

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию Ю.А. Литовка «Эколого-биологические особенности и биоконтроль грибов рода *Fusarium*, распространенных в наземных экосистемах Средней Сибири», представленную на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.02.08 – Экология (биология)

Актуальность исследований. Грибы рода *Fusarium* являются представителями биологически неоднородной и экологически вариабельной группы, в состав которой входят как сапротрофы, так и факультативные паразиты, особенности патогенеза которых могут варьировать в различных условиях обитания. Большинство видов обладают широкой филогенетической специализацией и характеризуются различными экологическими потребностями, поэтому условия среды оказывают существенное влияние на видовой состав фитопатогенного комплекса. Несмотря на значительное количество работ, посвященных грибам рода *Fusarium*, сведений об их распространении, видовом составе и эколого-биологических особенностях в Средней Сибири недостаточно, что свидетельствует об актуальности и своевременности комплексных исследований, проведенных Ю.А. Литовка. Конкурирующий биологический контроль (как один из наиболее экологически безопасных методов профилактики и ограничения фузариоза) в условиях Сибири также имеет свои особенности, обусловленные их онтогенетическими отличиями, что требует дополнительного исследования в условиях конкретного почвенно-климатического региона. Не менее актуальными являются прикладные исследования по разработке современных методов высокоспецифичной идентификации наиболее значимых фитопатогенов, а также селекционные работы по отбору сортов растений, устойчивых к микотоксинам.

Научная новизна проведенных исследований определяется актуальностью отдельных положений диссертационной работы, приоритетом которой является комплексный подход при изучении фитопатогенных грибов рода *Fusarium*. Автором впервые на территории Средней Сибири проведен сравнительный анализ ареала, видового состава и экологической значимости видов *Fusarium* в лесных питомниках, лесных почвах и почвах сельскохозяйственного назначения, а также семенном материале; определены доминирующие и типичные виды. Систематизированы данные многолетних исследований по видовому составу с учетом молекулярно-генетического анализа, что позволило обнаружить новые виды на изучаемой территории (*Fusarium acuminatum*, *F. diversisporum*, *F. equiseti*, *F. tricinctum* и *F. redolens*). Впервые определены доминирующие виды в структуре фитопатогенного комплекса (*F. sporotrichioides*, *F. oxysporum*, *F. solani* и *Giberella fujikuroi*), имеющие высокую значимость как в патогенезе хвойных, так и злаковых растений. Определены пределы толерантности наиболее значимых для региона видов к ряду

абиотических и биотических факторов, определяющие их адаптационные возможности и высокую экологическую пластичность в условиях Сибири.

Практическая значимость работы. Сформирована обширная коллекция живых культур сибирских штаммов рода *Fusarium* из различных биоценозов Средней Сибири, которая является базой для выполнения научных исследований и образовательного процесса Сибирского государственного университета науки и технологий имени академика М. Ф. Решетнева. Составлен перечень видов *Fusarium*, распространенных в почве, филлосфере, ризоплане и семенах в различных биоценозах Средней Сибири, а также перечень опасных токсикогенных видов. Нарботаны опытные партии биопрепаратов «триходермин» и «латерин» на основе аборигенных антагонистически активных штаммов и проведены их опытно-производственные испытания на сеянцах хвойных и злаковых культурах в условиях лесопитомника и агроценоза. Разработаны методологический подход и практические рекомендации по мониторингу фитосанитарного состояния хвойных и злаковых растений и ограничению их заболеваний в условиях Сибири.

Обоснованность и достоверность полученных результатов. Диссертационная работа Ю.А. Литовка является результатом многолетних исследований; основана на тщательной проработке литературных данных и большом объеме собственных оригинальных экспериментальных исследований, выполненных с применением современных и классических методов микробиологии, микологии и экологии. Обоснованность результатов и выдвинутых защищаемых положений, основываются на согласованности данных эксперимента и научных выводов. Статистическая обработка данных проведена с применением соответствующих современных компьютерных программ. Выводы и рекомендации, сформулированные по итогам экспериментальных исследований, логичны и убедительны. По материалам диссертации опубликованы 57 печатных работ, в том числе 15 статей в журналах, рекомендованных ВАК, 1 коллективная монография; 1 патент. Результаты исследований представлены на конференциях различного уровня.

