

МИНОБРНАУКИ РОССИИ
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
**«Федеральный исследовательский центр
«Пушкинский научный центр биологических исследований
Российской академии наук»
(ФИЦ ПНЦБИ РАН)**

142290, г. Пушкино Московской обл., проспект Науки, д.3.
Тел./факс: (4967)73-26-36, e-mail: info@pncbi.ru, <http://www.psn.ru>
ОКПО 02699688, ОГРН 1025007768983, ИНН/КПП
5039002841/503901001

25.03.2024 № 194-01-2115/217
На № _____ от _____



ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических исследований Российской академии наук» на диссертационную работу **Хатем Амжад** по теме:
«Получение биомассы штамма *Penicillium chrysogenum* ВКМ F-4876D биотехнологическим путем и изучение её влияния на патогены сельскохозяйственных растений», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.6 – Биотехнология.

Актуальность темы диссертации. Разработка биологических способов защиты растений от фитопатогенов – актуальное направление исследований биотехнологов, стимулируемое мировой тенденцией на получение экологически чистой продукции и охрану окружающей среды. В настоящее время использование химических фунгицидов может быть значительно снижено за счет их сочетания с биопрепаратами, подавляющими рост фитопатогенных микроорганизмов.

Спектр используемых в настоящее время биопрепаратов, обладающих фунгицидной активностью, весьма ограничен. В связи с этим цель работы, которая заключалась в разработке эффективного биопрепарата на основе сухой биомассы гриба *Penicillium chrysogenum*, подавляющей рост фитопатогенных грибов, весьма актуальна.

Новизна полученных результатов и выводов. В многоступенчатой селекции и при использовании УФ-мутагенеза сотрудниками ФИЦ Биотехнологии РАН был получен

новый штамм *P. chrysogenum* ВКМ F-4876 D, синтезирующий мевастатин в повышенных по сравнению с исходным коллекционным штаммом концентрациях (патент RU 2780228, 2022). Этот штамм был передан диссертанту для оптимизации условий его культивирования с целью обеспечения увеличенного выхода биомассы с высокой противогрибковой активностью. Культивирование проведено в ферментерах объемом 15, 100 и 1000 л. Диссертантом разработана схема-алгоритм получения сухой биомассы *P. chrysogenum* ВКМ F-4876 D и показана возможность комбинированного применения биомассы совместно с рядом химических фунгицидов. Такой подход позволил уменьшить концентрацию химических фунгицидов до значений, при которых они не эффективны в качестве монопрепарата. Соответственно, результаты, полученные в результате проведенной работы, являются новыми и обоснованными.

Апробация работы и публикации. По материалам диссертационной работы опубликованы 2 статьи в международных изданиях, индексируемых в базах данных Scopus и Web of Science. Список этих опубликованных статей и тезисов, представленных на конференциях, отсутствует в диссертации, но приведен в автореферате.

Обоснованность научных положений и выводов, сформулированных в диссертации. Содержание экспериментальной части диссертации характеризует проведенное Хатем Амжад исследование, как работу, выполненную с привлечением спектра культуральных, аналитических и биотехнологических методов. Применение указанных методов обеспечило получение объема данных, достаточных для результатов, приведенных в работе и заключения об их достоверности.

Соответствие содержания диссертации автореферату и указанной специальности. Автореферат полностью отражает содержание диссертационной работы, которая соответствует специальности 1.5.6 – Биотехнология.

Личный вклад автора. Детализация описания приемов и методов показывает, что основная часть обсуждаемых в диссертации результатов представляет собой личный вклад автора в работу. Рассматриваемая квалификационная работа свидетельствует о проведенном автором достаточно глубоком анализе литературы по теме исследования, об овладении методами культивирования микроорганизмов, ВЭЖХ, очистки и фракционирования белков, определения антагонистической активности белков и сухой биомассы и её сочетания с фунгицидами на патогенные грибы, работы на ферментационном оборудовании, а также методов центрифугирования и лиофильного высушивания.

