

## 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)

Болезни, вызываемые грибами из рода *Fusarium*, относятся к наиболее распространенным и вредоносным для лесных и сельскохозяйственных растений. По этой причине фузариозные болезни одними из первых удостоились внимания исследователей и были подробно изучены по видовому составу, специфике размножения, морфологии, субстратным предпочтениям, экологическим особенностям распространения. В то же время именно видовая вариабельность рода и вариабельность трофотопических предпочтений отдельных видов определяет особенности патогенеза грибов рода *Fusarium* в различных географических районах, лесорастительных зонах, климатических областях, лесных формациях, в том числе в лесных питомниках и молодняках Сибирского региона, для которого фузариозы недостаточно изучены. В этой связи представленная работа Ю.А. Литовка, безусловно, является своевременным и актуальным для Средней Сибири исследованием.

**Актуальность исследований** определяется широким распространением грибов рода *Fusarium* в различных лесных объектах и агроценозах, далеко не полной изученностью видового разнообразия рода, особенностями развития отдельных видов в онтогенезе в филогенетической эволюции растительности Сибири. В этой связи автор совершенно прав в том, что особую актуальность приобретают исследования, связанные с комплексным подходом при изучении фитопатогенных грибов рода *Fusarium*, с изучением видового состава сибирских генотипов наиболее распространенных видов рода, их экологии, морфологических отличий, изучение межпопуляционных отношений. Актуальными для условий Сибири является разработка методов точного определения видовой принадлежности отдельных видов рода и эффективных мероприятий профилактики распространения фузариозов в питомниках и культурах хвойных пород и злаковых культур. Род *Fusarium* рассматривается со всех возможных позиций биологии, экологии, генетики, фитотоксичных свойств видов в совокупности с практическими исследованиями ограничения распространения наиболее вредоносных видов.

**Научная новизна** исследований неразрывно корреспондируется с актуальностью отдельных положений работы, в особенности с комплексностью подходов к изучению

всех аспектов функционирования грибов рода в изменяющихся условиях среды. Особого внимания в плане новизны исследований заслуживает изучение гетерогенности и клональной структуры сибирских популяций по совокупности токсикогенных, фитопатогенных свойств и восприимчивости к химическим и биологическим фунгицидам. Эти исследования лежат в основе выработки мер профилактики распространения отдельных видов грибов рода *Fusarium*. Впервые осуществлена систематизация многолетних данных по видовому составу видов рода *Fusarium* по данным молекулярно-генетического анализа и современной таксономии. По этим исследованиям впервые для условий Сибири отмечены виды *F. acuminatum*, *F. diver-sisporum*, *F. equiseti*, *F. tricinctum* и *F. redolens*. Впервые установлена клональная структура сибирских популяций *Fusarium*. Создана коллекция живых культур сибирских штаммов рода *Fusarium*, составлен перечень токсикогенных видов рода, сибирские штаммы депонированы во Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов (ВКПМ), как потенциальные продуценты пигментов. В целом с позиций новизны проведенных исследований представленную работу можно рассматривать как фундаментальный научный продукт, в значительной мере раскрывающий все научное содержание проблемы присутствия грибов рода *Fusarium* в лесных и агроценозах Средней Сибири с разработкой практических мер профилактики и борьбы с заболеваниями, вызванными грибами этого рода.

Диссертационная работа состоит из введения, 8 глав, заключения, списка литературы и приложений. Общий объем диссертации составляет 497 страниц машинописного текста, содержит 141 рисунок и 152 таблицы. Список литературы включает 450 источников, из которых 221 на иностранных языках.

**Глава 1 Обзор исследований грибов рода *Fusarium*: таксономия, эколого-биологические особенности, биологически активные вещества, интегрированная система защиты растений.** Глава изложена на 69 страницах текста, содержит 4 раздела (с подразделами).

Глава посвящена описанию и обсуждению с позиций автора, имеющихся на текущий период сведений о таксономии грибов рода *Fusarium*, методах диагностики, в том числе с применением аптамеров; о биоэкологических особенностях грибов рода; о биологически активных веществах, синтезируемых грибами рода *Fusarium*; об интегрированной системе защиты растений от фитопатогенных грибов, включающей агротехнические, микробиологические, химические и селекционные меры.

