

ОТЗЫВ

официального оппонента доктора сельскохозяйственных наук Шаповал Ольги Александровны на диссертационную работу **Шагаева Антона Александровича** «Разработка методов оценки характеристик и свойств грибов *Fusarium oxysporum* и *Trichoderma viride* при метаболизме экссудатов корневой системы огурца гибрида F₁ Атлет», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности

1.5.6. Биотехнология

Актуальность Ризосфера имеет сильное влияние на метаболизм растения, так как именно в ней происходит круговорот углерода и воды, улавливание питательных веществ, поглощение и хранение углерода, выделение углекислого газа и ассимиляция первичных продуктов фотосинтеза. Исследования последних лет направлены на изучение корневых экссудатов, которые являются непосредственным участником ризосферных взаимодействий как растение–растение, растение–микроорганизм, выступая в качестве источника энергии микроорганизмов и действующие как химические аттрактанты и репелленты. Эти взаимодействия могут варьироваться от нейтральных до полезных или вредных. Они служат связующими молекулами для инициирования биологических и физиологических взаимодействий между микробиоценозом почвы и корнями растений, влияя на химические и физические свойства почвы и почвенного микробного сообщества, ингибирование роста конкурирующих растений, способствуя выгодным симбиозам, например, с помощью азотфиксирующих бактерий, микоризы и эпифитов, и предотвращения атак патогенных бактерий и грибов.

Поэтому диссертационная работа **Шагаева Антона Александровича** «Разработка методов оценки характеристик и свойств грибов *Fusarium oxysporum* и *Trichoderma viride* при метаболизме экссудатов корневой

системы огурца гибрида F₁ «Атлет» является актуальной и своевременной. Проведенные исследования, направленные на определение механизмов взаимодействия грибов с корневой системой растений, являются важными на современном этапе для разработки методов повышения урожайности и устойчивости к заболеваниям. Другой аспект актуальности данной работы это - разработка новых методов оценки характеристик и свойств грибов, так как очевидно несоответствие надлежащих процедур скрининга для отбора наиболее подходящих микроорганизмов для борьбы с болезнями в различных почвенных средах при инновационных работах.

Поэтому не вызывает сомнений актуальность и научную значимость диссертационной работы Шагаева А. А.

Целью диссертационной работы Шагаева А.А. является исследование характеристик и свойств грибов при метаболизме экссудатов растений, а также изучение особенностей взаимодействия грибов с растениями огурца.

Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

- определить качественный и количественный состав органических компонентов, входящих в состав экссудатов, и оценить их влияние на развитие растений при обработке различными концентрациями раствора прикорневой зоны огурца;

- исследовать особенности развития грибов *F. oxysporum* и *T. viride* в условиях естественной экссудации растения огурца и искусственно подобранной модели экссудатов при поверхностном и глубинном культивировании;

- изучить морфологические особенности и свойства грибов *F. oxysporum* и *T. viride* при развитии на поверхности мембранного биореактора при постоянном подводе искусственной модели экссудатов огурца;

- оценить влияние экссудатов огурца (модели экссудатов) на фитопатогенные свойства *F. oxysporum* при развитии в прикорневой зоне растения на фоне других микроорганизмов.

Все сформулированные цели и задачи решены соискателем в ходе выполненных многопрофильных научных исследований.

Диссертационные исследования имеют практическое значение для биологической защиты растений огурца в условиях тепличных комбинатов.

Научная новизна исследования. Научная новизна диссертации заключается в разработке новых методов оценки характеристик и свойств грибов *Fusarium oxysporum* и *Trichoderma viride*, которые являются более точными и эффективными, чем существующие методы. В работе проводится исследование взаимодействия данных грибов с корневой системой огурца гибрида F₁ Атлет, изучаются механизмы этого взаимодействия и их влияние на рост и развитие растений. Также проводится исследование метаболизма экссудатов, выделяемых корневой системой огурца, и их влияния на взаимодействие между грибами. Определяются характеристики и свойства грибов *Fusarium oxysporum* и *Trichoderma viride*, которые влияют на корневую систему огурца. Результаты исследования могут использоваться для разработки новых методов повышения урожайности и устойчивости к болезням в сельском хозяйстве. Диссертационная работа является актуальной, а полученные результаты обладают научной новизной и практической значимостью. По своей направленности, тематике и методологии исследований работа полностью соответствует специальности 1.5.6. Биотехнология.

Диссертация на тему «Разработка методов оценки характеристик и свойств грибов *Fusarium oxysporum* и *Trichoderma viride* при метаболизме экссудатов корневой системы огурца гибрида F₁ Атлет» представляет собой тщательное исследование, которое имеет высокую теоретическую и научно-практическую ценность.

