

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу Баят Марьям «Биосинтез и характеристика наночастиц и оценка их перспективного биотехнологического применения», представленную к защите на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 4.1.3 Агрехимия, агропочвоведение, защита и карантин растений; 1.5.6 Биотехнология

Актуальность темы. Основными недостатками химического метода защиты растений является опасность загрязнения объектов окружающей природной среды и возникновение резистентных форм вредных организмов к пестицидам. Современная защита растений должна предусматривать инновационные решения в области фитосанитарии на наноуровне. При синтезе химических препаратов всё чаще используются возможности бионанотехнологии. При этом для получения наночастиц металлов используются дорогостоящие физические и химические методы, с применением токсичных веществ.

Для решения указанных проблем разрабатываются экологически безопасные и низкзатратные методы синтеза наночастиц, в частности, «зелёный синтез». Сущность данного метода производства наночастиц заключается в использовании растительного экстракта в качестве нетоксичного реагента. Скорость биосинтеза наночастиц у растений выше, чем у микроорганизмов, получаемые частицы более стабильны и разнообразны. После биосинтеза наночастиц определяются их физические, химические свойства и антимикробная активность.

Актуальность выбранного направления исследований заключается в том, что результаты могут стать основой создания нехимических средств защиты растений от фитопатогенов, как экологически безопасных препаратов, используемых в агротехнологии сельскохозяйственных культур. Кроме того, при биосинтезе наночастиц в качестве растительного сырья для водных

экстрактов предлагается использовать растительные отходы земляники (листья), как доступный и недорогостоящий материал. В качестве тест-растений для оценки биосинтезированных наночастиц, автором выбраны продовольственная и техническая культуры – пшеница и лён.

Степень разработанности темы базируется на литературных источниках по изучению технологии зелёного синтеза для получения и производства металлических наночастиц, оценки их физических и химических характеристик.

Целью диссертационной работы является биосинтез и характеристика наночастиц на основе солей цинка, магния, серебра, меди и железа, оценка возможности биотехнологического применения синтезированных наночастиц как основы для новых регуляторов роста и средств защиты растений от фитопатогенных микроорганизмов.

Поставленные задачи исследований теоретической и экспериментальной направленности позволили автору реализовать поставленные цели и получить результаты, отличающиеся значимостью, новизной и достоверностью.

Научная новизна исследований заключается в том, что:

- впервые изучена эффективность наночастиц металлов для применения их в качестве антибактериальных, антигрибных и рост-стимулирующих агентов;
- впервые бифункциональные наночастицы (как регуляторы роста и пестициды) предложено использовать в качестве бактерицидных добавок к средствам защиты растений;
- при зелёном синтезе применены экстракты листьев земляники, как восстанавливающие и стабилизирующие агенты для получения металлических наночастиц из солей металлов.

Теоретическая и практическая значимость результатов исследования заключается в разработке и испытании нового экологически безопасного метода биосинтеза металлических наночастиц, которые обладают

лучшей совместимостью, чем химически синтезированные, и большей экологичностью, чем физически синтезированные наночастицы. Наночастицы протестированы и исследованы на их антимикробную активность против нескольких фитопатогенов (*Pseudomonas aeruginosa*, *Botrytis cinerea*, *Pilidium concavum* и *Pestalotia* sp.), а также на всхожесть семян и энергию роста всходов пшеницы и льна.

Результаты исследований могут быть использованы в учебном процессе в качестве методических указаний, а также рекомендованы как агенты для создания нанопрепаратов и совершенствования элементов и приёмов систем защиты растений при выращивании зерновых культур.

Степень достоверности и обоснованности результатов исследований подтверждена большим количеством экспериментальных данных, полученных в опытах *in vitro* с использованием современных высокочувствительных методов определения характеристик наночастиц, а также с помощью математической статистики. В ходе исследований автором получены положительные результаты апробации разработанного метода.

Основные результаты диссертационной работы были представлены и обсуждены на Международной научной конференции «Инновационные процессы в сельском хозяйстве» в РУДН (Москва, май 2019 г.)

Результаты исследований были внедрены в учебный процесс агробиотехнологического департамента АТИ РУДН и могут быть использованы при производстве нанопрепаратов для защиты зерновых культур.