Структура и объем работы. Диссертационная работа состоит из введения, 8 глав, заключения, списка литературы и приложений. Общий объем диссертации составляет 497 страниц машинописного текста, содержит 141 рисунок (из них 11 – в приложениях) и 152 таблицы (из них 110 – в приложениях). Список литературы включает 450 источников, из них 221 на иностранном языке.

Во введении диссертационной работы традиционно рассмотрены актуальность, научная новизна и практическая значимость исследований, поставлена цель и сформулированы задачи, выдвинуты основные защищаемые положения. Автором отмечена важность исследований эколого-биологических особенностей фитопатогенных грибов рода *Fusarium*, формирования фитопатогенного комплекса и биологического контроля наиболее значимых фитопа-

тогенов в конкретных эколого-географических условиях, в частности, на территории Средней Сибири, где эта проблема изучена недостаточно.

Глава 1 Обзор исследований грибов рода *Fusarium*: таксономия, эколого-биологические особенности, биологически активные вещества, интегрированная система защиты растений (с. 17–85). В данной главе автором подробно рассмотрены основные направления изучения грибов рода *Fusarium*. Убедительно показано, что исследование этой группы микромицетов осуществляется по нескольким направлениям: биоразнообразие, ареал и вредоносность в различных биоценозах; профиль метаболома и мониторинг токсикогенных видов; разработка эффективных методов профилактики и ограничения фузариоза; разработка методологии быстрой и точной идентификации с учетом традиционных и молекулярно-генетических методов. Обзор хорошо структурирован, выполнен на хорошем уровне с привлечением большого объема отечественных и зарубежных исследований и глубоким проникновением в суть описываемых проблем.

Глава 2 Объекты и методы исследования (с. 86–128). Глава включает четыре подраздела, в которых охарактеризованы район исследований – пять лесорастительных зон на территории Красноярского края (88–98 °в.д., 53–59 °с.ш.) и Республики Тыва (92–96 °в.д., 50–52 °с.ш.); объекты исследования (семена хвойных и злаковых культур; корневая система сеянцев хвойных; образцы ризосферной почвы; хвоя и растительный опад; плодовые тела макромицетов; 879 штаммов грибов рода *Fusarium*; микроорганизмы-антагонисты; растительные тест-объекты); питательные среды для работы с микроорганизмами (18 наименований) и методы исследования. Следует отметить разнообразие методов исследований, применяемых для решения поставленных задач – от классических методов исследования микроскопических грибов до современных молекулярно-генетических и биотехнологических методов. В целом, глава изложена в традиционных правилах, хорошо иллюстрирована и структурирована.

Глава 3 Распространение и видовой состав микромицетов рода *Fusarium* в наземных экосистемах Средней Сибири (с.129–173). Глава включает четыре раздела, три из которых посвящены распространению и видовому составу грибов рода *Fusarium* в почвах лесных питомников, агроценозов и лесных почвах, а также в семенах различных сортов злаковых растений. В лесных питомниках определены виды-космополиты и виды с выраженными предпочтениями местообитания (корневая система, семена, ризосфера). Выявлены доминирующие, типично частые, типично редкие и случайные виды в различных лесорастительных зонах Средней Сибири (всего 13 видов). Максимальным количеством видов характеризуется зона травяных лесов с островами лесостепи с доминированием вида *F.sporotrichioides*. Аналогичные исследования проведены в лесных почвах этих же лесорастительных зон. Автором показано, что видовой состав представлен девятью видами и характеризуется большей выровненностью по сравнению с лесопитомни-

