

Отзыв

официального оппонента Тепляковой Тамары Владимировны на диссертацию Минакова Дениса Викторовича «Влияние эколого-биохимических параметров биоконверсии растительного сырья на выход биомассы плодовых тел ксилотрофных базидиомицетов», представленную к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.08 – Экология (биология)

Актуальность темы

Грибы – важнейший компонент лесных биогеоценозов. Они являются активнейшими разрушителями лигнина и целлюлозы, поэтому исследования этой группы организмов – ключевой момент в познании механизмов формирования и функционирования блока микроконсументов лесных экосистем. Во многих странах мира сейчас широко используется биоконверсия растительных субстратов с использованием высших базидиальных грибов, обеспечивающих существование и функционирование безотходных и ресурсосберегающих технологий в промышленности и сельском хозяйстве.

Хотя до сих пор для получения лекарственных препаратов используются плодовые тела дикорастущих грибов, но развитие отрасли грибоводства, как источника получения пищи, способствовало тому, что в развитых странах культивируют около 20 видов грибов. Развитию этого направления способствовало увеличение антропогенной нагрузки на природные местообитания грибов, приводящей к истощению ресурсов и загрязнению окружающей среды различными токсикантами. Появились интенсивные технологии выращивания грибов на отходах сельскохозяйственного и лесного производства (солома, подсолнечная лузга, костра льна, опилки).

В России ассортимент культивируемых грибов пока невелик, но постепенно расширяется, кроме шампиньонов (*Agaricus bisporus*) и вешенок (*Pleurotus ostreatus*) в отдельных регионах выращивают шиитаке (*Lentinula edodes*). Грибные биотехнологии являются экономически и экологически целесообразными, так как

после получения плодовых тел субстраты могут использоваться в качестве удобрений или добавок в корм животным.

Для развития грибных биотехнологий в России необходимы знания об экологических условиях, характерных для произрастания видов в природных условиях, а также при их интродукции в культуру.

Представленная к защите диссертационная работа Минакова Дениса Викторовича посвящена актуальной для биологической науки проблеме – изучению влияния экологических и биохимических факторов на разработку технологичных методов производства ксилотрофных базидиомицетов *Armillaria mellea*, *Lentinula edodes* и *Grifola frondosa*, используемых в качестве пищевых продуктов или лекарственного сырья.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации, их достоверность и новизна

Автором проведен литературный и патентный поиск по теме исследований, большое внимание уделено работам по влиянию абиотических факторов и биологически активных соединений на рост и развитие ценных видов грибов-ксилотрофов: опенка осеннего *Armillaria mellea*, шиитаке *Lentinula edodes* и майтаке *Grifola frondosa*.

Цель работы Минакова Д.В. поставлена обоснованно и четко, задачи сформулированы в соответствии с поставленной целью, охватывают большой круг практических вопросов.

Диссертационная работа Минакова Д.В., без сомнения, имеет большую теоретическую и практическую значимость. Автором изучены экологобиохимические параметры роста грибов-ксилотрофов и разработаны методы интенсивного культивирования с целью создания технологий на лигноцеллюлозных отходах растительного сырья Алтайского края. Определены физико-химические свойства хитозан-глюкановых комплексов, выделенных из плодовых тел грибов. Особую значимость имеют исследования, посвященные установлению возможности использования биомассы мицелия и плодовых тел

грибов в качестве белковых пищевых добавок в экономически эффективном производстве продуктов питания и кормовых добавок.

Эти данные имеют, несомненно, фундаментальное значение для развития экологических подходов к сельскому хозяйству и развития малоотходных безотходных технологий. Новизна технических решений подтверждается двумя патентами на изобретение (Патент РФ №2586483 «Питательная среда для глубинного культивирования мицелия *Armillaria mellea*», патент РФ №2595737 «Субстрат для выращивания грибов *Grifola frondosa*»).