Теоретическая значимость диссертации заключается в расширении 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. Научно-практическая ценность диссертации заключается в возможности применения полученных результатов для повышения урожайности и качества продукции в сельском хозяйстве. Разработка методов оценки характеристик грибов поможет в создании новых биопрепаратов для защиты растений от болезней и повышения их устойчивости к неблагоприятным факторам окружающей среды.

Таким образом, диссертация Шагаева А.А. вносит значимый вклад в развитие сельскохозяйственной науки и практики, который обеспечит улучшение качества продукции и повышение эффективности производства.

Степень обоснованности и достоверность полученных результатов исследования в диссертации на тему «Разработка методов оценки характеристик и свойств грибов *Fusarium oxysporum* и *Trichoderma viride* при метаболизме экссудатов корневой системы огурца гибрида F₁ Атлет» обеспечивается использованием современных методов исследования, репрезентативностью выборки, а также статистической обработкой данных.

В диссертации обосновано использование различных методов исследования из области микологии, фитопатологии и микробиологии. Кроме того, в работе задействованы современные методы статистической обработки данных, что обеспечивает объективность и достоверность полученных результатов.

Достоверность полученных результатов подтверждается их соответствием теоретическим положениям и практическим данным, а также апробацией основных положений диссертации на научных конференциях и публикацией статей в рецензируемых научных изданиях.

На защиту были вынесены следующие положения:

1) В экссудатах корневой системы огурца гибрида F₁ Атлет содержатся янтарная, лимонная и яблочная кислоты. Излишек экссудатов в прикорневой зоне замедляет рост огурцов.

2) Экссудаты в прикорневой зоне снижают активность целлюлолитических и протеолитических ферментов у *T. viride* F2001 и *F. oxysporum* F2106.

3) Метод оценки взаимодействия грибов при непрерывном питании включает разработку мембранного реактора и условий культивирования.

4) Изучение взаимодействия фитопатогенных культур и агентов биологического контроля на питательных средах, приближенных к реальным условиям, должно учитывать состав и количество органических веществ (экссудатов) в прикорневой зоне.

5) Добавление модельного раствора экссудатов в поливной раствор влияет на способность *F. oxysporum* проникать внутрь растения и подавляет его литические ферменты.

Положения, представленные в диссертации к защите, сформулированы на основе результатов, полученных автором в ходе многочисленных исследований. Эти результаты согласуются с целями и задачами работы. Обсуждение результатов проводилось с использованием различных оригинальных источников литературы.

Публикация и апробация результатов исследования. По материалам диссертации опубликовано 14 печатных работ, в том числе 4 статьи в журналах, рекомендованных ВАК и входящих в реферативную базу РИНЦ, международные реферативные базы по научным публикациям WoS и Scopus. Полученные результаты были представлены в разные годы на пяти Международных и Всероссийских форумах.

Структура и содержание диссертационной работы. Материалы диссертационной работы изложены на 139 страницах машинописного текста. Работа содержит 37 рисунков и 4 таблицы. Диссертация состоит из введения,

обзора литературы, материалов и методов исследований, полученных результатов, их обсуждения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы. Библиография включает 207 отечественных и зарубежных источников.

Во введении обоснована актуальность исследований. Ризосфера – это сложная микробная среда, где происходят важные процессы взаимодействия между микроорганизмами и корневой системой растения. Таким образом изучение экссудатов корневой системы, которые метаболизируются ризосферными микроорганизмами, имеет большое значение для понимания этих процессов. Несмотря на многочисленные исследования, многие аспекты взаимодействий в ризосфере до сих пор остаются невыясненными. Поэтому актуальность темы исследования обосновывает необходимость понимания влияния экссудатов на различные взаимодействия между микроорганизмами и растением. Также приводится степень разработанности темы, научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы, сформулированные цели и задачи, основные положения, выносимые на защиту, степень достоверности и апробация результатов, структура диссертации. Приводятся оценка личного вклада автора в выполнение работы, публикации по материалам диссертации и апробация работы, а также – благодарности соискателям, оказывавшим помощь при её выполнении.

В Главе I. В обзоре литературы Шагаев А. А. рассматривает вопросы, связанные с влиянием механизмов выделения веществ из корней (корневой экссудации) на биоразнообразие микроорганизмов в области, окружающей корни растений (ризосфере). Также изучается воздействие различных стрессовых факторов – как абиотических, так и биотических, – и исследуется роль сахаров в механизмах защиты растений. Кроме того, в работе исследовано использование агентов биологического контроля для борьбы с болезнями растений.

