

**ОТЗЫВ официального оппонента
о диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук
Шамрайчук Ирины Леонидовны
на тему: «Внеклеточная активность пептидаз сапротрофных и
фитопатогенных мицелиальных грибов» по специальности 1.5.18 –
«Микология».**

Диссертационная работа И.Л. Шамрайчук посвящена комплексному сравнительному изучению внеклеточных пептидаз различных видов и штаммов микроскопических грибов, принадлежащих к сапротрофам и фитопатогенам, а также исследование влияния факторов среды на участие пептидаз в патогенном процессе.

Данное направление исследований чрезвычайно перспективно и всесторонне развивается специалистами-микологами, микробиологами, биохимиками и энзимологами. Хорошо известно, что именно микроскопические грибы являются – перспективными продуцентами протеолитических ферментов в связи с реализуемой ими экологической стратегией. Пептидазы секретируются грибами во внешнюю среду, где играют роль в расщеплении белков до аминокислот – субстратов, которые затем потребляются как компоненты роста. Пептидазы грибов находят свое применение в кожевенной и пищевой промышленности, в медицине и биотехнологии. Современная биоиндустрия требует новых ферментов и их продуцентов, отличающихся по ряду свойств от уже имеющихся. Пептидазы в этом плане не являются исключением. Необходимо отметить, что внеклеточные пептидазы грибов рассматриваются как потенциальные факторы вирулентности. Изучение этого аспекта биологии пептидаз еще ждет своего развития в дальнейшем. Поэтому изучение секреции и получение пептидаз микромицетами разных эколого-трофических групп представляется актуальной областью современной биологической науки.

В диссертационной работе И.Л. Шамрайчук было проанализировано 26 штаммов микромицетов при их росте на среде с белковым индуктором. Среди них были выявлены перспективные продуценты внеклеточных пептидаз. Впервые для двух видов фитопатогенных грибов – *Botrytis cinerea* Pers. и *Fusarium roseum* Link – была исследована зависимость внеклеточной протеолитической активности от присутствия в среде растительных клеточных стенок. Для *B. cinerea* была экспериментально доказана последовательная динамика появления в среде внеклеточной протеолитической активности, присущей пептидазам различным групп. Также автором впервые была показана положительная корреляция между уровнями образования меланина и внеклеточной активностью пептидаз у агрессивных штаммов фитопатогенного вида *Alternaria linariae* (Neerg.) E.G.Simmons. Выявлено, что для данных штаммов также характерна и высокая активность трипсин-подобных пептидаз, которые возможно рассматривать в качестве маркеров фитопатогенного процесса. Все проведенные исследования оригинальны, важны и интересны и носят как фундаментальный, так и прикладной характер.

Не менее важной частью проведенных исследований можно считать эксперименты, которые позволили продемонстрировать присутствие у мицелиальных грибов секретлируемых ингибиторов пептидаз, не связанных с регуляцией активности собственных протеолитических ферментов. Было предположено, что они выполняют защитную функцию.

Полученные И.Л. Шамрайчук данные позволяют предполагать участие трипсин-подобных пептидаз в процессе фитопатогенеза у грибов, что важно учитывать при создании устойчивых к грибным заболеваниям сортов растений. Автором диссертации было оценено значение величин рН, создаваемых микромицетами, фаз роста, кислород-дефицитных условий, а также источника азота в среде для синтеза и активности определенных групп пептидаз. Эти результаты работы следует рассматривать как доказательство

немаловажную роли названных факторов при протеолизе белковых субстратов, проводимом микромицетами в занимаемых ими экологических нишах.

Еще одним значимым результатом работы является установленная видоспецифичность элементов протеолитической системы исследованных грибов.

Диссертация изложена на 123 страницах, построена по общепринятому плану. Обзор литературы содержит необходимые для понимания диссертации сведения по пептидазам и их ингибиторам, их свойствам у микроорганизмов и мицелиальных грибов, в частности. Работа выполнена на современном методическом уровне, что довольно полно иллюстрирует раздел «Материалы и методы». Раздел «Результаты и их обсуждение» представляет оригинальные исследования, выполненные автором и их сравнение с имеющимися данными других ученых в этой и смежной областях.