Автор подробно, с привлечением большого объема литературных источников, останавливается на каждой из принятых для изучения позиций, которые в кратком

изложении демонстрируют весь перечень проблем, слагающих диссертационную работу. Их перечень дает представление о масштабах и объеме исследовательских работ для решения поставленных автором задач.

При этом следует отметить глубокое проникновение автора в суть каждой из проблем и практически исчерпывающий их состав в решение общей парадигмы изучения фузариозов Средней Сибири.

**Глава 2 Объекты и методы исследования** изложена на 43 страницах, содержит 4 раздела (с подразделами).

В целом глава изложена в традиционных правилах для темы объектов и методов, но имеет свои особенности в связи с большими масштабами обследуемого региона и разнообразием изучаемых позиций. Приводятся районы размещения питомников хвойных пород на огромной территории от Тувы до подзоны средней тайги и состав агроценозов. Представлен перечень объектов, на которых проводился весь цикл исследований: семена и сеянцы хвойных пород, сорта пшеницы и ячменя, штаммы грибов рода *Fusarium*, микроорганизмы-антагонисты, перечень питательных сред, на которых культивировались грибы (18 сред) и т.д.

Особо следует отметить огромный и разнообразный по масштабу и по объему выполненных работ состав применяемых для решения поставленных задач методик при изучении различных исследований: микро- и макроморфологических особенностей штаммов грибов, исследований по видовой идентификация грибов рода *Fusarium* методом секвенирования ДНК и с применением видоспецифичных праймеров. Эти исследования проведены в содружестве с канадскими учеными. Описаны методики изучения оценки фитотоксичности метаболитов грибов, химических препаратов, микроорганизмов-антагонистов, биологических фунгицидов в разных вариантах в лабораторных и в полевых условиях питомников и агроценозов.

Следует так же отметить прекрасное иллюстративное оформление всех позиций раздела.

Большой объем методических позиций и их разнообразие и, что особенно важно, уровень их актуальности для решения изучаемых проблем, безусловно, обеспечивает выполнение положений, поставленных в целях и задачах работы.

По содержанию главы можно с уверенностью говорить о высоком уровне достоверности получаемых с применением представленных методик выводов по выносимым на защиту положениям.

**Глава 3 Распространение и видовой состав микромицетов рода *Fusarium* в наземных экосистемах Средней Сибири** изложена на 45 страницах и содержит 4 раздела.

Распространение и видовой состав грибов рода *Fusarium* изучался автором в почвах трех экосистемных разностях: видовой состав и соотношение видов из ризосферы разных пород в различных зонах растительности, в почвах лесных питомников и грибов, выделенных из ризосферы и семян различных сортов злаковых. Определены виды с различными предпочтениями обитания – в корневых системах, в семенном материале, в ризосфере почвы. Доминирующее положение этих позиций занимает *F. sporotrichioides*, доля которого в общем списке грибов этого рода составляет 24%. Анализ географического распространения грибов рода *Fusarium* в почвах лесных питомников Средней Сибири показал, что максимальное количество видов (10) выявлено в зоне травяных лесов с островами лесостепи. Доминирующее положение в структуре фитопатогенного комплекса здесь занимает опять же вид *F. sporotrichioides*.

Один из разделов главы посвящен вопросу встречаемости грибов рода *Fusarium* в зерновках пшеницы и ячменя различных сортов и селекционных линий, рекомендованных для возделывания в условиях Сибири. Проведенное исследование показало, что одним из наиболее распространенных и значимых на зерне пшеницы и ячменя, выращиваемых в условиях Сибири, является все тот же вид *F. sporotrichioides*, доля которого в комплексе рода *Fusarium* находится в пределах от 20 до 67 %. В целом состояния зерна пшеницы и ячменя показало, что грибы рода *Fusarium* являются их постоянными и типичными обитателями, однако зараженность отдельных сортов и доля видов в комплексе рода *Fusarium* в различных регионах Сибири существенно варьируют.

Исследования видовой принадлежности грибов рода *Fusarium* и их сибирских штаммов проводили на основе изучения морфологических и культуральных особенностей, с использованием моноспоровых культур, видовую идентификацию подтверждали молекулярно-генетическими методами – секвенированием ДНК с видоспецифичными праймерами. Определены основные виды рода *Fusarium* в различных биоценозах Средней Сибири и выделены доминирующие и наиболее патогенные виды, к которым автор относит *F. sporotrichioides*, и комплексы видов *F. oxysporum*, *F. solani* и *G. fujikuroi*.