ками. Определен видовой состав и частота встречаемости фузариевых грибов в ризосферной почве, а также зерновках пшеницы и ячменя, районированных для Сибири сортов и селекционных линий из различных регионов Сибири с доминированием вида *F. sporotrichioides*. В четвертом разделе представлены морфолого-культуральные особенности видов рода *Fusarium*, выявленные автором на изучаемой территории. На их основе была осуществлена видовая идентификация с выборочной молекулярно-генетической верификацией (секвенирование ДНК, ПЦР с видоспецифичными маркерами). Раздел хорошо иллюстрирован оригинальными авторскими фотоматериалами.

В целом, глава обеспечивает достаточно полное представление о распространении грибов рода *Fusarium* в различных биоценозах Средней Сибири, их видовом составе и значимости отдельных видов.

Глава 4 Эколого-биологические особенности сибирских штаммов рода *Fusarium* (с.174–226). Глава посвящена исследованию влияния отдельных абиотических факторов (температура, питательный субстрат) на ростовые параметры видов рода *Fusarium*, широко распространенных в экосистемах Средней Сибири; их чувствительности к фунгицидам, веществам растительного и микробного происхождения; характера взаимодействия с микроорганизмами-антагонистами; наличия и спектра вегетативных реакций. В условиях *in vitro* выявлен более широкий температурный оптимум у видов космополитов и способность утилизировать различные источники углерода с предпочтением моно- и дисахаридов, а также легкогидролизуемых полисахаридов при культивировании на многокомпонентных растительных субстратах.

Установлена высокая чувствительность грибов к действию сесквитерпеноидов и флаваноидов растительного происхождения, что может найти применение в практике защитных мероприятий. Подобраны наиболее эффективные химические фунгициды с учетом высокой вариабельности восприимчивости фузариев к отдельным препаратам. На большом фактическом материале автором доказана значительная внутри- и межвидовая гетерогенность по восприимчивости к метаболитам бактериальных и грибных антагонистов, которая существенно уступает чувствительности к химическим фунгицидам. Проведены оригинальные и новые для региона исследования по вегетативной совместимости грибов рода *Fusarium* и их связи с фитопатогенными свойствами.

Глава 5 Фитопатогенные свойства сибирских штаммов грибов рода *Fusarium* (с. 227–254). Глава посвящена определению структуры фитопатогенного комплекса и видов, играющих ведущую роль в патогенезе хвойных и злаковых растений. На широком спектре растительных тест-объектов исследованы токсикогенные свойства метаболитов и фитопатогенность живых культур грибов рода *Fusarium*. Автором показано, что на территории Средней Сибири группу наиболее токсикогенных видов составляют *F. oxysporum*, *F. redolens*, *F. sporotrichioides* и *G. fujikuroi* со схожей динамикой проявления

фитотоксической активности. Выявлена гетерогенность штаммов по фитопатогенным свойствам и клональная структура популяции наиболее значимых видов. Выявлены наиболее опасные фитопатогены по совокупности изученных фитотоксических и патогенных свойств с учетом их частоты встречаемости.

Глава 6 Оценка эффективности биологических фунгицидов в лабораторных и полевых условиях (255–287). Глава посвящена исследованию возможности использования биологического контроля в системе мероприятий по профилактике и ограничения эпифитотий фузариоза в условиях Сибири. Проведена серия лабораторных и полевых испытаний биопрепаратов на основе антагонистически активных штаммов бактерий (*Streptomyces lateritius*) и грибов рода *Trichoderma* на естественных и искусственных инфекционных фонах от этапа отбора эффективных антагонистов и наработки биопрепаратов до оценки их последствия на аборигенную микрофлору и активность почвенных ферментов. Доказана эффективность применения биопрепарата «латерин» на основе *S. lateritius* для защиты семян хвойных (в большей степени) и посевов пшеницы при отсутствии существенного негативного влияния на аборигенную сапрфитную микрофлору.