В диссертации, с опорой на работы зарубежных и отечественных авторов, подробно описана система взаимодействия различных микроорганизмов, сосуществующих в ризосфере корней различных растений. Указывается, что выделение корневых экссудатов, представляющих собой органические вещества сложной химической природы, является одним из механизмов адаптации растений к почвенным условиям и присутствию микроорганизмов.

Анализируются данные о том, как секреция растений влияет на микроорганизмы, существующие за счёт метаболизма экссудатов. Также обсуждается, что количество выделяемого вещества и его состав зависят от множества факторов: вида растения, типа корневой системы, наличия в ризосфере вредных микроорганизмов, токсичных веществ и стрессовых факторов среды. Анализ состава экссудатов показывает, что они могут включать различные йоны, соединения на основе аминокислот, стеридов и многих других органических и неорганических химических соединений.

В своей работе соискатель оперирует авторскими и обзорными источниками литературы и сопоставляет их данные между собой и со своими результатами, что говорит о его высоком профессиональном уровне.

В главе II. В этой части работы дана оценка использования объектов, материалов и методов, используемых в диссертации.

Шагаев А. А. подробно описывает методы, которые он использовал при изучении чистых культур микроорганизмов: методы поверхностного и глубинного культивирования *T. viride* и *F. oxysporum*, метод встречных колоний и другие. Отличительная черта и новизна – это исследования, проведённые с использованием экспериментальных методов выращивания огурца в стерильных условиях с определением состава и концентрации синтезируемых растениями экссудатов.

Применение широкого спектра разнообразных методов в исследовании позволяет сделать вывод, что работа выполнена на высоком методологическом уровне.

В главе III. Соискатель приводит данные, полученные в результате изучения свойств и особенностей секреции корневых экссудатов растениями огурца: проведено сравнение искусственного раствора, моделирующего состав экссудатов, и естественных экссудатов растения огурца, и исследовано развитие на них микроорганизмов и метаболизм ими экссудатов. Основными показателями, по которым оценивались взаимодействия грибов и растений, приняты химическое потребление кислорода и коэффициент экссудации. Соискателем достоверно доказано, что увеличение массы растений приводит к повышению концентрации органических веществ в прикорневой зоне огурца и концентрация экссудатов пропорциональна накоплению зелёной массы растений. Интересны для дальнейшего понимания механизмов, происходящих в ризосфере растения данные о том, что повышенная концентрация экссудатов в прикорневой зоне при отсутствии микроорганизмов негативно влияла на ростовые характеристики растений. Проведенный анализ химического состава экссудатов огурца показал, что большую часть занимают органические кислоты, такие как янтарная, яблочная и лимонная, а также сахара – фруктоза и глюкоза. Эти органические кислоты и сахара составляют от 45% до 60% всех компонентов в составе экссудатов, выделяемых растениями огурца.

Соискателем был сделан интересный вывод, что в прикорневой зоне растения огурца формируется микробное сообщество, состоящее из множества микроорганизмов – как фитопатогенных, так и безвредных или фитостимулирующих. Для исследования взаимоотношений различных микроорганизмов автор работы использует метод культивирования микроскопических грибов на специально созданной питательной среде,

которая по составу и свойствам приближена к натуральной и моделирует состав экссудатов огурца.

При сравнении свойств грибов, выращенных на стандартных средах и на средах с различными концентрациями искусственных экссудатов, были выявлены определенные закономерности, касающиеся не только морфологических и культуральных признаков, но и проявления антагонистических свойств, фитотоксичности и других особенностей.

Соискатель провел исследование, в котором смоделировал развитие микроорганизмов в зоне, окружающей корни живого растения, – ризосфере. Для этого была создана специальная установка, имитирующая выделение веществ живым растением, в которой микроорганизмы культивировали в условиях непрерывной подачи искусственного раствора экссудатов. В ходе исследования изучались особенности развития микроорганизмов *T. viride* и *F. oxysporum*. Оценка проводилась по количеству остаточных органических веществ и показателям протеолитической и целлюлолитической активности. Эксперименты показали, что при совместном культивировании выбранных штаммов на поверхности с непрерывным подводом питательной среды *T. viride* полностью подавляет рост *F. oxysporum*.

Интересным наблюдением стало то, что гриб *F. oxysporum* проникает в растение только при недостаточном уровне экссудации. Соискатель объясняет это явление сложным механизмом катаболитной репрессии, при котором гриб становится агрессивным к растению в условиях дефицита экссудатов.