Содержание разделов главы автор дополняет отлично выполненными иллюстративными материалами. И в целом глава дает полное представление о видовом составе и распространении грибов рода *Fusarium* в различных экотопах Средней Сибири.

**Глава 4 Эколого-биологические особенности сибирских штаммов рода *Fusarium*** изложена на 43 страницах и содержит 4 раздела (с подразделами).

Содержание главы посвящено исследованиям влияния различных веществ растительного, химического, биогенного происхождения на ростовые характеристики некоторых наиболее представленных в экосистемах Средней Сибири видов рода *Fusarium*.

Начинает автор с определения температурных оптимумов роста колоний некоторых видов рода в чистых культурах и их активности на разных средах. Опыт подтверждает полученные ранее сведения об исключительности четырёх видов во всём комплексе изученного состава рода – *F. sporotrichioides*, *F. oxysporum*, *F. solani* и *G. fujikuroi*. Штаммы *Fusarium sporotrichioides* испытаны на скорость роста на разных источниках углеродного питания. Выявлены наиболее перспективные фунгициды для контроля видов рода *Fusarium*.

Интересные данные получены автором о влиянии веществ растительного происхождения на радиальный рост колоний трёх наиболее активных видов рода – масло из молодых веток и хвои пихты сибирской; эфирное масло из вегетативной части тополя; эфирное масло из древесной зелени можжевельника сибирского; спиртовой экстракт почек тополя. Некоторые вещества могут быть использованы для контроля патогенных видов рода *Fusarium*. Кроме того автором испытаны на антагонистическую активность к некоторым видам рода живых культур бактерий, грибов рода *Trichoderma*.

Новыми для региона Сибири являются исследования фитопатогенных свойств у вегетативно несовместимых групп сибирских штаммов рода *Fusarium*, в чём автор видит перспективы создания устойчивых сортов зерновых в клеточной селекции.

В целом автором проделана огромная и тщательная по исполнению работа по изучению широкого круга препаратов растительного, химического, биологического происхождения для контроля наиболее вредоносных видов грибов рода *Fusarium*, которая безусловно будет иметь практическое значение для профилактики и борьбы с заболеваниями хвойных пород в питомниках Сибири.

**Глава 5 Фитопатогенные свойства сибирских штаммов грибов рода *Fusarium*** изложена на 28 страницах и содержит 2 раздела (с подразделами)

Исследовались метаболиты наиболее активных видов грибов рода *Fusarium* по отношению к семенам, проросткам и вегетирующим растениям древесных пород и злаковых растений. Подтверждаются высокие фитопатогенные свойства грибов *F. oxysporum*, *F. sporotrichioides*, комплекса *G. fujikuroi*.

**Глава 6 Оценка эффективности биологических фунгицидов в лабораторных и полевых условиях** изложена на 33 страницах, содержит 5 разделов.

Испытывалась активность биоконтрольных штаммов грибов р. *Trichoderma* и актиномицета *S. lateritius* в посевах пшеницы на естественных и искусственных инфекционных фонах по отношению к комплексу основных видов грибов рода *Fusarium*, биологических препаратов на основе антагонистически активных микроорганизмов в условиях лесного питомника. Проведены подробные исследования влияния биопрепарата Латерин на снижение патогенной микофлоры в ризосфере семян лиственницы и сосны первого года. Опыты показали высокую эффективность применения биопрепаратов на основе актиномицета *S. lateritius* и грибов рода *Trichoderma* для защиты семян от инфекционного полегания, вызываемого грибами рода *Fusarium*.

О общем по содержанию главы автор делает вывод о перспективности применения биоконтрольных штаммов на основе вышеупомянутых для ограничения развития заболеваний фузариозной этиологии в полевых условиях и, как следствие, увеличения объемов качественного лесопосадочного материала в лесных питомниках, улучшения всхожести растений и структуры урожая в агроценозах.

