факторов для обеспечения национальной безопасности, продовольственной и энергетической независимости нашей страны. Исследование Ляховченко Н.С. соответствует задачам биотехнологии, так как предлагает ответ на вызов «Стратегии научно-технического развития РФ», обеспечивая вклад в переход к высокопроизводительному и экологичному сельскому хозяйству. В настоящее время тренд на биологизацию технологий растениеводства – это один из таких вызовов: по данным Государственного каталога пестицидов, ассортимент микробных биопрепаратов за последние годы вырос на 40,39%, что в 4 раза превышает темпы роста химических средств (12,5%). Ожидается, что к 2030 году объем рынка биопрепаратов превысит 311,2 млрд рублей. Одна из причин такой динамики – это развитие органического производства, регламентированное Федеральным законом № 280-ФЗ. К 2030 году потребление органической продукции должно достичь 149,8 млрд рублей, а площадь соответствующих земель – 4,2 млн га. Числа производителей в реестре (с 203 до 237 за август-декабрь 2024 года) подтверждают эту тенденцию. Для дальнейшего расширения ассортимента антифунгальных препаратов необходим поиск новых микроорганизмов-антагонистов патогенов растений.

Диссертационная работа Ляховченко Н.С. посвящена выделению и характеристике штамма бактерий *Janthinobacterium lividum* ВКМ В-3705D, изучению признаков рода, получению фракции пигмента – виолацеина и изучению его биотехнологической значимости для практического применения микроорганизма и его биологически активного соединения.

В этой связи, результаты исследований Ляховченко Никиты Сергеевича выделенного и идентифицированного штамма *J. lividum* ВКМ В-3705D как потенциального компонента биопрепаратов, несомненно, актуальны и имеют большое практическое значение.

Анализ содержания, оформления работы и ее завершенность

Диссертация изложена на 189 страницах машинописного текста, содержит 46 рисунков, 23 таблицы и 32 формулы. Структура диссертации состоит из введения, обзора литературы, объектов и методов исследований, результатов и обсуждения, заключения, выводов, списка литературы, состоящего из 211 наименования, в том числе 188 на иностранном языке, и приложений. В диссертации представлены результаты теоретических и экспериментальных исследований, которые содержат информацию для решения поставленных задач.

Во **Введении** обоснована актуальность и степень разработанности темы диссертационной работы, определены цель и задачи исследования, отражены научная новизна, практическая значимость, а также сведения об апробации работы на различных научных конференциях и публикациях по теме диссертации.

В **Обзоре литературы (глава первая)** автор проводит анализ современных данных о микробных пигментах, акцентируя внимание на их защитных функциях, включая УФ-протекторную и антимикробную активность, и подробно останавливаясь на биосинтезе и биотехнологическом потенциале виолацеина, обусловленного его противоопухолевыми, антиоксидантными и противомикробными свойствами. Этот теоретический анализ позволил грамотно подойти к формулировке целей и задач, а также к выбору объектов и методов исследования.

Во **второй** главе «**Материалы и методы**» приведено детальное описание методик, где сочетание классических микробиологических подходов с современными молекулярно-генетическими и биохимическими методами свидетельствует о высоком научном уровне планируемых экспериментов.

Глава третья содержит **Результаты и обсуждение** исследований соискателя. Автором из воды реки Везёлка был выделен и с достоверностью 95,0% (методом анализа

16S рРНК) идентифицирован штамм *Janthinobacterium lividum*, который впоследствии был депонирован во Всероссийскую коллекцию микроорганизмов под номером ВКМ В-3705D. Существенным вкладом в таксономию стала расширенная характеристика данного штамма, в рамках которой было выявлено 39 новых для рода *Janthinobacterium* фенотипических признаков.

