

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 99.0.027.03,
СОЗДАННОГО НА БАЗЕ РОССИЙСКОГО ХИМИКО-ТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО
УНИВЕРСИТЕТА ИМЕНИ Д.И. МЕНДЕЛЕЕВА МИНИСТЕРСТВА НАУКИ
И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ, ТВЕРСКОГО
ГОСУДАРСТВЕННОГО ТЕХНИЧЕСКОГО УНИВЕРСИТЕТА МИНИСТЕРСТВА
НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ,
ИНСТИТУТА БИОХИМИЧЕСКОЙ ФИЗИКИ ИМ. Н.М. ЭМАНУЭЛЯ
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК,
ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело

№ _____

решение диссертационного совета
от «11» июня 2024 года № 10

О присуждении Шагаеву Антону Александровичу, гражданину Российской Федерации, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Разработка методов оценки характеристик и свойств грибов *Fusarium oxysporum* и *Trichoderma viride* при метаболизме экссудатов корневой системы огурца гибрида F₁ Атлет» по специальности 1.5.6. Биотехнология принята к защите «02» апреля 2024 года (протокол № 7) диссертационным советом 99.0.027.03, созданным на базе Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Тверской государственный технический университет» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биохимической физики им. Н.М.Эмануэля Российской академии наук (125047, Москва, Миусская площадь, 9, приказ о создании диссертационного совета от «28» сентября 2016 года №1172/нк).

Соискатель Шагаев Антон Александрович, «26» сентября 1994 года рождения. В 2018 году окончил Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева. В 2022 году освоил программу подготовки научных и научно-педагогических кадров в аспирантуре Российского химико-технологического университета имени Д.И. Менделеева. В настоящее время работает в должности заведующего лабораторией и ассистента кафедры биотехнологии Российского химико-технологического университета имени Д.И. Менделеева Министерства науки и высшего образования Российской Федерации.

Диссертация выполнена на кафедре биотехнологии Российского химико-технологического университета имени Д.И. Менделеева Министерства науки и высшего образования Российской Федерации.

Научный руководитель – кандидат технических наук, доцент Марквичев Николай Семенович, доцент кафедры биотехнологии Российского химико-технологического университета имени Д.И. Менделеева.

Официальные оппоненты:

Шаповал Ольга Александровна, гражданка Российской Федерации, доктор сельскохозяйственных наук, заведующий отделом испытаний элементов агротехнологий, агрохимикатов и регуляторов роста Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт агрохимии имени Д.Н. Прянишникова»;

Киселева Марина Ивановна, гражданка Российской Федерации, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отдела микологии и иммунитета Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт фитопатологии»,

дали *положительные* отзывы на диссертацию.

Ведущая организация – Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарёва» (Саранск) в своем *положительном* отзыве, подписанном доктором сельскохозяйственных наук, профессором, заведующим кафедрой агрономии и ландшафтной архитектуры Смолиным Николаем Васильевичем, указала, что диссертационная работа «Разработка методов оценки характеристик и свойств грибов *Fusarium oxysporum* и *Trichoderma viride* при метаболизме экссудатов корневой системы огурца гибрида F₁ Атлет» является законченной научно-квалификационной работой, в которой изложены новые научно-обоснованные принципы исследования характеристик, свойств и взаимодействия микроорганизмов ризосферы растений, что вносит значительный вклад в исследование, разработку и оценку эффективности принципиальных способов снижения влияния абиотических и биотических стрессов при возделывании сельскохозяйственных культур. Диссертация полностью удовлетворяет требованиям пп. 9-14 «Положения о порядке присуждения учёных степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 № 842 (в действующей редакции), предъявляемым к диссертациям на соискание учёной степени кандидата наук, а ее автор – Шагаев Антон Александрович – заслуживает присуждения учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.6. Биотехнология (отзыв обсужден и утвержден на расширенном заседании кафедры агрономии и ландшафтной архитектуры «14» мая 2024 года, протокол № 5).

