

Отзыв

официального оппонента на диссертацию Хатем Амжад на тему:
«Получение биомассы штамма *Penicillium chrysogenum* ВКМ F-4876 D
биотехнологическим путём и изучение её влияния на патогены
сельскохозяйственных растений», представленной на соискание ученой степени
кандидата биологических наук по научной специальности: 1.5.6 –
Биотехнология.

Актуальность работы.

Современные технологии производства сельскохозяйственной продукции, основанные на повсеместном применении химических пестицидов, позволили в значительной мере решить проблему обеспечения населения достаточным количеством продуктов питания. Но, вместе с тем, спровоцировали появление ряда проблем, в том числе связанных с истощением плодородия земель. В связи с чем, особенно актуальным является поиск новых подходов в развитии современных способов защиты сельскохозяйственных растений, среди которых биометод. Таким образом, расширение спектра биологических препаратов для защиты сельскохозяйственных растений является одной из приоритетных задач.

Цель работы.

Цель диссертационной работы Хатем Амжад - разработать эффективную технологию получения сухой биомассы гриба *Penicillium chrysogenum* и оценить ее противогрибной эффект по отношению к выбранным тест-культурам.

Научная новизна. Соискателем проведена работа по определению оптимальных условий культивирования, обеспечивающих выход биомассы *P. chrysogenum* ВКМ F-4876D с высокой противогрибной активностью. Определены параметры культивирования *P. chrysogenum* ВКМ F-4876D в ферментационной установке объемом 15 л. Основываясь на полученных данных, исследователь провел апробацию условий культивирования в биореакторе объемом 100 литров, что позволило далее выполнить

масштабирование процесса культивирования в промышленной ферментационной установке объемом 1000 литров. Таким образом, была разработана эффективная схема получения сухой биомассы *P. chrysogenum* ВКМ F-4876D.

Автором впервые показана возможность совместного использования химических фунгицидов с сухой биомассой *P. chrysogenum* ВКМ F-4876D. Это способствовало тому, что при уменьшении рабочих концентраций химических фунгицидов до уровней, при которых они не эффективны при применении в качестве монопрепарата, достигнута высокая фунгицидная активность.

Теоретическая и практическая значимость работы. Теоретическая ценность исследования заключается в получении новых знаний о физиологических свойствах *P. chrysogenum*, влиянии условий культивирования данного штамма гриба на рост и активность по отношению к фитопатогенам. Практическая значимость представляет выявленный автором синергетический эффект от совместного применения сухой биомассы гриба *P. chrysogenum* и коммерческих фунгицидов, что дает возможность снизить эффективные дозировки химических агентов контроля, необходимых для защиты растений от фитопатогенных микроорганизмов. Отсутствие механизмов развития устойчивости у фитопатогенов к биологическим препаратам также создает предпосылку для успешного контроля возбудителей болезней сельскохозяйственных культур без увеличения рабочих концентраций химических фунгицидов. Это открывает перспективу снижения негативного влияния пестицидов на окружающую среду. Разработана техническая документация для проведения процесса культивации *P. chrysogenum* ВКМ F-4876 D в промышленной ферментационной установке объемом 1000 л.

Таким образом, полученные в ходе выполнения данной работы результаты служат научным обоснованием для расширения ассортимента микробиологических средств защиты растений от фитопатогенов в России.

Структура и объём диссертации. Текст диссертации занимает 130 страниц и разделен на введение, три главы, обсуждение результатов и

закключение. Работа содержит 24 таблицы и 30 иллюстраций. Библиографический список включает 138 источников, из которых 104 - на иностранных языках.

Во введении автором сформулированы цели и задачи диссертационной работы, показана научная и практическая значимость. Первая глава посвящена обзору современного состояния обсуждаемой проблемы на основе российских и зарубежных литературных данных. Автор излагает материал грамотным языком и даёт полное представление о степени проработанности решаемых им задач. Рассматриваются основные вопросы создания препаратов на основе антагонистических микроорганизмов в мире и в России, проведен анализ эффективности современных биологических препаратов, применяемых для контроля фитопатогенов сельскохозяйственных культур. Обобщаются данные по исследованию совместного применения химических и биологических средств для защиты растений от патогенов.

В разделе «Материалы и методы» описаны методы, использованные автором для выполнения исследования, в объеме, достаточном для оценки надежности полученных результатов и правильности сделанных на их основании выводов. В разделе описаны объекты исследования, химические реактивы, микроорганизмы, использованные в работе, среды и условия культивирования, ферментационные установки для культивирования гриба *P. chrysogenum*.

В главе 3 автором представлены основные результаты, полученные им в процессе реализации поставленной цели в диссертационной работе. Хатем Амажад предложена и апробирована биотехнологическая цепочка от получения высокоэффективного штамма гриба до реализации процесса его культивирования в ферментере объемом 1000 л.

