

ОТЗЫВ официального оппонента
на диссертацию на соискание ученой степени
кандидата биологических наук Бибикова Никиты Михайловича
на тему: «Микобиота, ассоциированная с корневой системой, и анатомия
микоризы орхидных на примере тропических и бореальных видов»
по специальности 1.5.18. Микология

Диссертационная работа Бибикова Никиты Михайловича посвящена многоаспектному изучению одного из интереснейших и слабо изученных феноменов в современной микологии и симбиологии – микоризы орхидных, а также выявлению и характеристике грибных сообществ, связанных с этой уникальной, эволюционно продвинутой и антропогенно уязвимой группой цветковых растений. **Актуальность избранной темы** диссертационного исследования не вызывает сомнений, что подтверждается, как минимум, с трёх позиций. Во-первых, несмотря на более чем вековую историю с момента первого описания пелотонов микоризы орхидных и выделения из них микобионтов, множество вопросов остаются открытыми для понимания и объяснения структурных и функциональных взаимодействий между орхидными и ассоциированными с ними грибами. Современные методологический инструментарий при этом позволяет получать качественно новые данные, что обуславливает необходимость его активного использования для решения имеющихся спорных вопросов. Во-вторых, повсеместно возрастающее антропогенное влияние, отражающееся в эвтрофикации и уничтожении местообитаний дикорастущих орхидных, не только в зоне тропического, но и умеренного климата, также актуализирует необходимость изучения таксономического и экологического разнообразия ассоциированной с ними микобиоты для аргументированной и эффективной реализации природоохранных мероприятий по восстановлению популяций орхидных *in situ* и оптимизации условий их сохранения *ex situ*. И, наконец, в-третьих, возможности практического использования орхидных, как ценных

декоративных растений, так и в качестве источника флавоноидов, алкалоидов, полифенолов и других биологически активных соединений, используемых и перспективных для медицинских целей, определяют важность выявления и изучения микобионтов орхидных, являющихся агентами, стимулирующими вегетацию, цветение и устойчивость этих растений к болезням и вредителям. При этом особую роль играют не только условия совместного культивирования, но и таксономическая принадлежность растения и гриба.

Принимая во внимание сохраняющуюся неясность в отношении специфичности микоризы орхидных, диссертантом **убедительно сформулирована цель диссертационной работы**, состоящая в изучении микобиоты, ассоциированной с корневой системой, и структурных особенностей грибной колонизации орхидных на примере тропических и бореальных видов, а также определены соответствующие поставленной цели задачи исследования. Цель работы соответствует заявленной в названии теме исследования, а также специальности 1.5.18. Микология (по биологическим наукам).

В качестве **объектов исследования** диссертантом изучены образцы корней трёх видов тропических наземных орхидных (*Eulophia graminea*, *Spiranthes hongkongensis* и *Zeuxine strateumatica*) и бореальной наземной орхидеи *Goodyera repens* для выявления биоразнообразия микобионтов, образцы корней четырёх родов эпифитных орхидных подсемейства *Epidendroideae* на предмет анатомии микоризы, а для определения антибиотической активности дополнительно были использованы также культуры грибов, выделенные из чрезвычайно редкой и охраняемой МСОП оранжереистой орхидеи *Paphiopedilum purpuratum*.

В работе использован весьма богатый арсенал методов и реализован **комплексный методологический подход**, включающий сочетание как классических методов изучения биологического разнообразия и экспериментальных исследований грибов (полевые исследования, метод

чистых культур, микроморфологическая идентификация, анализ патогенности и антибиотической активности), так и современных молекулярно-генетических методов, основанных на использовании платформы высокопроизводительного секвенирования Illumina MiSeq. Кроме того, для изучения анатомии микоризы были использованы методы световой, флуоресцентной и конфокальной микроскопии, а для наблюдения ультраструктур гиф микобионтов – сканирующая и трансмиссионная электронная микроскопия. Следует подчеркнуть, что **выбор методов** для решения каждой из задач диссертационного исследования **представляется обоснованным и адекватным.**

