

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 35.2.030.09, СОЗДАННОГО НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО ОБРАЗОВАТЕЛЬНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ «РОССИЙСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ – МСХА ИМЕНИ К.А. ТИМИРЯЗЕВА» (МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ) ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело № \_\_\_\_\_  
решение диссертационного совета от 24.04.2024 № 2

О присуждении Хатем Амжад, гражданину Российской Федерации, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Получение биомассы штамма *Penicillium chrysogenum* ВКМ F-4876 D биотехнологическим путём и изучение её влияния на патогены сельскохозяйственных растений» по специальности 1.5.6 – Биотехнология (биологические науки), принята к защите 22.02.2024 (протокол заседания № 16) диссертационным советом 35.2.030.09, созданным на базе Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева» (ФГБОУ ВО РГАУ – МСХА имени К.А. Тимирязева) Министерства сельского хозяйства Российской Федерации, адрес: 127434, г. Москва, ул. Тимирязевская, д. 49 (Приказ Минобрнауки России о создании совета № 490/нк от 22.03.2023).

Соискатель Хатем Амжад, 10 июня 1992 года рождения.

В 2019 г. Хатем Амжад окончил Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Воронежский государственный университет» по направлению подготовки 06.04.01 – Биология с присвоением квалификации «Магистр».

В период подготовки диссертации (с 01.09.2019 по 31.08.2023) соискатель Хатем Амжад обучался в очной аспирантуре на кафедре микробиологии и иммунологии ФГБОУ ВО РГАУ – МСХА имени К.А. Тимирязева.

Хатем Амжад работает в настоящее время в должности главного специалиста группы проекта «Микробный синтез 2024» Фонда «Национальное интеллектуальное развитие».



Диссертация выполнена на кафедре микробиологии и иммунологии ФГБОУ ВО РГАУ – МСХА имени К.А. Тимирязева Министерства сельского хозяйства Российской Федерации.

**Научный руководитель** – Джавахия Вахтанг Витальевич, гражданин Российской Федерации, кандидат биологических наук (06.01.11- Защита растений, 03.00.23 - Биотехнология), руководитель группы биотехнологии физиологически активных веществ Института Биоинженерии им. К.Г. Скрябина Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук.

**Официальные оппоненты:**

1. **Смирнова Ирина Павловна**, гражданин Российской Федерации, доктор биологических наук (03.02.03 – Микробиология, 03.01.06 – Биотехнология (в том числе бионанотехнологии), профессор, профессор-консультант медицинского института Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы», заслуженный профессор РУДН (адрес: 117198, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 6);

2. **Асатурова Анжела Михайловна**, гражданин Российской Федерации, кандидат биологических наук, (06.01.11- Защита растений), директор Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр биологической защиты растений» (адрес: 350039, Россия, Краснодарский край, г. Краснодар, п/о 39).

дали положительные отзывы на диссертацию.

**Ведущая организация**, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических исследований Российской академии наук» (ФИЦ ПНЦБИ РАН) (адрес: 142290, Московская область, г. Пушкино, пр-кт Науки, д.3) в своем положительном отзыве, подготовленном Дорониной Ниной Васильевной, доктором биологических наук, ведущим научным сотрудником Лаборатории радиоактивных изотопов/метилотрофии Института биохимии и



физиологии микроорганизмов им. Г. К. Скрыбина Российской академии наук (ИБФМ РАН) – обособленного подразделения ФГБУН ФИЦ ПНЦБИ РАН и Самойленко Владимиром Александровичем, кандидатом биологических наук, заведующим центром экспериментальной биотехнологии Института биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г. К. Скрыбина Российской академии наук (ИБФМ РАН) – обособленного подразделения ФГБУН ФИЦ ПНЦБИ РАН, утверждённом Грабарником Павлом Яковлевичем, доктором физико-математических наук, директором ФГБУН ФИЦ ПНЦБИ РАН, указал, что рассматриваемая диссертация 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.