Соискатель имеет 39 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации опубликовано 14 работ, из них в рецензируемых научных изданиях опубликовано 4 работы. Общий объем публикаций составляет 62 страницы. **В диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных работах.** Все работы по теме диссертации опубликованы с соавторами, личный вклад автора составляет не менее 50 % и состоит в планировании и проведении экспериментов, получении, обработке, систематизации и интерпретации результатов, формулировке выводов, подготовке и оформлении материалов исследований для публикаций, а также их представлении на международных и российских конференциях. Результаты диссертационной работы представлены и обсуждены на 5 международных и всероссийских научных конференциях и форумах; монографий и депонированных рукописей соискатель не имеет.

Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:

1. **Шагаев А.А.**, Зеленова Н.А., Дмитриева Е.Н., Белов А.А., Марквичев Н.С. Поверхностное культивирование грибов рода *Fusarium* и *Trichoderma* при непрерывном подводе компонентов питания // Бутлеровские сообщения. 2017. Т. 50. № 5. С. 65–72 (ВАК).

2. **A. Shagaev**, N. Behbudzada, A. Zhuravleva, O. Goryunova, and N. Markvichev. Cultivation of fungi crops on hollow cellulose tubes as a model of the root system of a plant // 20th International Multidisciplinary Scientific GeoConference SGEM 2020, NANO, Bio and Green – Technologies for a Sustainable Future. Vol. 6 of Advances in Biotechnology. Sofia, Bulgaria. 2020. P. 87–96. (Scopus)

3. Писаревская В.А., Журавлева А.С., Минич М.В., Бехбудзада Н.Б., **Шагаев А.А.**, Марквичев Н.С. Рост и взаимодействие штаммов *Trichoderma spp.* при различных температурах // Известия ВУЗов. Прикладная химия и биотехнология. 2022. Т. 12, № 3. С. 417–423. (Web of Science)

4. **Шагаев А.А.**, Журавлева А.С., Бехбудзада Н.Б., Марквичев Н.С. и др. Повышение продуктивности растительных экосистем регулированием уровня фитопатогенеза *Fusarium oxysporum* экссудатами корневой системы растений // Химическая промышленность сегодня. 2023. № 2. С. 7–12. (CAS)

На диссертацию и автореферат поступило 11 отзывов, *все положительные*. В отзывах указывается, что представленная к защите диссертационная работа характеризуется высокой актуальностью, научной ценностью и имеет большое значение для теории и практики биотехнологической отрасли промышленности Российской Федерации. Отзывы направили:

1. Осипова Галина Степановна, доктор сельскохозяйственных наук, профессор, профессор кафедры плодовоовощеводства и декоративного садоводства Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный аграрный университет». В отзыве высказано пожелание продолжить исследования для создания системы защиты растений, способствующей усилению устойчивости растений к стрессовым условиям и повышению продуктивности.

2. Джалилов Февзи Сеид-Умерович, доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой защиты растений Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Российский государственный аграрный университет – Московская сельскохозяйственная академия имени К.А. Тимирязева». Без замечаний.

3. Скиба Екатерина Анатольевна, доктор технических наук, доцент, ведущий научный сотрудник лаборатории биоконверсии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института проблем химико-энергетических технологий Сибирского отделения Российской академии наук. В отзыве содержатся следующие замечания и вопросы: (1) Согласно рис. 8 при добавлении экссудатов в питательную среду значительно снижается фитотоксичность и одновременно на два порядка снижается абсолютно сухая биомасса грибов. Хорошо было бы привести объяснение этого явления; (2) На С. 16 в подразделе «Исследование снижения биотических стрессовых воздействий с помощью внесения модели экссудатов при выращивании огурца» описано моделирование заражения *Cucumis sativus* спорами *Fusarium oxysporum*. Не меньшую практическую ценность, на мой взгляд, представляет внесение не только экссудатов огурцов, но и внесение через некоторое время спор *Trichoderma viride*. Это позволило бы смоделировать распространенную

ситуацию при выращивании огурцов и дать рекомендации по её исправлению; (3) На С.5 автореферата указано, что результаты исследований использованы при создании органического удобрения «ВитАмин» (№ гос. регистрации 008(101)-20-3373-1). Но в тексте автореферата не приведены ни действующие вещества нового удобрения, ни способ применения (ростостимулирование, подкормка по листу или корневая подкормка), ни охват сельскохозяйственных культур, ни периоды роста растения, в которые эффективно данное удобрение и т.д. Эти данные в автореферате подчеркнули бы высокую практическую значимость работы.