В главах 4, 5 и 6 подробно, с высокой степенью детализации и достоверности полученных выводов рассматриваются все основные позиции использования различных препаратов естественного и искусственного происхождения в разных вариантах их применения для профилактики заболеваний, вызываемых грибами рода *Fusarium*, что, безусловно, имеет непосредственный выход в практику восстановления лесов хвойных формаций на сплошных вырубках спелых древостоев. Здесь же необходимо в который раз отметить великолепное иллюстративное оформление, сопровождающее описываемые эксперименты.

Эти исследования плавно подводят автора к изучению возможности практического использования полученных результатов, изложенных в главах 7 и 8.

**Глава 7 Оценка возможности практического применения грибов рода *Fusarium*** изложена на 13 страницах, содержит 2 раздела.

Один из методов в практике применения грибов рода *Fusarium* связан с оценкой возможности создания устойчивых сортов яровой мягкой пшеницы сибирской селекции к фузариозам. Исследование влияния биологически активных веществ фитопатогенных грибов (*F.spotrichioides*) на каллусные культуры, индуцированные на незрелых зародышах сортов мягкой яровой пшеницы, позволило выявить наиболее устойчивые селекционные линии и сорта к воздействию патогена.

Немалый практический интерес по исследованиям автора представляет разработка экспресс-методов быстрой и эффективной идентификации фитопатогенных грибов в почве и сельскохозяйственной продукции с использованием аптамеров, способных к специфическому связыванию с молекулами-мишенями. Метод позволит не только получить информацию о присутствии патогена в исследуемом материале, но и прогнозировать его возможное поведение.

Остаётся выяснить насколько предлагаемый метод отвечает понятию «экспресс-метода».

**Глава 8 Разработка практических рекомендаций по мониторингу фитосанитарного состояния хвойных и злаковых растений и ограничению их заболеваний в условиях Сибири** изложена на 29 страницах.

Во вступительных фразах к тексту главы автор совершенно верно объясняет причины «массовых заболеваний растений увеличением объемов химизации лесного и сельского хозяйства,...способствующих нарушению саморегуляции микробоценозов, включая появление резистентных форм фитопатогенов и снижение плотности популяций и видового разнообразия полезной микрофлоры...Фитосанитарная оптимизация должна базироваться на естественных процессах регуляции структурно-функциональной организации микробоценозов, составную часть которых представляют микосинузии...».

Этот тезис верен не только для питомников хвойных пород и агроценозов, на изучении которых выстроена диссертация, но и для фитоценозов лесных формаций естественного и искусственного происхождения и высших базидиомицетов в них обитающих. Ключевой термин здесь «саморегуляция», которая связывается с формированием качества устойчивости лесов, а для разработок автора диссертации – с посадочным материалом и злаковыми культурами.

В главе рассмотрены основные положения комплексной, интегрированной системы защиты растений, включающей профилактические и защитные мероприятия, основанные на исследованиях, осуществленных автором и показавшим положительные результаты в их практическом применении. Далее автор перечисляет основные положения предлагаемой интегрированной системы, которые удалось осуществить для решения поставленных задач, приводит основные направления исследований, в развитии которых следует осуществлять изучение грибов рода *Fusarium*. Детально описаны этапы этих исследований вплоть до разработки регламента применения биопрепаратов для хвойных

и злаковых растений. Венчает исследования итоговая схема профилактических и защитных мероприятий распространения фузариоза.

Подводя итог анализа исследованиям, представленным автором диссертации, и критически оценивая их содержание, можно с большой убежденностью говорить о том, что автор глубоко проник в сущность изучаемой проблемы, что дало возможность вполне логично структурно выстроить огромный экспериментальный материал. Заслуживает самой высокой оценки тщательность проведения экспериментов, определившая разностороннее изучение предмета исследований и безусловное доверие к выводам по результатам этих экспериментов. Иллюстративная часть диссертации, сопровождавшая все исследования, всегда уместна, легко читаема и прекрасно оформлена.

Большой объем диссертации сократить практически невозможно, не нарушив общей логики исследований.

Список использованных в работе литературных источников отражает разностороннее и глубокое участие автора в отечественных и мировых трендах изучения проблем рода *Fusarium*. По материалам диссертации опубликованы 57 печатных работ, в том числе 15 статей в журналах, рекомендованных ВАК, 1 коллективная монография; 1 патент, что достаточно для общей положительной оценки работы соискателя за период его научной деятельности.