Важным практическим результатом стало исследование роста штамма в условиях периодического глубинного культивирования. Показано, что увеличение объема питательной среды с 1000 мл до 7000 мл оказывает значительное стимулирующее влияние на кинетические параметры роста: длительность лаг-фазы сократилась на 57,6%, удельная скорость роста и скорость деления клеток увеличились на 8,7% и 9,0% соответственно, а время удвоения биомассы снизилось на 7,8%. При этом биомасса лиофильно высушенной культуры возросла в 6,9 раза. Автор обоснованно предполагает, что столь значительное улучшение параметров роста связано с созданием более оптимальных условий культивирования. При этом отмечается, что выход целевого продукта – виолацеина – увеличился лишь в 4,2 раза, что позволило выдвинуть гипотезу о возможном ингибировании его биосинтеза из-за изменения условий аэрации и перемешивания в большем объеме.

Исследование биологической активности показало высокую эффективность штамма и его метаболитов. Так, при совместном культивировании с *J. lividum* ВКМ В-3705D скорость роста тест-культур аскомицетов *Aspergillus unguis* ВКМ F-1754 и *Alternaria brassicicola* ВКМ F-1864 снизилась на 53,7% и 46,3% соответственно, а удельный прирост бактерии *C. michiganensis* – на 36,4%. Более того, *in vitro* эксперименты подтвердили, что фракция виолацеина подавляет активность фермента АТФ-азы бесклеточного экстракта *C. michiganensis* на 22,0%.

Наиболее значимыми с практической точки зрения являются результаты, демонстрирующие выраженный дозозависимый противоопухолевый эффект виолацеина. Наибольшая чувствительность к пигменту была выявлена у клеточной линии HeLa (карцинома шейки матки), где значение полумаксимальной ингибирующей концентрации (IC_{50}) составило 504,02 мкМ, а при концентрации 1000 мкМ жизнеспособность клеток снижалась на 99,6%. Для лимфоидных линий (Jurkat, Raji, TF-1) эффект был умеренным.

В завершении работы все полученные результаты обобщены и корректно интерпретированы, сформулированы четкие научные и практические положения. Проведенное исследование, его методический уровень, глубина проработки материала и значимость полученных результатов убедительно свидетельствуют о полном достижении поставленной цели и успешном решении всех задач диссертации.

Теоретическая и практическая значимость результатов диссертационных исследований. Проведенная автором работа вносит существенный вклад в получение новых и расширение существующих знаний о бактериях рода *Janthinobacterium*, в том числе выявлены новые признаки бактерий рода *Janthinobacterium*, получены новые сведения об особенностях роста культуры в условиях биореакторной системы в однокомпонентной жидкой питательной среде, а также о противомикробной активности *J. lividum* в отношении некоторых тест-культур при совместном культивировании и ингибировании активности АТФ-азы штамма *S. michiganensis* ВКМ Ас-1402 в присутствии фракции виолацеина. Эти данные в совокупности вносят вклад в теоретические представления о функциональной роли микробных пигментов и открывают новые направления для исследований в областях микробиологии и биотехнологии.

Важным результатом работы стала адаптация и усовершенствование методик как индивидуального, так и совместного культивирования микроорганизмов, которые могут быть востребованы в дальнейших исследованиях в этой области.

Практическая значимость диссертации определяется перспективой применения ее результатов в сельском хозяйстве. Выявленная высокая бактериостатическая активность штамма в отношении опасного фитопатогена *S. michiganensis* ВКМ Ас-1402 создает основу для разработки новых эффективных и экологически безопасных биопрепаратов для защиты растений.

Представленное исследование производит положительное впечатление. Автором собран и проанализирован обширный массив экспериментальных данных, планирование экспериментов и обработка результатов проведены на высоком методическом уровне с применением современных статистических методов. Все поставленные задачи решены в полном объеме, а положения, выносимые на защиту, подтверждены полученными результатами. Результаты исследований Ляховченко Н.С. опубликованы в 17 научных работ: из них 1 статья в рецензируемом научном издании из перечня ВАК Минобрнауки России, 3 статьи, индексируемых в базах данных научного цитирования Scopus, РИНЦ, 2 статьи в сборниках материалов конференций, индексируемых в международных базах данных научного цитирования (Scopus, РИНЦ). Опубликовано 7 тезисов и материалов конференций (индексируемых РИНЦ). Получено 4 свидетельства охраны результатов интеллектуальной собственности (патентов).