4. Ущиповский Игорь Валентинович, кандидат биологических наук, доцент, заместитель директора по научной работе, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярно-генетических исследований и клеточной селекции Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр лубяных культур», и Пролётова Наталья Викторовна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, ведущий научный сотрудник лаборатории селекционных и биотехнологий того же учреждения. В отзыве имеются следующие вопросы и комментарии: (1) Требуется уточнить в выводах параметр величины снижения скорости накопления сухой массы растения – 60 %; (2) Кроме янтарной, яблочной и лимонной кислот в составе экссудатов огурца гибрида F₁ Атлет присутствуют в довольно высоком количестве «Другие органические кислоты». Целесообразно озвучить, какие именно кислоты определил автор.

5. Халилуев Марат Рушанович, кандидат биологических наук, доцент, доцент кафедры биотехнологии института агробиотехнологии Российского государственного аграрного университета – Московской сельскохозяйственной академии имени К.А. Тимирязева. В отзыве содержится замечание: «Из незначительных замечаний следует отметить, что латинское название растений огурца следует сопровождать не только родовым и видовым названием, но и автором классификатора».

6. Гавриш Сергей Федорович, доктор сельскохозяйственных наук, профессор, заместитель директора по науке общества с ограниченной ответственностью «НИИСОК». В отзыве указаны следующие замечания: (1) При анализе состава экссудатов, стоило бы исследовать не только органические кислоты и сахара, т.к. растения в ходе своего развития выделяют в ризосферу белки, которые в свою очередь являются одним из компонентов экссудатов и могут играть важную роль в процессах взаимодействия растений с окружающей средой; (2) При исследовании снижения биотических стрессовых воздействий с помощью внесения модели экссудатов стоило бы исследовать влияние модели экссудатов на пораженное *F. oxysporum* растение.

7. Волобуева Ольга Гавриловна, доктор сельскохозяйственных наук, доцент, профессор кафедры микробиологии и иммунологии Российского государственного аграрного университета – Московской сельскохозяйственной академии имени К.А. Тимирязева, и Козлов Андрей Владимирович, доктор биологических наук, доцент, заведующий той же кафедрой. В отзыве указан вопрос: «Чем был обусловлен выбор методики определения суммарной концентрации экссудатов растений на основе измерения химического потребления кислорода (ХПК)?»

8. Мартинсон Екатерина Александровна, кандидат технических наук, доцент, директор института биологии и биотехнологии, заведующий кафедрой биотехнологии Федерального государственного бюджетного образовательного

учреждения высшего образования «Вятский государственный университет», и Позолотина Надежда Владимировна, кандидат технических наук, доцент кафедры микробиологии того же университета. В отзыве имеется замечание: «Диссертанту следовало привести в автореферате более подробные сведения об использовании результатов своего исследования при создании органического удобрения «ВитАмин».

9. Самойленко Владимир Александрович, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, заведующий центром экспериментальной биотехнологии Института биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина Российской академии наук. В отзыве имеются следующие вопросы и замечания: (1) Автором изучен основной состав экссудатов, показано, что основным его компонентами являются органические кислоты, сформулирован состав модельного раствора. Для определения суммарной концентрации экссудатов автор применял метод титриметрического определения химического потребления кислорода (ХПК). Использование этого метода менее информативно по сравнению с прямым анализом состава экссудатов. (2) В тексте автореферата нет единообразия в размерности параметров, целесообразно пользоваться системой СИ.

10. Будынков Николай Иванович, кандидат сельскохозяйственных наук, ведущий научный сотрудник лаборатории сельскохозяйственной экологии микроорганизмов Федерального государственного бюджетного учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт фитопатологии», и Михалёва Светлана Николаевна, кандидат сельскохозяйственных наук, старший научный сотрудник той же лаборатории. В отзыве содержится вопрос: «Проявляются ли выявленные закономерности на других сельскохозяйственных культурах, патогенах, антагонистах?»

11. Цугкиев Борис Георгиевич, доктор сельскохозяйственных наук, директор научно-исследовательского института биотехнологии, профессор кафедры микробиологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Горский государственный аграрный университет», и Гагиева Лариса Черменовна, доктор биологических наук, доцент кафедры биотехнологии и стандартизации того же университета. Без замечаний.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается тем, что они являются признанными специалистами в данной области биотехнологии, что подтверждается наличием соответствующих публикаций в ведущих научных рецензируемых изданиях, а также спецификой и профилем диссертационной работы, и выполнен в соответствии с пп. 22 и 24 «Положения о присуждении научных степеней» (постановление Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 № 842 в действующей редакции).