Соискатель имеет 13 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации – 10 работ (4,20 п.л., авторского вклада 3,55 п.л. или 84,52 %), в том числе 2 статьи в международных изданиях Scopus и Web of Science (2,25 п.л., авторского вклада 1,8 п.л. или 80%).

Публикация в изданиях, которые входят в международные реферативные базы данных и системы цитирования (Scopus):

1. **Hatem, Amjad.** Inhibition of the growth and development of potato early blight pathogen (*Alternaria solani*) by combining *Penicillium chrysogenum*



VKM F-4876D with some Strobilurin-, Triazole-, and Phenylpyrrole-based fungicides / **Amjad Hatem**, N. Karpova, V. Yaderets, E. Glagoleva, K. Petrova, A. Shibaeva, A. Ovchinnikov, V. Dzhavakhiya // Agriculture. – 2022. – Т. 12. – №. 9. – С. 1488. <https://www.mdpi.com/2077-0472/12/9/1488>.doi:10.3390/agriculture12091488.

2. **Hatem, Amjad**. Inhibition of the Growth of *Botrytis cinerea* by *Penicillium chrysogenum* VKM F-4876D Combined with Fludioxonil-, Difenoconazole-, or Tebuconazole-Based Fungicides/ **Amjad Hatem**, V. Yaderets, N. Karpova, E. Glagoleva, A. Ovchinnikov, K. Petrova, A. Shibaeva, V. Dzhavakhiya // Agronomy. – 2023. – Т. 13. – №. 10. – С. 2602. DOI:[10.3390/agronomy13102602/](https://doi.org/10.3390/agronomy13102602).

Недостовверных сведений об опубликованных соискателем учёной степени работах, в которых изложены основные научные результаты диссертации, и заимствованных материалов или отдельных результатов без указания источника установлено не было.

На диссертацию и автореферат поступило 9 отзывов. Все отзывы положительные.

Отзывы прислали:

1. **Андрусенко Светлана Федоровна**, кандидат биологических наук, доцент кафедры биохимии, молекулярной биологии и медицины медико-биологического факультета ФГАОУ ВО «Северо-Кавказский федеральный университет». Отзыв без замечаний.

2. **Гончаров Николай Васильевич**, доктор биологических наук, главный научный сотрудник, заведующий лабораторией сравнительной биохимии ферментов ФГБУН Института эволюционной физиологии и биохимии им. И.М.Сеченова Российской академии наук. Отзыв содержит 1 замечание редакционного характера («В автореферате встречаются опечатки, стилистические и грамматические погрешности, которые не влияют на общую положительную оценку диссертационного исследования»).

3. **Грабович Маргарита Юрьевна**, доктор биологических наук,



профессор, профессор кафедры биохимии и физиологии клетки медико-биологического факультета ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет». Отзыв содержит 2 замечания рекомендательного характера («Имеются некоторые замечания по оформлению автореферата. результаты работы обобщены в заключении автореферата, но они не оформлены в качестве выводов. В нескольких случаях сначала приводятся сокращенные родовые названия фитопатогенов, а только потом полные...»).

4. **Енгальчева Ирина Александровна**, кандидат сельскохозяйственных наук, ведущий научный сотрудник, заведующая лабораторией молекулярно-иммунологических исследований ФГБНУ «Федеральный научный центр овощеводства». Отзыв без замечаний.

5. **Марквичев Николай Семенович**, кандидат технических наук, доцент кафедры биотехнологии и **Кареткин Борис Алексеевич**, кандидат технических наук, доцент кафедры биотехнологии ФГБОУ ВО «Российский химико-технологический университет имени Д.И.Менделеева». Отзыв содержит 1 замечание уточняющего характера («Для промышленного культивирования грибов рода *Penicillium* часто используют кукурузный экстракт. Почему данный вид сырья не был изучен как дополнительный/альтернативный источник азота?») и 1 замечание рекомендательного содержания («При исследовании и оптимизации процесса культивирования интересно было бы изучить влияние на продуктивность дробного введения сахарозы»).