Заключение объективно отражает основные научные положения, аргументировано вытекает из сущности полученных результатов, которые являются вполне обоснованными. Работа иллюстрирована качественными таблицами и рисунками.

Соответствие диссертации и автореферата. Диссертационная работа содержит все необходимые разделы. Автореферат отражает содержание диссертации. Основной текст диссертация изложен на 157 страницах

компьютерного текста, а полный – на 170. Работа содержит 22 таблицы и 83 рисунка. Список цитируемой литературы составляет 124 источника.

Анализ содержания диссертации

Во введении (4 с. – 2,5 %) отражено обоснование актуальности темы исследования, цели и задачи, степень разработанности проблемы, научная новизна, теоретическая и практическая значимость. Приводятся положения, выносимые на защиту, степень достоверности полученных результатов, сведения об апробации работы, количество публикаций по теме диссертации, указаны объём и структура диссертации.

В первой главе «Обзор литературы» (27 с. – 17,2 %) приводится анализ публикаций, связанных с биосинтезом и характеристикой наночастиц на основе солей цинка, магния, серебра, меди и железа. Рассматривается биотехнологическое применение синтезированных наночастиц и их использование в качестве основы препаратов для защиты растений от различных фитопатогенов; а также их влияние на рост и развитие растений. Особое внимание уделено методам аналитических исследований с применением высокочувствительного оборудования и современных технологий.

Во второй главе «Материалы и методы» (11 с. – 7 %) подробно представлены методические этапы исследований: подготовка водного растительного экстракта; биосинтез наночастиц и их характеристика; оценка антибактериальной и фунгицидной активности биогенных частиц *in vitro*; изучение влияния наночастиц на культурные растения.

При этом использованы высокочувствительные методы: ультрафиолетовая спектроскопия; просвечивающая эмиссионная сканирующая электронная микроскопия; энергодисперсионная рентгеновская спектроскопия; фотонная кросскорреляционная спектроскопия; инфракрасная спектроскопия с Фурье-преобразованием; рентгеноструктурный анализ.

Оценка биологической активности полученных наночастиц в отношении фитопатогенов (грибов и бактерий) выполнена модифицированными

методами агаризованных сред. Изучалась способность агентов подавлять рост колоний и прорастание спор микроорганизмов. Штамм возбудителя серой гнили *Botrytis cinerea* Pers. был выделен из земляники, выращенной в Московской области, и идентифицирован по культуральным и морфологическим признакам методом ПЦР с последующим секвенированием.

Исследования действия наночастиц на культурные растения (пшеницу и лён) включали процессы приготовления первичных растворов с различными концентрациями наночастиц и солей металлов; подготовки и проращивания семян, а также изучение различных биометрических и физиологических показателей растений.

Полученные данные характеристик наночастиц подтверждены высокой точностью методов аналитического оборудования, статистически обработаны. Результаты экспериментов были тщательно проанализированы и частично апробированы.

В третьей главе «Результаты и обсуждение» (93 с. – 59,3 %) содержатся результаты научных исследований по биосинтезу и характеристики наночастиц. В экспериментальной главе рассматриваются следующие вопросы:

- подтверждение образования наночастиц в водном растительном экстракте из листьев земляники методом ультрафиолетовой спектроскопии;
- определение размера, формы, структуры наночастиц и наличия их агрегаций методом просвечивающей эмиссионной сканирующей электронной микроскопии;
- измерение гидродинамического размера наночастиц и их распределение методом фотонной кросскорреляционной спектроскопии;
- распознавание функциональных органических групп, неорганических остатков и биомолекул методом инфракрасной спектроскопии с Фурье-преобразованием;

- подтверждение наличия наночастиц, определения их природы, размера и различных примесей методом рентгеноструктурного анализа;
- оценка *in vitro* биологической активности полученных наночастиц в отношении фитопатогенов (грибов и бактерий) по подавлению роста колоний и прорастания спор микроорганизмов;
- оценка влияния биосинтезированных наночастиц на растения (пшеницу и лён) по биометрическим (длина побегов, корней, их соотношение) и физиологическим (всхожесть, энергия роста, индексы устойчивости к стрессу) критериям.