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований: *разработан* новый подход для оценки взаимодействия грибов при метаболизме экссудатов растений, а также метод, позволяющий исследовать развитие и взаимодействие микроорганизмов на фоне экссудации. Получены новые экспериментальные данные по влиянию экссудации растения на взаимодействие микроорганизмов, при этом показано, что дополнительное внесение экссудатов влияет на синтез ряда гидролитических ферментов – протеолитических, целлюлолитических. *Установлена* эффективность внесения модельного раствора экссудатов в поливной раствор для снижения уровня фитопатогенности

F. oxysporum, а также повышения уровня антагонистической активности *T. viride* по отношению к *F. oxysporum*. Определен состав органических компонентов экссудатов корневой системы растений огурца гибрида F₁ Атлет при выращивании растений в стерильных условиях, при этом основными компонентами экссудатов были органические кислоты (янтарная, яблочная, лимонная). Исследован процесс секреции экссудатов, и на основе полученных данных составлен модельный раствор экссудатов, в состав которого входят органические кислоты и моносахара.

Установлено негативное влияние экссудатов корневой системы на секрецию ферментов литического ряда у грибов *Fusarium oxysporum* и *Trichoderma viride*.

Теоретическая значимость исследований обоснована тем, что: в диссертации проводится расширение научных знаний о взаимодействии грибов с корневой системой растений, что может привести к новым открытиям в области микологии и фитопатологии. Результаты исследования могут использоваться для разработки новых методов диагностики и контроля заболеваний растений, вызванных фитопатогенными грибами. Представленная работа является фундаментальным и прикладным исследованием, которое может быть рекомендовано для оптимизации мероприятий по биологической защите растений, так как в ней демонстрируются новые подходы к методам изучения метаболизма различных видов грибов в процессе метаболизма ими экссудатов растений. Полученные результаты являются теоретической основой для обоснования физиологических особенностей метаболизма грибов при развитии на экссудатах огурца, а также показывают возможные пути повышения устойчивости растений к различным биотическим стрессам, возникающим в процессе их развития.

Значение полученных соискателем результатов исследований для практики подтверждается тем, что: Методы, разработанные в рамках исследования по изучению характеристик и свойств грибов при метаболизме экссудатов растений, могут быть рекомендованы для оптимизации мероприятий по биологической защите растений. Результаты исследования использованы при создании органического удобрения «ВитАмин» (№ государственной регистрации 008(101)-20-3373-1), которое может применяться при защите растений от абиотических и биотических стрессов.

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

- выводы диссертации обоснованы, не вызывают сомнения и согласуются с современными подходами к выбору объектов и методов исследования;
- достоверность полученных результатов обеспечена использованием современных методов эксперимента, соответствующих современному научному уровню;
- результаты получены с использованием сертифицированного оборудования, показана воспроизводимость результатов исследования в различных условиях;
- теория построена на фундаментальных законах, согласуется с опубликованными экспериментальными данными по теме диссертации.

Личный вклад соискателя состоит в том, что автор принимал непосредственное участие в планировании и проведении экспериментов, получении, обработке, систематизации и интерпретации результатов, формулировке выводов, подготовке и оформлении материалов исследований для публикаций, а также их представлении на международных и российских конференциях.

В ходе защиты диссертации были заданы следующие вопросы:

1. Могут ли быть применимы результаты Вашего исследования по влиянию экссудации растений огурца гибрида F₁ Атлет на другие сорта и гибриды огурца?
2. Проводили ли Вы исследование влияния экссудатов растения на взаимодействие и развитие микроорганизмов ризосферы при выращивании растений не в минераловатном субстрате? Например, торфа или кокосовый субстрат?
3. Какую роль выполняло Ваше исследование при разработке органического удобрения ВитАмин?
4. Какой, по Вашему мнению, предполагаемый экономический эффект от использования разработанных методов для выращивания овощной продукции в условиях закрытого грунта?
5. Исходя из результатов исследования, являются ли высшие растения индукторами собственного поражения фитопатогенными грибами?
6. Каким образом можно повлиять на синтез фитотоксичных метаболитов грибов при снижении уровня экссудации растений?