6. **Нешкова Елена Андреевна**, кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории изучения биохимических маркеров риска хронических неинфекционных заболеваний ФГБУ Национальный медицинский исследовательский центр терапии и профилактической медицины Министерства здравоохранения РФ. Отзыв без замечаний.

7. **Перевертин Кирилл Александрович**, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник отдела «Агроэкологическая оценка почв и проектирование агроландшафтов», доктор биологических наук ФГБУ Федеральный исследовательский центр «Почвенный институт имени В.В.Докучаева». Отзыв без замечаний.



8. **Приданников Михаил Викторович**, кандидат биологических наук, заведующий лабораторией, ведущий научный сотрудник ФГБУН «Институт проблем экологии и эволюции им А.Н. Северцова Российской академии наук» Отзыв содержит 1 замечание редакционного характера («В автореферате имеются опечатки и ряд недочетов, что относится к оформительной части работы и нисколько не умаляет ее научной ценности»).

9. **Щербакова Лариса Александровна**, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник, заведующая лабораторией патофизиологии ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт фитопатологии». Отзыв содержит 1 замечание редакционного характера («В автореферате имеются опечатки. Но эти и другие мелкие недостатки (например, искажение масштаба некоторых фотографий культур на агаре) связаны исключительно с его оформлением и никак не снижают научной ценности и практической значимости диссертационной работы»).

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается их высокой квалификацией и компетентностью в данной отрасли, большим объемом научных исследований и рядом публикаций по тематике исследований диссертационной работы:

[http://diss.timacad.ru/catalog/disser/kd/hatem/sv\\_opponent.pdf](http://diss.timacad.ru/catalog/disser/kd/hatem/sv_opponent.pdf)

[http://diss.timacad.ru/catalog/disser/kd/hatem/sv\\_ved\\_org.pdf](http://diss.timacad.ru/catalog/disser/kd/hatem/sv_ved_org.pdf)

**Смирнова Ирина Павловна**, доктор биологических наук (03.02.03 – Микробиология, 03.01.06 – Биотехнология (в том числе бионанотехнологии), профессор, профессор-консультант медицинского института Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы», заслуженный профессор РУДН. Смирнова И.П. проводит исследования в области биотехнологии, микробиологии и биохимии, направленные на поиск грибных штаммов, синтезирующих широкий спектр метаболитов, которые находят применение в сельском хозяйстве, медицине и биологии.



**Асатулова Анжела Михайловна**, кандидат биологических наук, (06.01.11 - Защита растений), директор Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр биологической защиты растений». Асатулова А.М. проводит исследования, включающие поиск, выделение и изучение эффективных микроорганизмов, а также разработку на их основе биопрепаратов комплексного действия.

**Ведущая организация** – Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических исследований Российской академии наук» (ФИЦ ПНЦБИ РАН). В структуре учреждения имеется лаборатория радиоактивных изотопов, Института биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина Российской академии наук (ИБФМ РАН). В лаборатории радиоактивных изотопов, ведутся исследования по изучению биоразнообразия и физиолого-биохимических особенностей метилотрофных микроорганизмов (бактерий и дрожжей), использующих в качестве источников углерода и энергии восстановленные C1-соединения: метан, метанол, метилированные амины, галометаны и др. Коллектив сотрудников лаборатории имеет научные работы по тематике диссертационного исследования соискателя Хатем Амжад, которые подтверждаются наличием публикаций.

**Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:**

– **Предложены** условия культивирования, обеспечивающие выход биомассы *P. chrysogenum* ВКМ F-4876D с высокой противогрибной активностью. Выбран источник углерода - пищевой сахар в количестве 100 г/л, выбран дополнительный источник азота – сухое обезжиренное молоко в количестве 10 г/л;

– **Предложены** параметры культивирования *P. chrysogenum* ВКМ F-4876D в ферментационных установках объемом 15 л, проведена апробация процесса культивирования в ферментере объемом 100 л и масштабирование процесса культивирования в ферментационной установке объемом 1000л. Оптимальными для данного процесса параметры: уровень кислотности среды –



6,8-7,0, значение  $pO_2$  - (30-50) %;

– **Разработана** оптимальная технологическая схема получения сухой биомассы *P. chrysogenum* ВКМ F-4876D, включающая следующие стадии: культивирование штамма (температура - 24°C;  $pO_2$  - 50 %; pH-6,8-7,0; время культивирования 96 ч.), инактивирование биомассы (температура -80°C; время 30 мин.), центрифугирование биомассы (обороты 15000 об./мин.; расход – 100 л/ч), лиофильная сушка биомассы.

– **Впервые продемонстрирована** возможность комбинированного применения химических фунгицидов с сухой биомассой *P. chrysogenum*. Противогрибное действие сухой биомассы, внесенной в ростовую среду в количестве 1 г/л в комбинации с коммерческими фунгицидами, определено в пределах 58,3-100% в зависимости от применяемого фунгицида, а также выбранного тест-штамма патогена. Полученный в итоге данного сочетания синергетический эффект позволил без потери эффективности уменьшить рабочие концентрации химических фунгицидов до таких значений, при которых они неэффективны при использовании в качестве монопрепарата.

**Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что: расширены знания** о физиологических свойствах *P. chrysogenum*, влиянии элементов питания и условий культивирования штамма на рост и активность его по отношению к растительным фитопатогенам. **Установлен** синергетический эффект комбинированного применения сухой грибной биомассы и коммерчески используемых фунгицидов; научно **обоснована** перспектива снижения эффективных дозировок химических средств контроля, необходимых для борьбы с фитопатогенными микроорганизмами, что позволяет уменьшить негативное воздействие пестицидов на окружающую среду. **Показана** перспектива успешного контроля за развитием заболеваемости сельскохозяйственных растений без увеличения дозировок фунгицидов в виду отсутствия механизмов развития резистентности у фитопатогенных микроорганизмов к биопрепаратам. **Разработана** техническая документация на проведение процесса культивирования *P. chrysogenum* ВКМ F-4876D в ферментационной установке объемом 1000 л.



С учетом вышесказанного, научно **обосновано** появление на рынке нового высокоэффективного и экологически безопасного противогрибного препарата для контроля за поражением сельскохозяйственных культур фитопатогенными микроорганизмами.

**Применительно к проблематике диссертации результативно использованы** общепринятые и модифицированные методы промышленной биотехнологии, аналитической химии, микробиологии и фитопатологии. Все определения были выполнены с использованием современных методов анализа и на современном оборудовании, позволяющем получать результаты с высокой достоверностью.

**Значения полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:**

– **Получен** новый штамм *P. chrysogenum* F-4876D, обладающий высокой противогрибной активностью в отношении выбранных тест-культур;

– **Подобран** оптимальный состав питательной среды для культивирования штамма *P. chrysogenum* F-4876D следующего состава, г/л: пищевой сахар – 100, соевая мука обезжиренная – 30, сухое обезжиренное молоко – 10,  $\text{NaNO}_3$  – 2,  $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$  – 1.

– **Подобраны** условия и параметры культивирования штамма *P. chrysogenum* F-4876D в ферментационной установке объёмом 15 л: значение pH и концентрация растворенного кислорода составили 6,8-7,0 и 30-50% соответственно. Эти показатели обеспечивают продуктивность по мевастатину равную  $2 \pm 0,1$  г/л и прирост биомассы –  $40 \pm 2\%$ .