В тексте работы есть несколько неудачных с т.з. биологической грамотности ошибок, например, спорообразование и дифференциация причисляются к метаболическим процессам (с. 4), а также выражений (например «литературные данные») и незначительное количество опечаток, в т.ч. и в элементах профессиональной тематики (*A. fumigatis* вместо *A. fumigatus*, рNa вместо рNA и некоторые другие).

Существенным замечанием к работе можно считать разноплановое форматирование таблиц: есть таблицы с большим количеством столбцов которые не умещаются на страницу и при печати обрезаются с правого края, а есть маленькие, которые отформатированы в полстраницы.

Среди прочих замечаний к диссертации:

1. В работе отсутствует список сокращений.
2. Отсутствие точек в конце названий рисунков.
3. В Обзоре литературы есть повторы. Обзор литературы, на удивление, проиллюстрирован лишь одной таблицей, что явно недостаточно для восприятия такой сложной темы.

4. Таблицы № 2 и 3 – нет смысла делать отдельно, их объединение способствовало бы лучшей иллюстрацией текста.
5. Аббревиатуры ингибиторов – в разных частях диссертации встречаются как кириллицей, так и латиницей.
6. В «Материалах и методах» присутствует понятие «Диализованная культуральная жидкость» (с. 52), однако условия проведения диализа и обоснования его необходимости в тексте отсутствуют.
7. В разделе 2.7. не указан размер колонки для ионообменной хроматографии.
8. Разноплановость в графиках: часть в виде ломанных линий, часть – в виде сглаженных.
9. На графиках отсутствуют доверительные интервалы.
10. Рис. 4. – неполная легенда, на графике есть неподписанные кривые.
11. Рисунки № 12 – 15 можно было бы объединить в один. По отдельности они не несут смысловую нагрузку.
12. Сбита нумерация источников цитированной литературы (с. 111, 114, 115, 116, 118, 122), их получается 198, а не 192.

Вопросы, имеющиеся к автору диссертации:

1. Несоответствие суток накопления пептидаз грибами и использованной культуральной жидкости, полученной после конкретных суток роста для последующей хроматографической очистки (рис. 4-9). Почему так?
2. Почему одним из микромицетов для проведения исследований после изучения всех использованных грибов был выбран *Fusarium anguioides*?
3. На графиках динамик накопления пептидаз прослеживается явная тенденция к росту после 8-х суток культивирования, однако данных после 10-х суток не представлено. Есть ли уверенность, что, к примеру, на 11 сутки, протеолитическая активность будет меньше?

Данные недостатки являются недостатками самого текста диссертации, представленной соискателем ученой степени и не касаются качества проведенных исследований. Достоверность полученных автором результатов и обоснованность выводов сомнений не вызывают. Результаты диссертации были профессионально обсуждены научным сообществом, по ним было опубликовано 4 статьи в отечественных и зарубежных журналах и 6 тезисов докладов.

Вместе с тем, указанные замечания не умаляют значимости диссертационного исследования. Диссертация отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В.Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует паспорту специальности 1.5.18 – «Микология» (по биологическим наукам), а также критериям, определенным пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В.Ломоносова, а также оформлена, согласно приложениям № 5, 6 Положения о диссертационном совете Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова.

Таким образом, соискатель Шамрайчук Ирина Леонидовна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.18 – «Микология».

Официальный оппонент:

Кандидат биологических наук,

Доцент кафедры микробиологии

биологического факультета

ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В.

Ломоносова»

Осмоловский Александр Андреевич

05.12.2022.

Контактные данные:

тел.: 7(916)8168739, e-mail: aosmol@mail.ru

Специальности, по которой официальным оппонентом
защищена диссертация:

03.02.03 – Микробиология

03.01.06 – Биотехнология (в том числе бионанотехнологии).

Адрес места работы:

119991, г. Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12,

ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В.
Ломоносова», биологический факультет, кафедра микробиологии.

Тел.: рабочий телефон; e-mail: адрес официальной почты

Подпись сотрудника биологического факультета ФГБОУ ВО
«Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»
Осмоловского А.А. удостоверяю:

Ученый секретарь



05.12.2022

Е.В. Петрова