Соискатель Шагаев Антон Александрович ответил на заданные ему в ходе заседания вопросы и привел собственную аргументацию.

На первый вопрос автор пояснил, что результаты исследования экссудатов растений огурца гибрида F₁ Атлет могут быть использованы на других сортах и гибридах огурца. Можно использовать теоретическую основу, которая была разработана в ходе исследования, на других сортах и гибридах огурца, для иных культур надо исследовать состав и количество экссудатов. Взаимодействие микроорганизмов необходимо оценивать при метаболизме ими экссудатов корневой системы в условиях лимита компонентов питания, большого разнообразия компонентов, пригодных для метаболизма, и градиента питательных веществ.

На второй вопрос автор ответил, что экссудаты растения являются одним из основных факторов формирования и изменения ризосферы, и их влияние будет наблюдаться при развитии растений в различных субстратах, включая минеральную вату, кокосовый субстрат и торф.

На третий вопрос автор уточнил, что в ходе исследования был проанализирован состав корневой системы огурца при выращивании в стерильных условиях, была определена концентрация экссудатов и веществ, входящих в состав экссудатов. На основе исследования был разработан модельный раствор экссудатов и показана эффективность его внесения для снижения уровня секреции литических ферментов фитопатогенными грибами. Теоретические знания, полученные в ходе исследования, легли в основу разработки органического удобрения «ВитАмин».

На четвертый вопрос автор пояснил, что предполагаемый экономический эффект достаточно сложно посчитать. Однако использование теоретических знаний, полученных в ходе исследований, дает возможность понимать, какие процессы протекают в ризосфере растений и оптимизировать биологическую защиту растений, что в свою очередь окажет свое влияние на экономический эффект.

На пятый вопрос автор ответил, что в результате исследования показано, что снижение уровня экссудатов корневой системы растения способствует секреции литических ферментов у микроорганизмов, на примере *F. oxysporum*. Однако на секрецию экссудатов могут влиять различные абиотические и биотические факторы, и метаболизм растения только косвенно можно связать с индукцией собственного поражения фитопатогенными микроорганизмами.

На шестой вопрос автор пояснил, что в результате исследования было установлено, что проникновение *F. oxysporum* внутрь растения происходит только при недостатке экссудации, при этом грибы, находящиеся на корневой системе, способны на ней развиваться. Известно, что если экссудация по каким-либо причинам снова начинается, то в соответствии с теорией регулирования ферментативной активности (теория катаболитной репрессии) синтез литических ферментов прекращается. Клетки фитопатогенного микроорганизма продолжают метаболизировать экссудаты (модель экссудатов), и «атака» на растение прекращается.

На заседании «11» июня 2024 года диссертационный совет за решение научной задачи по разработке методов оценки характеристик и свойств грибов при метаболизме экссудатов корневой системы, имеющей существенное значение для развития биотехнологии, принял решение присудить Шагаеву Антону Александровичу ученую степень кандидата биологических наук.

Диссертация соответствует требованиям пп. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842 (в действующей редакции). По своему содержанию диссертация отвечает паспорту специальности 1.5.6. Биотехнология по направлениям исследования 13. «Агробиотехнологии, включая растительные клеточные культуры, технологии микроразмножения, производство вторичных метаболитов, использование растительных генетических ресурсов»; 17. «Биотехнологии для повышения продуктивности сельского хозяйства. Исследование и разработка требований к сырью (включая вопросы его предварительной обработки), биостимуляторам и другим элементам»; 21. «Инженерия биопроцессов, включая кинетику и моделирование биологических систем, создание биореакторов и систем мониторинга и контроля». Результаты работы могут быть рекомендованы для изучения и внедрения в научных и образовательных организациях, а также на сельскохозяйственных предприятиях.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 16 человек, из них 15 докторов наук по научной специальности 1.5.6. Биотехнология, участвовавших в заседании, из 24 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за – 16 (шестнадцать), против – нет, недействительных бюллетеней – нет.

Председатель
диссертационного совета

Виктор Иванович Панфилов

Ученый секретарь
диссертационного совета

Ирина Васильевна Шакир



11.06.2024