– **Проведена** апробация процесса культивирования штамма *P. chrysogenum* ВКМ F-4876D в биореакторе объёмом 100 л и его масштабирование процесса до проведения ферментации в 1000 л биореакторе. Подобраны параметры процесса: температура: 24°C, расход воздуха - 35-70 л/мин, pH - 6,8-7,0, обороты перемешивающего устройства - 100-450 об./мин, уровень растворенного кислорода - 50%, время культивирования: 72-96 часов, посевная доза: 10%.



– **Разработана** технологическая схема получения сухой биомассы *P. chrysogenum* F-4876D. Основными этапами схемы являются: процесс ферментации с выходом биомассы 40% и содержанием в ней мевастатина 2 г/л, центрифугирование культуральной жидкости, лиофилизация биомассы. Полученная сухая грибная биомасса содержит влагу не более 5%, сырой протеин не менее 40% и мевастатин не менее 5 г/кг.

– **Установлено** противогрибное действие сухой биомассы штамма *P. chrysogenum* ВКМ F-4876D и её комбинации с коммерческими химическими фунгицидами по отношению к тест-культур *F. oxysporum*, *A. solani*, *S. sclerotiorum*, *B. cinerea*. Определено, что выбранные тест-культуры обладают неодинаковой чувствительностью как к сухой биомассе *P. chrysogenum* ВКМ F-4876D, так и к использованным фунгицидам. Противогрибное действие сухой биомассы, внесенной в ростовую среду в количестве 1 г/л, находится в пределах 48,3 – 65%. При применении комбинации сухой биомассы в концентрации 1 г/л и коммерческих фунгицидов в концентрациях от 0,1 до 7,5 мг/л происходило достоверное синергетическое подавление развития микроорганизмов, свыше 60% во всех случаях.

– **Рекомендовано** применение комбинации сухой биомассы и химических фунгицидов для контроля за заболеваемостью сельскохозяйственных культур.

#### **Оценка достоверности результатов исследований выявила:**

Диссертационная работа выполнена на высоком научно-методическом уровне с использованием адекватных поставленным задачам современных методов исследований. Достоверность и обоснованность научных положений и выводов базируется на достаточном объеме выборки. Обработка данных проведена с помощью адекватных методов статистического анализа. Научные положения и выводы логично вытекают из диссертационной работы, четко сформулированы и имеют научное и практическое значение.

Теоретические аспекты работы согласуются с опубликованными ранее научными трудами отечественных и зарубежных исследователей.



Идея базируется на анализе и обобщении литературных данных отечественных и зарубежных исследований по изучению биотехнологических способов получения грибных штаммов, обладающих высокой противогрибной активностью, а также биологических способов контроля болезней сельскохозяйственных растений.

Установлено, что данное исследование направлено на разработку технологии получения сухой биомассы гриба *P. chrysogenum*, которая обладает противогрибной активностью по отношению к фитопатогенным микроорганизмам.

**Личный вклад соискателя состоит** в анализе и сборе информации для литературного обзора, проведении лабораторных опытов, проведении ферментаций в лабораторных и опытно-промышленных установках. Разработка программы исследований и выбор необходимых для её осуществления методов, а также систематизация, анализ полученных результатов, формулирование основных выводов и подготовка публикаций по теме исследований выполнены при участии научного руководителя.

**Диссертационный совет пришел к выводу о том, что в диссертации:**

- соблюдены критерии, установленные Положением о присуждении ученых степеней, которым должна отвечать диссертация, представленная на соискание ученой степени кандидата наук;
- отсутствуют недостоверные данные в диссертации и опубликованных работах, отражающих основные положения и научные результаты диссертации;
- решения, предложенные автором, аргументированы и оценены в сравнении с другими известными решениями;
- автор ссылается на источники заимствования отдельных результатов, теоретических и практических материалов.

В ходе защиты диссертации критических замечаний высказано не было.

Соискатель Хатем Амжад ответил на задаваемые ему в ходе заседания вопросы и привел аргументацию о необходимости всестороннего поиска альтернативных решений борьбы с фитопатогенами, включая биопрепараты на основе активных микроорганизмов или их метаболитов, во избежание