При ознакомлении с текстом диссертации возникли следующие замечания:

1. На стр. 6 автор перечисляет тест-объекты: плесневые грибы *Alternaria brassicicola*, *Aspergillus unguis* и *Clavibacter michiganensis*. Неудачная фраза, из которой следует, что *Clavibacter michiganensis* тоже относится к плесневым грибам.

2. На наш взгляд следовало структурировать главу 1.1. После описания функций пигментов нет перехода к их медицинскому использованию. Возможно, излишне подробно описаны онкологические заболевания и разработка противоопухолевых препаратов.
3. Более корректным является термин «антифунгальная активность», а не «противогрибковая».
4. Автору следовало бы выделить главу Заключение. По смыслу это обобщающие комментарии на стр. 146-149: «Таким образом, из реки Везелка, г. Белгород был выделен....»

Также возник ряд вопросов:

1. Чем обоснован выбор *Clavibacter michiganensis*, *Alternaria brassicicola* и *Aspergillus unguis* в качестве тест-объектов?
2. Автор пишет о снижении активности АТФ-азы из *C. michiganensis* в присутствии виолацеина. Будет ли подобный эффект пигмента на АТФ-азы из грибов?
3. Был выделен единственный штамм, продуцирующий пигмент из р. Везелка? Какой критерий для скрининга был использован?
4. Как определялась концентрация пигмента (таблицы 6 и 8)? Был использован коммерческий препарат этого пигмента для построения калибровочной кривой?
5. На стр. 98 автор отмечает, что пигмент тесно связан с клетками. Наличие ПАВ способствует отделению пигмента от поверхности клетки или его биосинтезу, о чем автор упоминает далее?

Следует отметить, что высказанные замечания и вопросы не затрагивают существа полученных автором результатов и сделанных в работе выводов, не умаляют общего хорошего впечатления от рецензируемой работы и не снижают высокой оценки представленных результатов.

Заключение

Таким образом, диссертация Ляховченко Никиты Сергеевича «Биотехнология получения виолацеина на основе бактерии *Janthinobacterium lividum* для производства биопрепаратов с антимикробной активностью» является самостоятельной, законченной научно-квалификационной работой и соответствует требованиям, изложенным в п.9-14 Положения «О порядке присуждения учёных степеней», утвержденного Постановлением правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842 (в ред. 16.10.2024), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор заслуживает присуждение ученой степени кандидата биологических наук по

специальности 1.5.6. «Биотехнология». Настоящий отзыв обсужден и утвержден на заседании лаборатории экологической биотехнологии ИБФРМ РАН 1 декабря 2025 года протокол № 8.

Муратова Анна Юрьевна

доцент, доктор биологических наук (специальность 03.02.03 – Микробиология)
заведующий лабораторией экологической биотехнологии Института биохимии и физиологии растений и микроорганизмов – обособленного структурного подразделения
Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального
исследовательского центра «Саратовский научный центр Российской академии наук»
410049, г. Саратов, проспект Энтузиастов 13

телефон: +7 (8452) 97-04-44

E-mail: muratova_a@ibppm.ru  /Муратова А.Ю./

Позднякова Наталия Николаевна

доктор биологических наук (специальность 03.01.04 – Биохимия)
ведущий научный сотрудник лаборатории экологической биотехнологии Института биохимии и физиологии растений и микроорганизмов – обособленного структурного подразделения
Федерального государственного бюджетного учреждения науки
Федерального исследовательского центра «Саратовский научный центр Российской академии наук»

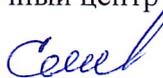
410049, г. Саратов, проспект Энтузиастов 13

телефон: +7 (8452) 97-04-44

E-mail: pozdnykova_n@ibppm.ru  /Позднякова Н.Н./

Подписи А.Ю. Муратовой и Н.Н. Поздняковой заверяю
ученый секретарь Федерального исследовательского центра
«Саратовский научный центр Российской академии наук»

к.б.н.



/Селиванова О.Г./

01.12.2025 г.