Глава 7 Оценка возможности практического применения грибов рода *Fusarium* (с. 288–300). В данной главе, которая является наименьшей по объему, автор, исходя из ранее проведенных исследований, рассматривает возможность практического применения наиболее опасных фитопатогенов рода *Fusarium* или их метаболитов с использованием высокотехнологичных молекулярных и биотехнологических методов. Показана возможность создания фузариоустойчивых сортов мягкой яровой пшеницы сибирской селекции с использованием культуральных фильтратов *F. sporotrichioides* и каллусных культур. Выявлены устойчивые селекционные линии и сорта к высоким концентрациям патогена, получены резистентные растения-регенеранты. Второе направление прикладных исследований – разработка экспресс-метода идентификации фитопатогенных грибов в почве и сельскохозяйственной продукции с использованием аптамеров, способных к специфическому связыванию с молекулярными мишенями. Получены аптамеры на основе олигонуклеотидных последовательностей, специфичных к клеткам одного из наиболее значимых фитопатогенов хвойных и злаковых растений *F. oxysporum*, и определена их структура.

Глава 8 Разработка практических рекомендаций по мониторингу фитосанитарного состояния хвойных и злаковых растений и ограничению их заболеваний в условиях Сибири (с. 301–329). В главе автор подводит итог проделанной работы и детально обосновывает необходимость комплексного подхода при изучении чрезвычайно вариабельной группы фузариевых грибов для последующей разработки и внедрения их эффективного биологического контроля в интегрированную систему защиты растений. Детально описаны этапы комплексных исследований от мониторинга фитопато-

генов, оценки видового состава, экологической значимости и структуры фитопатогенного комплекса до эффективных практических мероприятий для ограничения их развития.

Следует отметить большой объем экспериментального и иллюстративного материала, полученного автором, что, как следствие, нашло отражение в значительном объеме диссертации, сокращение которого, вероятно, нарушило бы логическую структуру диссертационной работы.

Далее в диссертации идут заключение, список литературы и приложения.

В заключении автор подводит итог проведённой аналитической и экспериментальной работе и формулирует выводы, которые согласуются с целью и задачами диссертационной работы и объективно отражают основные результаты.

Автореферат объективно отражает содержание диссертации.

При ознакомлении с работой возникли следующие **вопросы и замечания:**

1. В оглавлении диссертации дано излишнее дробление на подглавы.

2. В главе 3 детально охарактеризован видовой состав и распространение грибов рода *Fusarium* в биоценозах Средней Сибири, но отсутствует сравнительный анализ полученных данных с результатами исследований других авторов, например, в Западной, Восточной Сибири или Дальнем Востоке. В какой степени данные по видовому составу, значимости и филогенетической специализации отдельных видов сопоставимы с другими территориями?

3. В главе 3 при исследовании агроценозов почвенные образцы были отобраны только в одной лесорастительной зоне, а основной упор был сделан на исследование микофлоры зерновок пшеницы и ячменя. Чем обусловлен такой подход к выбору объектов исследования? Для сравнения биоразнообразия в лесных питомниках, агро- и лесных биоценозах было бы целесообразнее провести исследование в максимально приближенных условиях.

4. В главе 4 при оценке питательных потребностей грибов в качестве выходных параметров были выбраны скорость роста и ростовой коэффициент колоний грибов. Почему бы не расширить оцениваемые показатели за счет учета продуктивности биомассы и конидиеобразования?

В качестве пожелания по главе 4 можно предложить расширить исследования вегетативной совместимости и у других видов *Fusarium*, играющих важную роль в патогенезе хвойных и злаковых растений. Подобного рода исследования грибов, у которых отсутствует половой процесс, представляют особый интерес и значимость, позволяя оценивать микроэволюционные процессы их расхождения по паразитической и сапротрофной нишам, что особенно актуально при исследовании фитопатогенов.