Для решения поставленных задач Минаков Д.В. использует комплекс современных экологических, микологических, микробиологических, химических и физико-химических методов исследований с использованием современного оборудования, что указывает на высокий профессиональный уровень подготовки диссертанта.

Обоснованность научных положений диссертации, выводов и рекомендаций, их достоверность и новизна подтверждены достаточным объемом экспериментальной работы, анализом полученных результатов с использованием методов статистики, в том числе компьютерных программ «Microsoft Excel 2010» и «Microsoft Word 2010».

Все это дает основание считать результаты и сформулированные автором выводы и рекомендации достоверными.

Значимость для науки и производства

Научно-практическое значение диссертационной работе заключается в получении экспериментальных данных по влиянию эколого-биохимических факторов на рост и развитие мицелия и плодовых тел на примере 3-х видов базидиальных грибов, являющихся источниками пищевых и лекарственных продуктов. Разработанные технологии выращивания грибов на растительных субстратах могут использоваться в организации малоотходных производств на основе биоконверсии лигноцеллюлозных отходов. В условиях опытно-промышленного производства ООО «Биотехнологии переработки облепихи» были подтверждены практические результаты работы.

Предложенные подходы к процессу получения плодовых тел грибов-ксилотрофов с использованием лигноцеллюлозных отходов сельского и лесного хозяйств, абиотических и биотических факторов, способствуют экономии капиталозатрат и сокращают продолжительность технологических стадий.

В работе показана возможность использования мицелия и плодовых тел грибов *A. mellea* D-13, *L. edodes* F-1000 и *G. frondosa* 2639 для получения полезных для здоровья человека продуктов питания, биопрепаратов и кормовых добавок для сельскохозяйственной птицы.

С практической стороны проведенная диссертантом работа представляет несомненный интерес в связи с обоснованностью рекомендаций по методам получения плодовых тел грибов и их внедрением в опытно-промышленное производство. Результаты работы будут интересны и полезны школьникам, студентам, так как несут знания по экологии, микологии, биотехнологии.

Степень завершенности работы и качество ее оформления

Диссертация написана грамотным, понятным языком, аккуратно оформлена, ее структура соответствует теме и задачам исследований.

Диссертационная работа Минакова Д.В. представлена на 156 страницах основного машинописного текста, имеет традиционную структуру, в которую входят: «Введение», глава 1 «Обзор литературы», глава 2 «Объекты и методы исследований», главы 3 «Результаты исследований и их обсуждение» и 4 «Химический состав биомассы мицелия, плодовых тел и отработанных субстратов после культивирования грибов» (76 стр.). В конце представлено «Заключение» (4 стр.), содержащее выводы. Список цитированной литературы включает 200 источников, из них 138 отечественных и 62 зарубежных авторов.

Результаты диссертации иллюстрированы, содержат 43 рисунка, 43 таблицы, имеются Приложения.

Во введении обосновывается актуальность исследований по теме, ставится цель и формулируется 6 задач, которые нацелены на практическое применение получения мицелия и плодовых тел грибов *Armillaria mellea*, *Lentinula edodes*, *Grifola frondosa* на основе биоконверсии лигноцеллюлозных материалов.

В главе 1 «Обзор литературы» приведены литературные данные об использовании базидиальных грибов. Представлены методы культивирования высших базидиомицетов на отходах сельского и лесного хозяйства.

Представлен анализ работ по биологически активным соединениям грибов-ксилотрофов *A. mellea*, *L. edodes* и *G. frondosa*, выбранных автором в качестве объектов исследований, а также роли абиотических и некоторых биотических факторов на рост и развитие грибов. Обзор литературы включает данные экспериментальных статей и обзоров за последние 5-7 лет. Из него ясно, что диссертант хорошо владеет информацией по данной теме исследований.

В главе 2 описывается методика постановки эксперимента и частные методы исследования. Следует отметить, что Минаков Д.В. использует в своей работе биологические и химические методики исследований, что позволило получить более широкий спектр знаний об эколого-биохимических параметрах исследуемых видов грибов-ксилотрофов.