Автореферат полностью и адекватно отражает содержание диссертации по всем позициям исследований.

Особое внимание следует обратить на стремление автора все без исключения научные разработки связать с практикой их использования для профилактики и борьбы с изучаемыми болезнями. Можно говорить о том, что диссертант активно участвует в современных трендах изучения биологических процессов, связанных с патологией лесных и агроценозов и вносит весомый вклад в решение проблем выращивания здорового посадочного материала и зерновых культур.

#### **Некоторые замечания по содержанию работы.**

На стр. 7 автор относит грибы рода *Fusarium* «в большинстве случаев» к факультативным паразитам, вызывающим массовые заболевания растений только при определенных условиях». Вообще говоря, грибы, способные к быстрому переходу от сапрофитизма к паразитизму до возможности поражать здоровые растения и размножаться в таком качестве до состояния эпифитотий, могут рассматриваться как факультативные сапротрофы. Может быть, можно говорить о том, что разные виды рода

стоят на разных позициях в цепи питания от сапрофитизма до паразитизма? Впрочем, эту позицию можно отнести к категории обсуждаемых.

Термин «зона травяных лесов» - какое лесорастительное районирование употребляет это определение? Кроме того хотелось бы иметь хотя бы краткое описание формационного состава лесов в каждом из районов исследований: зона, подзона и основные формации. Это дало бы общее представление о лесном покрове территории обследования.

Не всегда расшифровывается аббревиатура названий некоторых препаратов. По тексту всё понятно, но для порядка это необходимо делать – например, табл.4.3 и др.

В некоторых разделах автор пользуется термин «биогеоценоз» как топическую основу в разных экосистемах при взятии образцов для определения видов грибов изучаемого рода. В каждой зоне, каждой лесной формации, в каждом типе леса или степном ценозе можно найти n-ное количество биогеоценозов. Что в таком случае имеет в виду автор?

Изложенные замечания никоим образом не снижают общей высокой оценки представленной к защите работы.

Следует особо отметить практически исчерпывающий состав позиций, описывающих эколого-биологические особенности грибов рода *Fusarium*, глубокое проникновение автора в суть каждой из изучаемых проблем и в решение общей цели профилактики и борьбы с фузариозами Средней Сибири.

В дальнейшей творческой работе можно пожелать автору некоторые позиции работы издать в виде монографий для более широкой, чем формат диссертации, научной аудитории.

Особая заслуга автора состоит в том, что в качестве основной парадигмы всех исследований видовой и экосистемной изменчивости грибов рода рассматривается глубокая их связь с влиянием эдафических условий на биологические особенности популяций и видов грибов рода *Fusarium*, что отвечает современным представлениям о функционировании природных биогеоценозов.

Представленную к защите работу можно признать одной из наиболее значительных из известных в настоящее время научных исследований в изучении грибов комплекса *Fusarium*. Необходимо особо отметить огромный объем выполненной автором работы на высочайшем уровне тщательности и достоверности проведенных исследований. Работа заслуживает самой высокой оценки.

Диссертация Ю.А. Литовка «Эколого-биологические особенности и биоконтроль грибов рода *Fusarium*, распространенных в наземных экосистемах Средней Сибири» является законченной, актуальной научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований решена научная проблема изучения биологии и экологии грибов, вызывающих болезни хвойных пород в лесных культурах и агроценозах, имеющая важное социально-экономическое и хозяйственное значение. 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 диссертант заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.02.08 – Экология (биология).

15.04.2019 г.

Официальный оппонент

Стороженко Владимир Григорьевич, доктор биологических наук (специальность 06.03.03 – лесоведение, лесоводство, лесные пожары и борьба с ними), старший научный сотрудник, ведущий научный сотрудник лаборатории лесоводства и биологической продуктивности Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института лесоведения Российской академии наук.

143030, Московская обл., Одинцовский р-он, п/о Успенское, Советская, 21.

+7 (495) 634-52-57; root@ilan.ras.ru; http://ilan.ras.ru/

Личные данные: e-mail: lesoved@mail.ru, тел.: 89852004935

В. Г. Стороженко

Подпись В.Г. Стороженко заверяю  
Начальник отдела кадров  
Федерального государственного бюджетного  
учреждения науки Института лесоведения  
Российской академии наук



О.С. Калениченко