Значимость результатов, полученных автором диссертации для развития соответствующей отрасли науки.

Практическая значимость работы заключается в следующем:

- изучен штамм-мутант *P. chrysogenum*, обладающий повышенной фунгицидной активностью;
- сравнены различные по составу варианты питательной среды, обеспечивающие значительный выход биомассы исследуемой культуры;
- определены оптимальные условия культивирования штамма;
- проведен процесс культивирования штамма в биореакторе 1000 л, что свидетельствует о возможности масштабирования процесса и получения биомассы с высоким содержанием мевастатина в промышленном масштабе;
- установлено противогрибное действие сухой биомассы штамма *P. chrysogenum* ВКМ F-4876 D по отношению к тест-культурам патогенных видов *Fusarium oxysporum*, *Alternaria solani*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Botrytis cinerea*;
- показан аддитивный фунгицидный эффект при применении комбинации сухой биомассы *P. chrysogenum* ВКМ F-4876 D и химических фунгицидов азоксистробина, пропиконазола, тебуконазола и Аканто Плюс.

Таким образом, диссертантом проведены модельные биотехнологические исследования, ориентированные на развитие биологических способов защиты растений от фитопатогенов. Работа Хатем Амжад представляет интерес для специалистов в области биотехнологии, микробиологии и защиты растений.

Замечания и вопросы по диссертационной работе. Имеется ряд замечаний и вопросов, связанных, прежде всего, с недостаточно подробным или недостаточно четким изложением материала.

1. На стр. 9 в разделе «Научная новизна» указано: «Разработана оптимальная технологическая схема получения сухой биомассы *P. chrysogenum* ВКМ F-4876D». Однако описание схемы ограничено представлением этапности на стр. 35-36 и рисунке 3 в обзоре литературы и этапностью проведения исследований на рис. 9. Диссертанту следует указать, что именно разработано и оптимизировано.
2. В разделе 2.2.1 диссертации (стр. 57-58) описано получение штамма-мутанта диссертантом. Однако ранее (стр. 45) указано, что штамм был получен уже как созданный запатентованный мутант из ФИЦ Биотехнологии РАН. Желательно уточнить вклад диссертанта в создание штамма-мутанта.
3. В соответствии с САНПИН 3.3686-21 "Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней" виды рода *Penicillium* относятся к патогенным 4-й группы. Более того, существует литература, указывающая на то, что вид *P. chrysogenum* является возбудителем аллергий и «слабым патогеном». В

связи с этим представляется полезным дополнение диссертантом материалов или дополнительного обсуждения, которые бы свидетельствовали об авирулентности штамма.

4. В работе по оценке противогрибной активности были использованы тест-культуры *F. oxysporum*, *A. solani*, *S. sclerotiorum*, *B. cinerea*. В тексте диссертационной работы отсутствует обоснование выбора данных культур, желательно пояснить принцип выбора.
5. Желательно уточнить детали масштабирования процесса глубинного культивирования *P. chrysogenum* в ферментационной установке объемом 1000 л: как использовали полученную отделенную центрифугированием биомассу и как утилизировали оставшуюся жидкую среду, которая также содержала остаточный мевастатин.
6. Не совсем ясно, почему при изучении противогрибной активности получаемой биомассы *P. chrysogenum* указывается ее концентрация в г/л и не приведены данные о содержании мевастатина. Автор связывает с проявляемым противогрибным эффектом именно наличие мевастатина в сухой биомассе, поэтому было бы логичным сопоставить концентрации мевастатина и используемых фунгицидов. Дополнительным контролем мог бы служить препарат мевастатина.
7. В списке литературы отсутствует ряд ссылок, приведенных в тексте, например: стр.15 – Morgunov I.G., 2017; Shao J., 2021; Davies C.R., 2021; стр. 27 - Джавахия В.В., 2017.
8. На стр. 47 указано, что автор готовил картофельный глюкозный агар (КГА) сам. Однако, в разделе «Материалы и методы» на стр. 44 в таблице 1 «Химические реактивы и материалы» под названием КГА указан картофельный декстрозный агар, Condalab, Madrid, Spain.
9. Диссертация и автореферат завершаются не выводами, а заключением с перечислением полученных результатов («В результате проведенного исследования были получены следующие результаты»). Полагаем целесообразным при защите диссертации или при ответе на замечания выделить из результатов и представить основные выводы.