В ходе экспериментальной работы автором исследована сухая грибная биомасса на содержание метаболитов, проявляющих противогрибную активность. Методом SDS-ПААГ электрофореза обнаружены белковые фракции, по молекулярному весу соответствующие PAF-белкам, которые

обладают доказанным фунгицидным действием. Методом ВЭЖХ в грибной биомассе штамма *P. chrysogenum* обнаружен вторичный метаболит – мевастатин. Автором оптимизированы условия культивирования (источники углерода и азота, уровень кислотности и уровень растворенного кислорода), способствующие накоплению мевастатина и биомассы гриба. Полученные результаты позволили соискателю осуществить масштабирование процесса культивирования в биореакторе объемом 1000 л.

Методом радиального роста установлено противогрибное действие биомассы *P. chrysogenum* по отношению к наиболее распространенным грибным фитопатогенам, наносящим колоссальный вред сельскому хозяйству. Так, на 7 сутки исследования противогрибное действие 1 г/л сухой биомассы, внесенной в питательный агар, варьировало от 48,3% до 65% в зависимости от патогена.

Впервые продемонстрирована возможность совместного применения химических фунгицидов с биомассой *P. chrysogenum*. Полученный эффект позволяет без потери уровня антигрибной активности сократить применяемые концентрации коммерческих химических фунгицидов до значений, при которых они не ингибируют рост фитопатогенов в качестве монопрепарата.

Результаты, достигнутые соискателем в процессе выполнения диссертационной работы, свидетельствует о высоком профессионализме Хатем Амжад и широте его научного кругозора. В ходе исследования разработана оптимальная технологическая схема получения сухой биомассы *P. chrysogenum* ВКМ F-4876D. Следует отметить, что методы работы освещены достаточно информативно. Облегчает восприятие материала наличие рисунков и таблиц. Экспериментальная часть иллюстрирована в 24 таблицах и 27 рисунках.

Выводы исследования, основанные на полученных результатах, сформулированы четко и полностью аргументированы. Достоверность и новизна результатов не вызывают сомнений. Автореферат полностью отражает содержание диссертации, включая актуальность исследований, новизну и значимость полученных результатов, а также их научную и практическую

ценность. В общем и целом, работа написана доступным для восприятия языком, хорошо иллюстрирована.

Принципиальных замечаний к данной работе нет, однако важно отметить следующие замечания, вопросы и рекомендации:

- имеются опечатки, орфографические и пунктуационные ошибки как в тексте диссертации, так и в автореферате.
- рисунок 2 в диссертации представлен на английском языке. Стоило бы привести его на русском языке. В подписи к рисунку 2 и по тексту диссертации присутствует термин «противогрибковый», в области защиты растений принято употреблять «противогрибной», «антигрибной».
- в литературном обзоре стоило бы осветить вопрос об основных заболеваниях сельскохозяйственных культур, тем самым обосновав выбор используемых тест-культур фитопатогенов. Литературные источники не всегда соответствуют последним достижениям по анализируемому вопросу, так как можно было бы представить более поздние сведения.
- для подготовки раздела 1.8.1 приведено недостаточно литературных данных.
- в разделе 2.1.2 штамм *Sclerotinia sclerotiorum* указан без обозначения шифра
- на рисунке 14 нет наименования оси абсцисс. На рисунках 28 и 30 отсутствует степень погрешности в диаграммах.
- в разделе 3.1.2 автор констатирует, что «для нового штамма была определена значительная противогрибная активность по отношению к выбранным тест-культурам» и приводит рисунки, однако, отсутствуют числовые значения противогрибной активности, например, диаметр стерильной зоны в сравнении с исходным штаммом.
- в таблице 24 указано, что содержание мевастатина в сухой биомассе *P. chrysogenum* не менее 5 г/кг, в то время как максимальный выход целевого продукта при глубинном культивировании не превышает $2 \pm 0,10$ г/л. Чем может быть объяснена разница в количестве продукта?

- в разделе 3.9 при выборе и ссылке на препарат «Аканто Плюс» важно указывать не только наименование действующих веществ препарата, но и их концентрацию, а также препаративную форму продукта.
- в заключении автор указывает, что штамм *P. chrysogenum* ВКМ F-4876D депонирован и запатентован, но к диссертации не приложена копия патента
- в заключении автор утверждает, что «полученные данные отражают высокий потенциал разработки эффективного и экологически безопасного биопрепарата, который может быть использован в интегрированных системах защиты растений от фитопатогенов», важно отметить, что подобная рекомендация может быть дана только после процедуры регистрационных испытаний нового биопрепарата.

Заключение. Сделанные замечания не снижают общей высокой оценки диссертационной работы и научной значимости полученных в работе результатов. В целом, результаты, полученные автором, являются новыми научными знаниями в области агробιοтехнологии, в том числе разработки технологии получения микробиологических средств защиты растений.

Диссертация, представленная автором, является завершённой научно-исследовательской работой, выполненной на высоком научном и методологическом уровне. Материалы диссертации опубликованы в 10 работах. Из них 2 – в изданиях, находящихся в базах данных Web of Science и SCOPUS (Q1).

Считаю, что по объёму, методическому уровню выполненных исследований, новизне, актуальности, теоретической и практической ценности полученных результатов диссертационная работа Хатем Амжад на тему: «Получение биомассы штамма *Penicillium chrysogenum* ВКМ F-4876 D биотехнологическим путём и изучение её влияния на патогены сельскохозяйственных растений», соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук (пп. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней»), а ее автор, Хатем Амжад