Заключение (2 с. – 1,3 %) является логическим завершением анализа теоретического материала и экспериментальных исследований, а сделанные выводы полностью отражают полученные результаты.

Автореферат отражает суть работы, её объем и основные результаты.

При изучении материалов диссертации и автореферата возникли дискуссионные вопросы и пожелания, которые сводятся к следующему:

1. Диссертант ставит перед собой задачи многосторонней оценки биосинтезированных наночастиц на основе солей цинка, магния, меди, железа и серебра, как основы для новых рострегуляторов и средств защиты растений. Вместе с тем, препараты на основе серебра могут действовать как стериланты, т. к. уничтожают не только патогенную, но и индифферентную и полезную микрофлору почвы, а также оказывают токсическое воздействие на растения, что подтверждено и в работе. Возникает вопрос, каким должен быть нанопрепарат на основе серебра и как его рекомендуется применять, чтобы снизить негативное влияние на полезные организмы?

2. Для оценки влияния наночастиц на культурные растения автор наряду с пшеницей, основной продовольственной культурой, которая занимает 37 % посевной площади России, выбрала лён, как основную техническую культуру. Но эта культура занимает всего около 1,5 % посевной площади в стране. Чем обоснован выбор льна в качестве тест-растения?

3. Автор допускает некорректное использование терминов. Например, «экологически чистые» технологии, или процессы, поскольку любые синтезированные вещества могут представлять потенциальную опасность для микро- и макробиоты. Более подходящие термины в данном контексте, это «экологически безопасные или малоопасные» технологии. Также, при описании физиологических параметров растений корректнее использовать термины «всхожесть семян, энергия роста», а не «процент прорастания семян».

Работа хорошо оформлена, однако встречаются опечатки и неточности, например, землянику садовую *Fragaria ananassa*, автор называет и клубникой, а это два разных растения; при учёте эффектов используется термин «день», вместо термина «сутки».

При планировании дальнейшей работы автору можно высказать пожелание уделить особое внимание выбору металлических наночастиц, с учётом их опасности для растений и микробиоты почвы, а также подбору рабочих концентраций, синтезированных наночастиц, поскольку результаты исследований *in vitro* и *in vivo* могут значительно отличаться.

Заключение

Считаю, что полученные автором результаты представляют собой законченную научно-исследовательскую работу. Результаты научных исследований могут стать основой для создания альтернативных химическим средств защиты растений от фитопатогенов, как безопасных и малоопасных препаратов, используемых в агротехнологии сельскохозяйственных культур с целью их экологизации. Важным свойством биосинтезированных наночастиц является их антибактериальная активность. Разработанный на данной основе нанопрепарат может стать незаменимым элементом технологии защиты растений от бактериозов.

Несмотря на ряд возникших вопросов, следует отметить, что работа Баят Марьям «Биосинтез и характеристика наночастиц и оценка их перспективного биотехнологического применения», представленная к защите на соискание

учёной степени кандидата биологических наук по специальности 4.1.3 – Агрохимия, агропочвоведение, защита и карантин растений; 1.5.6 – Биотехнология, вполне состоявшееся законченное исследование с решёнными задачами. Диссертация полностью соответствует требованиям п.2.2 раздела II Положения о присуждении учёных степеней в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Российский университет дружбы народов», утвержденного Учёным советом РУДН протокол № 12 от 23.09.2019 г., а её автор заслуживает присуждения ей учёной степени кандидата биологических наук по специальности 4.1.3 – Агрохимия, агропочвоведение, защита и карантин растений; 1.5.6 – Биотехнология.

Официальный оппонент:

Ведущий научный сотрудник

ФГБНУ ВНИИФ,

доктор сельскохозяйственных наук,

профессор

06.01.11 – Защита растений

 Филиппчук О.Д.

Федеральное государственное бюджетное
научное учреждение
«Всероссийский научно-исследовательский
институт фитопатологии»

143050, Россия, Московская обл., Одинцовский район,
р.п. Большие Вязёмы, ул. Институт, владение 5
тел: +7 (495) 597-42-28
Тел./факс +7 (498) 694-11-24
E-mail: vniif@vniif.ru

Подпись Филиппчук Ольги Дмитриевны заверяю:

Таламакшик дурдыевичева И.В. *Му Кузине О.Б.*

11.11.2024.