5. В главе 5 при исследовании токсикогенных свойств фузариевых грибов, автор остановился на выявлении только Т2-фузариотоксина, вероятно, как одного из наиболее опасных и вредоносных. Однако грибы этой группы

синтезируют другие не менее опасные токсины из группы трихотеценов, а также фумонизины и энниатины?

6. В главе 6 в лабораторных условиях испытаны различные формы биопрепаратов. Перспективные данные были получены автором при использовании триходермина на растительных субстратах, что закономерно предопределяет его дальнейшее испытание в условиях агроценоза и лесного питомника. Однако в полевых испытаниях были испытаны только споровые формы триходермина и суспензионная форма латерина?

Насколько полученные данные по применению биопрепаратов на основе отобранных автором аборигенных антагонистов сопоставимы с результатами других исследований, а также с эффективностью применения уже существующих коммерческих биопрепаратов? С точки зрения эффективности ограничения возбудителей болезней и оценки последствий на микробиоценоз?

7. В главе 7 проведены исследования по получению фузариоустойчивых сортов пшеницы с применением каллусных культур и токсинов наиболее опасного в регионе вида *F.sporotrichioides*. С учетом сложности и дороговизны манипуляций по селекции устойчивых растений-регенерантов насколько целесообразно применение этого подхода в реальных практических целях?

Однако изложенные замечания не касаются существа работы и ни в коей мере не снижают общей высокой оценки диссертационной работы.

Заключение.

Диссертация Ю. А. Литовка «Эколого-биологические особенности и биоконтроль грибов рода *Fusarium*, распространенных в наземных экосистемах Средней Сибири» является научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований решена научная проблема комплексной оценки структурно-функционального состояния значимой группы фитопатогенных грибов и разработки экологически безопасной системы мероприятий, ограничивающих массовое распространение возбудителей болезней растений в условиях Сибири, имеющая важное социально-экономическое и хозяйственное значение.

Приоритетом работы является использование комплексного подхода для изучения фитопатогенных грибов рода *Fusarium* – возбудителей болезней широкого круга растений-хозяев. Впервые на территории Средней Сибири проведен масштабный сравнительный анализ ареала, видового состава и экологической значимости видов рода *Fusarium* в различных биоценозах; определены доминирующие и типичные виды в различных биотопах. Осуществлена систематизация многолетних данных по видовому составу с учетом современной таксономии и выявлено ядро фитопатогенного комплекса.

Использованные классические и современные методы исследования адекватны решаемым в работе задачам, её содержимое свидетельствует о большом личном вкладе автора диссертации в решение изучаемых проблем.

Материалы диссертационной работы могут быть рекомендованы для более широкого использования в научно-исследовательских работах аспирантов и к опубликованию отдельных разделов в виде монографии.

По своей актуальности, научной новизне, объему выполненных исследований и практической значимости полученных результатов представленная к защите диссертация соответствует требованиям пп. 9–11, 13, 14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842 г. (в редакции от 01.10.2018 г.), а ее автор Литовка Юлия Александровна заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.02.08 – Экология (биология).

14.05.2019 г.

Официальный оппонент

Томошевич Мария Анатольевна, доктор биологических наук (03.02.01. – «Ботаника», 03.02.08 «Экология»), ведущий научный сотрудник лаборатории дендрологии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Центральный сибирский ботанический сад Сибирского отделения Российской академии наук.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Центральный сибирский ботанический сад СО РАН.

630090, г. Новосибирск, ул. Золотодолинская, 101.

<http://www.csbg.nsc.ru/>

8 (383) 330-41-01, e-mail: csbg@ngs.ru

Тел. (383) 339-97-48. e-mail: arysa9@mail.ru

Томошевич М.А. Томошевич заверяю Томошевич

М. А. Томошевич

И.о. ученого секретаря О.В. Косинина Косинина