Проведенное Н.М. Бибиковым исследование позволило существенно расширить представления о биоразнообразии, специфичности и экологии микобионтов и эндофитов орхидных, установить факторы, влияющие на состав ассоциированной микобиоты и регуляцию колонизации корней эпифитных орхидных. **Научная новизна** полученных данных заключается в том, что автором впервые был изучен состав ассоциированной микобиоты корней *Eulophia graminea* (10 видов), выявлены неизвестные ранее микобионты и эндофиты, ассоциированные с корнями *Zeuxine strateumatica*, *Spiranthes hongkongensis* и *Goodyera repens*, проведена их трофическая, географическая и экологическая аннотация. Впервые с использованием метода высокопроизводительного секвенирования изучен состав ассоциативной микобиоты *Goodyera repens* на территории России (453 ОТЕ) и выявлены факторы, влияющие на состав грибного сообщества в корнях *G. repens* из разных регионов России. Кроме того, впервые показано влияние гетерогенных элементов кортекса корней эпифитных орхидных на процесс колонизации корня микобионтом.

Несомненную **практическую значимость** имеют результаты по антибиотической активности микобионтов и эндофитов орхидных, в том числе по выявлению высокой антибиотической активности у изолятов родов *Penicillium*, *Fusarium*, *Umbelopsis* и *Trichoderma*.

Достоверность и обоснованность полученных результатов подтверждается разнообразием использованных в работе методов исследования, проведением экспериментальных исследований с достаточным числом повторностей, статистическим анализом полученных данных, а также большим объемом изученного материала (76 изолятов, выделенных из корней наземных орхидных города Шэньчжэнь (Китайская Народная Республика), 73424 последовательности ITS2 из образцов корней *Goodyera repens*, 54 изолята, проанализированных на антибиотическую активность).

Диссертация изложена на 135 страницах, содержит 30 рисунков, 19 таблиц и 3 приложения. **Структура** работы логична и традиционна, она включает введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты и обсуждение (6 подразделов), заключение, список сокращений, список литературы и приложения. Список литературы содержит 284 источника (221 – за последние 15 лет), из них 273 – на иностранных языках.

Во **Введении** (с. 4–9) диссертант раскрывает степень разработанности темы исследования и обосновывает её актуальность, формулирует цель и задачи, характеризует объекты исследования, научную новизну и практическую значимость работы, формулирует три основных положения, выносимых на защиту, приводит информацию о личном вкладе автора, об апробации и публикациях по теме диссертации.

В первой главе (вероятно, справедливо именовать её так, поскольку с неё начинается нумерация в Оглавлении) **«Обзор литературы»** (с. 10–29) обобщены накопленные к настоящему времени сведения о микоризе орхидных. Особое внимание диссертант уделяет характеристике базидиомицетов из порядков Cantharellales и Sebaciniales, представителей класса Atractiellomycetes, а также других таксономических групп грибов, выявленных в ассоциации с орхидными в качестве микоризообразователей и эндофитов. Автором отмечается, что грибы-эндофиты, колонизирующие корни орхидных, наряду с микобионтами являются важной частью ассоциативной микобиоты. В целом, глава хорошо структурирована,

содержит восемь разделов. Выполненный обзор выглядит очень информативным, что позволяет сделать вывод о хорошем владении диссертантом литературными данными по теме диссертации.

В главе 2 «**Материалы и методы**» (с. 30–41) охарактеризованы объекты исследования и подробно описана широкая палитра методов, использованных в ходе выполнения данной работы. Примечательно, что стиль изложения дает убедительное представление о личном применении диссертантом всех описанных методик.

Глава 3 «**Результаты и обсуждение**» (с. 42–99) является самой объёмной (включает 6 блоков), информационно ёмкой и аккумулирующей данные, полученные непосредственно в рамках исследования.