Результаты изложены подробно и описывают:

- методику изучения процесса экссудации корневой системы огурца (гибрид F₁ Атлет) и процесс подготовки раствора, имитирующего основные компоненты экссудатов огурца;

- эффективность метаболизма модельного раствора экссудатов огурца грибами *F. oxysporum* F2106 и *T. viride* F2001 при поверхностном и

глубинном культивировании, и условия для проявления их антагонистической активности;

- методику культивирования грибов с использованием мембранного реактора в условиях развития штаммов *F. oxysporum* F2106 и *T. viride* F2001 на искусственном растворе экссудата, имитирующих реальные условия развития в прикорневой зоне.

Актуальность, новизна исследований, высокий методический уровень, большой объем проделанных экспериментов и тщательное обсуждение результатов с привлечением большого количества оригинальных источников позволяют положительно оценить данную научную работу.

В качестве вопросов и замечаний к содержанию диссертации можно отметить следующее:

1. Соискатель много рассуждает о разработке методов биологической борьбы с патогенной грибной микрофлорой растений. Однако в заключении указывает, что, результаты исследования использованы при создании органического удобрения «ВитАмин» № государственной регистрации 008(101)-20-3373-1. При этом никакой характеристики этого продукта соискатель не приводит, как и данных о его биологической эффективности.

2. Соискателем не показан также предполагаемый экономический эффект от использования разработанных методов для выращивания овощной продукции в условиях закрытого грунта. Было бы интересно обозначить продолжение исследований в решении вопросов, касающихся процессов происходящих в ризосфере

3. Нет пояснений - для чего методические описания повторяются в главах, где приводятся результаты исследований, например стр. 78 и 81. Глава «Материалы и методы» написана подробно и содержательно, с выкладками шкал, расчетов и графиков.

4. Требуется разъяснения установленная соискателем тенденция отрицательного влияния на ростовые характеристики растения повышения

концентрации экссудатов в прикорневой зоне огурца при отсутствии микроорганизмов – стр. 70, гл.3.1.1).

Приведенные замечания не снижают общего положительного впечатления о работе.

Соответствие диссертации и автореферата критериям «Положения о порядке присуждения ученых степеней». Диссертация соответствует паспорту научной специальности ВАК 1.5.6. Биотехнология – по п. 13 (в части агробиотехнологий), по п. 17 (в части биотехнологии для повышения продуктивности сельского хозяйства), по п. 21 (в части моделирования биологических процессов). Диссертационная работа Шагаева Антона Александровича соответствует заявленной специальности согласно области исследований во всех её разделах.

Диссертационная работа Шагаева Антона Александровича «Разработка методов оценки характеристик и свойств грибов *Fusarium oxysporum* и *Trichoderma viride* при метаболизме экссудатов корневой системы огурца гибрида F₁ Атлет» является самостоятельной завершенной научно-квалификационной работой, направленной на решение важной биотехнологической задачи - снижения влияния абиотических и биотических стрессов сельскохозяйственных культур, и по своей актуальности, научной новизне и практической значимости соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук. Основные результаты доложены в разные годы на пяти Международных и Всероссийских форумах, опубликованы в четырнадцати печатных работах, в том числе 4 статьях в журналах, входящих в международные реферативные базы данных и журналы из перечня ВАК РФ.

Автореферат и публикации соответствуют основному содержанию диссертации.

Диссертационная работа Шагаева Антона Александровича на тему: «Разработка методов оценки характеристик и свойств грибов *Fusarium*

oxysporum и *Trichoderma viride* при метаболизме экссудатов корневой системы огурца гибрида F₁ «Атлет» по своей актуальности, научной новизне, а также по научной и теоретической значимости соответствует требованиям Постановления Правительства РФ от 24 сентября 2013 года № 842 «О порядке присуждения ученых степеней» (с изменениями и дополнениями), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения ученой степен кандидата биологических наук по специальности 1.5.6. Биотехнология.

Официальный оппонент:


Доктор сельскохозяйственных наук (06.01.09. – растениеводство), главный научный сотрудник отдела испытаний элементов агротехнологий, агрохимикатов и регуляторов роста Федерального государственного бюджетного научного учреждения "Всероссийский научно-исследовательский институт агрохимии имени Д.Н. Прянишникова»

Шаповал Ольга Александровна

Тел. +7-925-514-38-57

e-mail: shapoval.olga@yandex.ru

23.05.2024



Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Всероссийский научно-исследовательский институт агрохимии имени Д.Н. Прянишникова»

127434, г. Москва, ул. Прянишникова, 31а

Тел. 8-(499)-976-37-50, E-mail: info@vniia-pr.ru, web-site: <https://www.vniia-pr.ru/>

Подпись Шаповал Ольги Александровны заверяю:

Ученый секретарь ФГБНУ «ВНИИ агрохимии»,

кандидат с.-х. наук

Чернова Л.С.