Указанные замечания не снижают общей положительной оценки научно-методических результатов диссертационной работы.

Заключение. Таким образом, диссертационная работа Хатем Амжад по теме: «Получение биомассы штамма *Penicillium chrysogenum* ВКМ F-4876D

биотехнологическим путем и изучение её влияния на патогены сельскохозяйственных растений», представленная на соискание ученой степени кандидата наук, является законченной научно-квалификационной работой и демонстрирует профессиональный методический уровень автора и достаточное решение поставленной научной задачи на уровне масштабированной биотехнологической модели. Более того, разработанное автором увеличение продукции мевастатина может иметь значение для фармацевтической биотехнологии.

Диссертационная работа Хатем Амжад на тему «Получение биомассы штамма *Penicillium chrysogenum* ВКМ F-4876D биотехнологическим путем и изучение её влияния на патогены сельскохозяйственных растений» соответствует требованиям пунктов 9-14 Положения о присуждении ученых степеней, утвержденного постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842 (ред. от 25.01.2024 г.), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а её автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.6 – Биотехнология.

Отзыв обсужден и одобрен на совместном семинаре лаборатории радиоактивных изотопов, центра экспериментальной биотехнологии Института биохимии и лаборатории физиологии микроорганизмов им. Г. К. Скрыбина Российской академии наук (ИБФМ РАН) – обособленного подразделения «Федеральный исследовательский центр «Пушчинский научный центр биологических исследований Российской академии наук» (ФИЦ ПНЦБИ РАН), протокол № 15 от «21» марта 2024 года.

Доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник
Лаборатории радиоактивных изотопов/метилотрофии
Института биохимии и физиологии микроорганизмов
им. Г. К. Скрыбина Российской академии наук (ИБФМ
РАН) – обособленного подразделения Федерального
государственного бюджетного учреждения науки
«Федеральный исследовательский центр «Пушчинский
научный центр биологических исследований
Российской академии наук»

Доронина Нина Васильевна

Контактные данные: тел.: +7 (915) 338 11 58;

e-mail: doronina@ibpm.puschino.ru

Адрес места работы:



Подпись Дорониной Н.В. 4, 15
УДОСТОВЕРЯЮ
Начальник отдела кадров ИБФМ РАН

142290, Московская обл., г.Пушино, проспект Науки,
д.5, ИБФМ РАН

Кандидат биологических наук, заведующий центром
экспериментальной биотехнологии Института
биохимии и физиологии микроорганизмов
им. Г. К. Скрябина Российской академии наук (ИБФМ
РАН) – обособленного подразделения Федерального
государственного бюджетного учреждения науки
«Федеральный исследовательский центр «Пушинский
научный центр биологических исследований
Российской академии наук»

Самойленко Владимир Александрович

Контактные данные: тел.: +7 (903) 255 45 66;

e-mail:samva@rambler.ru

Адрес места работы:

142290, Московская обл., г.Пушино, проспект Науки,
д.5, ИБФМ РАН



Подписи сотрудников Института биохимии и
физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина
Российской академии наук – обособленного
подразделения Федерального государственного
бюджетного учреждения науки «Федеральный
исследовательский центр «Пушинский научный центр
биологических исследований Российской академии
наук» Дорониной Н.В., Самойленко В.А. заверяю

Начальник отдела кадров Института биохимии и
физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина
Российской академии наук – обособленного
подразделения Федерального государственного
бюджетного учреждения науки «Федеральный
исследовательский центр «Пушинский научный центр

биологических исследований Российской академии
наук»

Лидия Васильевна Бороздина