Диссертантом методами световой микроскопии подтверждено наличие пелотонов во всех исследованных корнях орхидных.

В отношении микобиоты, ассоциированной с корнями трёх видов тропических наземных орхидных, развивающихся в антропогенных условиях города Шэньчжэнь, шесть видов грибов впервые выявлены в корнях орхидных в качестве бессимптомных эндофитов, при этом *Fusarium oxysporum* и *Curvularia lunata* выявлены в корнях всех трех видов орхидных.

Подробно охарактеризована корневая микобиота *Goodyera repens*, которая изучена диссертантом не только культурально-морфологическими методами, но и методом метабаркодинга. В результате применения последнего выявлено 453 ОТЕ грибов, относящихся к 5 отделам. Описывая структуру грибных сообществ корней *G. repens*, диссертант аргументированно объясняет различия в таксономическом составе и распределении экологических групп между корневой и почвенной микобиотой, отмечая участие грибов рода *Ceratobasidium* в качестве микобионтов *G. repens*, а также региональную специфичность корневой микобиоты, опосредованную сообществами микоризообразователей и эндофитов. Несомненно значимый результат диссертационного исследования связан с обнаружением в изученных образцах корней нуклеотидных

последовательностей представителей класса Archaeorhizomycetes, в том числе предположительно относящиеся к еще не описанному роду.

Диссертантом проведено изучение антибиотической активности изолятов ассоциированных грибов, при этом показаны различия представителей рода *Ceratobasidium*, являющихся микобионтами тропических наземных орхидных и бореальной наземной орхидеи *G. repens* по способности продуцировать антимикробные вещества. Эти данные, а также анализ гомологичных ITS-последовательностей, ядерного статуса, ультраструктуры мицелия и фитопатогенности изолятов, позволили подтвердить изначальную гембиотрофность рода *Ceratobasidium*.

Завершает содержание главы раздел, посвященный сравнительному изучению анатомии микоризы эпифитных и наземных орхидных. Здесь диссертантом убедительно показана способность микобионта к колонизации водозапасающих клеток, что указывает и на способность проникать сквозь лигнифицированные клеточные стенки.

В **Заключении** (с. 100–102) автор обобщает полученные результаты и формулирует шесть **выводов**, которые закономерно вытекают из результатов исследований и являются **полностью обоснованными**.

По материалам диссертации **опубликовано** 4 статьи в рецензируемых научных изданиях, индексируемых в Scopus, ядре РИНЦ и рекомендованных для защиты в диссертационном совете МГУ, а также были доложены и прошли **апробацию** на 5 научных конференциях всероссийского и международного уровней.

Несмотря на общую высокую оценку проведенного диссертационного исследования, к работе имеются несколько вопросов и замечаний.

1. Чем обусловлен выбор автором таксономических концепций и какие дифференцирующие признаки учитываются им в отношении родов *Ceratobasidium* и *Thanatephorus*, принятым в данной работе? Следует заметить, что в настоящее время род *Rhizoctonia* принят единственным в составе семейства Ceratobasidiaceae на основании многочисленных

филогенетических и номенклатурных исследований (Oberwinkler et al. 2013; González et al., 2016; Бондарцева, Змитрович, 2021; Stalpers et al., 2021; Hyde et al., 2024).

2. В разделе «**2.5 Выделение чистых культур грибов**» (с. 37) диссертант пишет, что «Чашки Петри [с питательной средой и фрагментами корней – *pec.*] помещались в термостат при 26°C на 7 суток». Вместе с тем, данный метод применялся для выявления ассоциированной микобиоты корней бореальной наземной орхидеи *Goodyera repens*, собранных на территории Московской, Ленинградской областей и Карачаево-Черкесской Республики, где средняя температура июля (самого теплого месяца года) не превышает +24°C. Не могла ли, по мнению автора, температура культивирования +26°C повлиять на состав и количество полученных изолятов?

