

УТВЕРЖДАЮ:

Директор Главного ботанического сада
им. Н.В. Цицина Российской академии наук
(ГБС РАН)
В.П. Упелниек



(подпись, дата, гербовая печать)

ОТЗЫВ

ведущего учреждения ФГБУН Главный ботанический сад
им. Н.В. Цицина Российской академии наук (ГБС РАН) на диссертацию
Гомжиной Марии Михайловны «Фомоидные грибы на подсолнечнике и
близкородственных сложноцветных растениях в России» на соискание
учёной степени кандидата биологических наук по специальности
03.02.12 – Микология

Актуальность темы диссертационного исследования

Диссертационная работа М.М. Гомжиной посвящена изучению фомоидных грибов как на подсолнечнике, так и на близкородственных растениях в России, которые не были до конца изучены, имеют большое практическое значение, нанося существенный урон урожаю подсолнечника, один вид имеет карантинное значение, а данные по биоразнообразию и распространению этих грибов явно недостаточны.

Изучение биоразнообразия и географии видов фомоидных грибов в России на подсолнечнике с применением методов молекулярной филогении и с учётом современной систематики не проводилось, а корректная идентификация фитопатогенных видов грибов, особенно входящих в список карантинных объектов, в том числе и видов фомоидных грибов вызывающих фомоз и фомопсис подсолнечника, обладает несомненной практической значимостью.

Автором довольно ясно показана степень разработанности темы, необходимость корректировки видового состава фомоидных грибов, что подразумевает включение наряду с морфологическими данными и молекулярные методы, включая не только поражение грибами подсолнечника, но и близкородственных культурных и дикорастущих растений в России.

В связи с вышеперечисленным, диссертационная работа Гомжиной М.М. актуальна и имеет большое как практическое, так и теоретическое значение.

Обоснованность и достоверность результатов исследования

Цель данной работы – проведение инвентаризации видового состава фомоидных грибов, распространённых на подсолнечнике и близкородственных культурных и дикорастущих растениях в России, и установление их таксономического положения и специализацию к растению-хозяину. Для решения вопросов диссертации М.М. Гомжина поставила 6 задач и внесла четыре пункта, выносимых на защиту.

Все эти пункты диссертантом успешно выполнены. Все семь пунктов заключения полностью подкреплены как табличным материалом (14 таблиц), так и качественными фотографиями (45 рисунков).

Основные научные данные, новизна исследований и полученного заключения, сформулированных в диссертации

Для решения цели диссертационной работы М.М. Гомжина разработала и оптимизировала молекулярно-генетические методики идентификации фомоидных грибов, сначала на методике выделения ДНК обширной коллекции гербарных образцов фомоидных грибов, выделенных из подсолнечника, возрастом от 60 до 124 лет, хранящихся в Микологическом гербарии ФГБНУ ВИЗР (LEP); идентификацию изолятов фомоидных грибов из подсолнечника как по морфологическим, так и по молекулярно-

Plenodomus lindquisni (177 изолятов) – вызывающий классический фомоз, было выделено три вида *Diaporthe*: *D. gulyae*, *D. phaseolorum* и *D. eres*, и два изолята не были идентифицированы до вида. Причём виды *D. gulyae*, *D. eres*, *D. phaseolorum* являются первыми находками, подтверждённые молекулярно-генетическими исследованиями, на территории России. А вид *D. eres* обнаружен впервые на подсолнечнике. Было показано, что симптомы, вызываемые разными видами *Diaporthe* на подсолнечнике, могут отличаться от классических описанных в литературе симптомов фомопсиса (маслянистые тёмно-бурые вдавливающиеся пятна на стеблях, становящиеся впоследствии пепельно-серыми, иногда со специфическим запахом), и что симптомы заболевания подсолнечника, вызываемые видами этого рода не различаются с вызываемыми *P. lindquisni*. Отмечено, что виды *Diaporthe*, кроме подсолнечника поражают широкий круг растений различных семейств, т.е. являются ассоциированными паразитами подсолнечника, а вид *Didymella glomerata* был впервые обнаружен в ассоциации с подсолнечником в Ростовской области.