Глава 3 называется «Результаты исследований и их обсуждение», в нее входят 10 разделов с подразделами. На мой взгляд, ей нужно было присвоить по типу главы 4 отдельное название, отражающее суть полученных результатов.

В разделе 3.1 представлена схема интенсивного культивирования грибов на субстратах.

Раздел 3.2 посвящен исследованиям по изучению влияния абиотических факторов среды (температура, влажность, кислотность, освещенность и состав газовой среды) на рост и развитие мицелия грибов.

В разделе 3.3 представлены результаты исследований по выбору лигноцеллюлозных компонентов субстрата для культивирования грибов. Эта глава касается культивирования грибов на отходах лесного производства.

Диссертант отмечает, что наиболее подходящими субстратами для их роста являются березовые опилки, березовые опилки/пшеничные отруби (3:1), березовые опилки/пивная дробина (3:1).

В разделе 3.4 приводятся данные экспериментов, посвященных получению посевного мицелия грибов на питательных средах различного состава. Автором

работы установлено, что наиболее благоприятной средой для роста мицелия *A. mellea* D-13, *L. edodes* F-1000 и *G. frondosa* 2639 является среда со свекловичной мелассой, дающая выход, превышающий контроль в 2,86; 2,10 и 1,31 раза, соответственно.

Раздел 3.5 посвящен изучению влияния витаминов на рост и развитие мицелия грибов в условиях глубинного культивирования. Установлено, что рибофлавин и тиамин оказывают стимулирующее действие на ростовые процессы мицелия грибов. При использовании оптимальной концентрации этих витаминов (0,20 мг/мл) биомасса мицелия *L. edodes* увеличивалась в 1,26-1,35 раза, соответственно.

В разделе 3.6 описано влияние состава субстрата на время культивирования и выход плодовых тел грибов. Автор работы приводит схему интенсивного культивирования изучаемых грибов, которая включает в себя традиционные этапы: подготовку растительного субстрата, инокуляцию субстрата мицелием, инкубацию, плодоношение грибов.

В разделе 3.7 приведены результаты по изучению влияния витаминов на выход грибов. Автором работы установлено, что при интенсивном культивировании испытуемых грибов, только для *L. edodes* можно с успехом использовать витамины, а именно тиамин, как дополнительный источник питания в субстрате, повышающий выход плодовых тел шиитаке в 1,40 раза.

Разделы 3,8, 3,9 и 3,10 посвящены выделению хитозан-глюкановых комплексов (ХтГК) из плодовых тел грибов, изучению их сорбционной способности на примере ионов тяжелых металлов водных растворов. Диссертант показывает, что ХтГК, выделенные из плодовых тел *A. mellea* D-13, *L. edodes* F-1000 и *G. frondosa* 2639 по физико-химическим свойствам превосходят ХтГК, выделенные из плодовых тел *Pleurotus osteratus* и сопоставимы с ХтГК из *Aspergillus niger*. Показана высокая сорбция ионов кобальта и железа хитозан-глюкановыми комплексами, выделенными из исследуемых грибов.

В главу 4, которая носит отдельное название «Химический состав биомассы мицелия, плодовых тел и отработанных субстратов после культивирования

грибов» входит 4 раздела. В разделе 4.1 представлены результаты по изучению биохимического состава биомассы мицелия и плодовых тел грибов. Установлено, что биохимический состав мицелия и плодовых тел испытуемых грибов по содержанию белков, аминокислот, полисахаридов, липидов, жирных кислот, витаминов, минеральных и экстрактивных веществ доказывают их высокую пищевую ценность и перспективы использования в качестве пищевых, лечебных и кормовых продуктов.

В разделах 4.2, 4.3 приводятся результаты по изучению химического состава и пищевой ценности субстратов после их биодеструкции грибами и их использованию в птицеводстве.