3. В завершении раздела «**3.3.1 Общая характеристика ассоциированной микобиоты**» (с. 51) диссертант отмечает, что **«таксономический состав и распределение экологических групп микобиоты корней *G. repens* в каждом регионе уникальны** и отличаются от состава почвенной микобиоты. Географический фактор обуславливает различие лишь в таксономическом составе как корневой, так и почвенной микобиоты, в то время как **распределение экологических групп остается постоянным вне зависимости от региона**». Данное заключение содержит противоречие и нуждается в пояснении.

4. Сведения, представленные на рис. 5 (с. 46) и в табл. 5 (с. 45), разнятся. Во-первых, не согласуется общее число видов, ассоциированных с *E. graminea* и *S. hongkongensis* – по данным табл. 5 это 2 вида (*Nigrospora* sp. и *Talaromyces pinophilus*), а на рис. 5 в соответствующей области диаграммы Венна указана цифра «1». Во-вторых, число специфичных видов грибов, ассоциированных с *S. hongkongensis* – по данным табл. 5 это 4 вида, а на рис. 5 в соответствующей области диаграммы Венна указана цифра «5». Желательно уточнить.

5. На рис. 23 (с. 88) представлены результаты изучения степени развития полисахаридного чехла у двух изолятов (*Ceratobasidium* sp3 и *Rhizoctonia solani* K3-3), демонстрирующие разную степень выраженности данной структуры. Однако, изображения приведены в разном масштабе, что зафиксировано масштабными линейками с разной ценой деления. Для корректной визуализации сходных и/или различающихся параметров наблюдаемого объекта или признака хотелось бы иметь сходные условия наблюдения.

Автореферат диссертации отражает основное содержание работы, включая выводы и положения, выносимые на защиту, однако, в нем досадно упущены ряд интересных разделов (3.1 Микоризный статус изучаемых орхидных, 3.4 Антимикробная активность изолятов грибов, а также несколько разделов из обзора литературы), которые представлены в полнотекстовой рукописи диссертации.

Вместе с тем, указанные замечания не отражаются на положительной оценке диссертационной работы и не снижают научной значимости диссертационного исследования. Диссертационная работа Н.М. Бибикова «Микобиота, ассоциированная с корневой системой, и анатомия микоризы орхидных на примере тропических и бореальных видов» является самостоятельным и завершенным исследованием в области микологии. Результаты, полученные диссертантом, вносят существенный вклад в развитие современных представлений о микоризном симбиозе орхидных. Диссертация отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В.Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует специальности 1.5.18. Микология (по биологическим наукам), а также критериям, определенным пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В.Ломоносова, а также оформлена согласно требованиям Положения о совете по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание

ученой степени доктора наук Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова.

Таким образом, соискатель Бибиков Никита Михайлович заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.18. Микология.

Официальный оппонент:

кандидат биологических наук,
старший научный сотрудник лаборатории систематики и географии грибов
Федерального государственного бюджетного учреждения науки
Ботанического института им. В.Л. Комарова Российской академии наук

Волобуев Сергей Викторович

15 октября 2025 г.

Контактные данные:

тел.: , e-mail:

Специальность, по которой официальным оппонентом защищена
диссертация: 03.02.12 – Микология

Адрес места работы:

197022, г. Санкт-Петербург, вн. тер. г. муниципальный округ Аптекарский
остров, ул. Профессора Попова, д. 2, литера В,
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Ботанический
институт им. В.Л. Комарова Российской академии наук, лаборатория
систематики и географии грибов

Тел.: ; e-mail:

Подпись сотрудника Федерального государственного бюджетного учреждения науки
Ботанического института им. В.Л. Комарова Российской академии наук
С. В. Волобуева удостоверяю:

Учёный секретарь

Федерального государственного бюджетного
учреждения науки Ботанического института
им. В.Л. Комарова Российской академии наук

к.б.н. О. Ю. Сизоненко
15 октября 2025 г.