Подобную работу Гомжина М.М. провела на фомоидных грибах, ассоциированных с дикорастущими растениями семейства Asteraceae. Сначала на 28 образцах фомоидных грибов, хранящихся в Микологическом гербарии ФГБНУ ВИЗР (LEP). Большинство образцов по морфологическим признакам определено до родов *Didymella*, *Stagonosporopsis*, остальные до секций *Phoma* и один изолят *Phyllostictoides*. С помощью молекулярно-генетических признаков до уровня рода было определено 9 образцов. Пять – *Ascochyta* sp., два – *Didymella* sp., два – *Stagonosporopsis* sp. Видовая принадлежность была определена для 9 гербарных образцов фомоидных грибов. *B. exigua*, *A. rabiei*, *D. pomorum* и *Epicoccum nigrum*. Несколько другие результаты получены по использованию морфологических признаков по Boërema. При изучении систематики 29 изолятов фомоидных грибов, выделенных из 13 видов дикорастущих растений Asteraceae, 14 изолятов

идентифицировано до уровня вида, 15 до уровня рода. Таким образом, в коллекции представлено 6 родов (*Ascochyta*, *Boeremia*, *Didymella*, *Neoascochyta*, *Nothophoma* и *Stagonosporopsis*) и 13 видов (*Ascochyta* sp., *Stagonosporopsis* sp., *S. inoxydabilis*, *S. heliopsidis*, *B. exigua*, *D. americana*, *D. glomerata*, *D. macrophylla*, *D. pinodella*, *D. rosea*, *Neoascochyta desmazieri*, *N. paspali* и *Nothophoma quercina*) фомоидных грибов представителей семейства Didymellaceae.

Самый старый образец фомоидного гриба, хранящийся в Микологическом гербарии ФГБНУ ВИЗР, LEP 129311, который был успешно амплифицирован, и для которого была определена нуклеотидная последовательность ITS-локуса, имеет возраст 124 года!

Методы молекулярной филогении оказались более информативными и надёжными и позволили дифференцировать близкородственные виды, что было невозможно с помощью морфологических признаков.

Гомжиной М.М. проведена оценка специализации фомоидных грибов на собранном в 2015-2018 годах на подсолнечнике материале (187 изолятов). В свежем материале по морфологическим признакам было выделено 6 морфологических групп, потенциально соответствующим 6 видам фомоидных грибов. Было идентифицировано до вида *Plenodomus lindquistii* – 177 изолятов, 4 изолята – до рода *Diaporthe*, 1 – до семейства Didymellaceae.

В результате всей работы Гомжина М.М. оптимизировала методики гомогенизации пикнид и выделения ДНК фомоидных грибов из гербарных образцов поражённых сложноцветных растений; впервые разработала праймеры для ПЦР (Did2F/Did2R) специфичные для грибов семейства Didymellaceae, использование которых позволяет избегать амплификации рДНК других грибов и растений и видоспецифичные праймеры (Lep1F2/Lep1R2) для молекулярно-генетической идентификации гриба *Plenodomus lindquistii* – возбудителя фомоза подсолнечника; изучила видовой состав возбудителей фомоза подсолнечника и фомоидных грибов на

дикорастущих растениях семейства Asteraceae в 14 областях России, причём виды *Diaporthe gulyae*, *D. phaseolorum* и *Stagonosporopsis heliopsidis* выявлены на территории России впервые. Важным моментом исследования является изучение как реальных, так и потенциальных растений-хозяев фомоидных грибов, что позволит судить о способности сохранения и распространения этих видов грибов – патогенов подсолнечника.

Несмотря на очевидную научную значимость представленной работы, к ней есть несколько **замечаний и вопросов**:

1. В автореферате и в диссертации указано, что опубликовано 4 работы, входящие в ВАК, 3 работы, входящие в другие журналы, остальные материалы конференций. Но так называемые "другие журналы": Вестник защиты растений – 2016 г., Microbiology independent research journal – 2018 г. и Защита и карантин растений – 2019 г. также все включены в список ВАК, и можно их было присоединить к тем 4-м.
2. Таблица 2, стр. 29. Фомоидные грибы выделены из растения *Ambrosia artemisiifolia* в нескольких местах (Приморский край: Уссурийский и Ханкайский р-ны; Адыгея: Майкопский р-н). Этот вид растения, также как и гриб *Diaporthe helianthi*, являются карантинными объектами. Как карантинный статус возбудителя болезни и растения-хозяина сказался на выполнении диссертационной работы?
3. Стр. 30. КСА (картофельно-сахарозный агар). Обычно, для достоверности повторения результатов, в научных работах пишут о происхождении используемого агара (Difco, Mersk, Himedia и др.). То же относится и к следующей п/главе 2.3. , стр. 34 – ОА (овсяный агар) и др.
4. Стр. 51, рис. 17. Почему при использовании праймеров LepIIF2 и LepIIR2 у изолята 2 не выделился белок, тем не менее эти праймеры (изоляты 1-4) могут быть рекомендованы для экспресс-диагностики *Diaporthe helianthi*?