Раздел 4.4 включает экономическое обоснование производства плодовых тел грибов *A. mellea* D-13, *L. edodes* F-1000 и *G. frondosa* 2639.

В диссертации имеются заключение и выводы, список условных сокращений и обозначений, список литературы, приложения, которые содержат документы, подтверждающие результаты, полученные автором.

Полученные Минаковым Д.В. выводы обоснованы и достоверны, опираются на анализ обширного экспериментального материала и существующую методологическую базу.

Соответствие содержания автореферата основным идеям и выводам диссертации

Автореферат Минакова Дениса Викторовича целиком отражает содержание диссертации, в нем изложены основные положения работы.

Результаты исследований были представлены научной общественности на нескольких международных и всероссийских научных конференциях. По материалам опубликовано 13 статей в научных изданиях, из них 4 в журналах, рекомендованных ВАК РФ. Получены 3 патента РФ. Все публикации соответствуют содержанию диссертационной работы Минакова Д.В.

Замечания

Однако, несмотря на несомненные достоинства работы и положительную оценку диссертационной работы Минакова Д.В., имеются некоторые замечания и пожелания:

1. Можно было задачи сформулировать более укрупненно. Так, первой задачей стоит «Изучить влияние витаминов и абиотических факторов на рост мицелия и плодовых тел грибов». Хотя результаты по влиянию витаминов отражены лишь в Главе 3 (раздел 3.5).

2. Глава 3 «Результаты исследований и их обсуждение» изложена на 52 страницах, включает 10 разделов. Целесообразно было бы разделить главу 3 на две и каждой присвоить собственное название по аналогии с главой 4. Тем самым была бы лучше отражена экологическая направленность работы. Например, глава 2 могла бы по сути представленных результатов быть названа «Влияние экологичеких факторов на грибы при разработке технологий их выращивания на отходах производства», глава 4 – «Хитозан-глюкановые комплексы грибов и их свойства», куда бы вошли разделы 3.8-3.10. В этой же главе 3 про мицелий идет речь в разделе 3.2, а потом в 3.4. Может быть, можно было про мицелий в поверхностной и глубинной культуре изложить в одной главе, а затем уже приводить результаты по выбору компонентов субстрата для культивирования грибов (раздел 3.3).

3. Неясно, почему автор выбрал для кормления отработанными субстратами цыплят-бройлеров в возрасте 51-56 дней, когда их рост уже подходит к концу.

Однако, эти замечания не умаляют достоинств диссертации, так как автор проделал большой объем работ, который в дальнейшем, надеюсь, получит развитие. Полученные данные охватывают широкий спектр вопросов от применения грибов для получения пищевых продуктов, а также отдельных соединений из них для целей медицины.

Заключение

Учитывая актуальность, научное и практическое значение полученных результатов, их обоснованность и достоверность, считаю, что диссертационная

работа Минакова Дениса Викторовича является законченным научным исследованием, направленным на решение актуальной задачи в области экологии (биологии) – развитию биотехнологий получения продуктов питания и лекарственного сырья на основе конверсии отходов сельскохозяйственного и лесного производства базидиальными грибами.

Выполненное диссертационное исследование соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. №842, с изменением Постановления Правительства РФ от 21.04.2016 г. №335, а автор, Минаков Денис Викторович, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.08 – Экология (биология).

Заведующая лабораторией микологии

ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор»

Роспотребнадзора,

доктор биологических наук (03.00.16 –

Экология), профессор

7 декабря 2018 г.


Подпись Тепляковой Т.В.

удостоверяю, ученый секретарь

ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор»

Роспотребнадзора,

кандидат биологических наук, доцент

 Теплякова Т.В.



 Плясунова О.А.

Федеральное бюджетное учреждение науки «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

630559, р.п. Кольцово, Новосибирская область, Россия; 8 (383) 363-47-10; vector@vector.nsc.ru; <http://www.vector.nsc.ru>

Личный e-mail Тепляковой Т.В.: teplyakova@vector.nsc.ru