5. Стр.92, вывод 4. Не совсем понятен вывод «Изоляты видов *Didymella glomerata* и *D. americana* в лабораторных условиях могут быть патогенны для подсолнечника, дурнишника, топинамбура и амброзии полыннолистной» и, следующая фраза: «Изоляты *D. glomerata* патогенны для подсолнечника, топинамбура, дурнишника и не патогенны для амброзии полыннолистной». Некоторая коллизия для амброзии полыннолистной. Нужно, очевидно, в выводах писать «В природе изоляты *Didymella glomerata* ... не патогенны для амброзии полыннолистной». Возможно, Гомжина М.М. имела ввиду что-нибудь другое? Ведь в 6-м выводе она отмечает у изучаемых грибов разницу в патогенности различных изолятов одного вида, а в 9-м – что *D. glomerata* широко распространена и «впервые отмечена для ... амброзии полыннолистной ...».

Диссертация напечатана практически без опечаток, что, как правило, в подавляющем большинстве присутствует в таких работах (три опечатки: стр. 6 "вызываемых" в "Теоретическая и практическая значимость работы" 4-ая строка с конца, стр. 32 – склероциоподобные (надо склероциепоподобные) и стр. 95 в **Заключении** – 3 пункт – "использовать"). В автореферате ошибки уже исправлены.

Оценка содержания диссертации и её завершенность

Диссертация М.М. Гомжиной состоит из введения, главы «Обзор литературы» (6 п/глав), главы «Материалы и методы» (5 п/глав), 4-х глав практических исследований, заключения, списка литературы, содержащего 179 источников, в том числе 141 на иностранном языке, приложения. В диссертации показаны научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы, методология и методы исследований. Работа проведена в лаборатории микологии и фитопатологии ФГБНУ Всероссийского НИИ защиты растений. Исследования проведены как по Государственному заданию ФГБНУ ВИЗР, в рамках проекта РНФ №14-26-00067, так и по

индивидуальному проекту, поддержанному Комитетом по науке и высшей школе Правительства Санкт-Петербурга.

Апробация материалов исследования

Результаты работы были представлены и обсуждены на двух международных конференциях, в том числе проводимой во Франции, 3-х форумах молодых учёных, всероссийской конференции с международным участием и съезде микологов России. М.М. Гомжиной написано, что опубликовано 14 работ, в том числе 4 входящих в Перечень ВАК, 3 в другие журналы, а остальные – материалы конференций.

Соответствие автореферата основным положениям диссертации

В автореферате Гомжиной М.М. сохранены все структурные элементы диссертации. Разделы, содержащие сведения о положениях, выносимых на защиту, новизне, заключении, в котором содержатся выводы работы, и главы автореферата М.М. Гомжиной соответствуют таковым в диссертации.

Оценка содержания диссертации и её завершенность

Диссертация М.М. Гомжиной изложена достаточно логично, цели и задачи полностью выполнены, результаты работы имеют большое теоретическое и практическое значение и могут служить эталоном для фитопатологических исследований различных комплексных возбудителей болезней. В диссертации впервые проанализирована специализация к растению-хозяину достоверно идентифицированных изолятов фомоидных грибов, выделенных из подсолнечника и близкородственных сложноцветных растений в отношении подсолнечника, топинамбура, дурнишника и амброзии полыннолистной.

Объём выполненных исследований и практическая значимость полученных результатов соответствует требованиям п. 9 Положения

Правительства РФ от 24 сентября 2013 года № 842 «О порядке присуждения учёных степеней» (с изменениями на 2 августа 2016 года), предъявляемым к диссертациям на соискание учёной степени кандидата паук, а её автор, Гомжина Мария Михайловна, достойна присуждения учёной степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.12 – «микология».

Отзыв обсужден и одобрен на заседании Учёного совета ГБС РАН, протокол № 6 от 17.10.2019 г.

Отзыв составил доктор биологических наук (специальности 03.02.01 – «ботаника» и 03.00.12 – «микология»), главный научный сотрудник, зав. лаборатории защиты растений ГБС РАН Олег Борисович Ткаченко



Федеральное государственное бюджетное учреждение науки, Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина Российской академии наук (ГБС РАН). 127276, г. Москва, Ботаническая ул., 4, тел. (499) 977-91-45, факс (499) 977-91-72. Электронная почта info@gbsad.ru, сайт www.gbsad.ru

