

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу Чан Ван Куанга «Идентификация и биологический контроль фитопфтороза цитрусовых культур в горной местности северного Вьетнама», представленную на соискание ученой степени кандидата сельскохозяйственных наук по специальности 4.1.3 Агрехимия, агропочвоведение, защита и карантин растений.

Актуальность темы выполненной работы

Цитрусовые культуры являются экономически важными сельскохозяйственными растениями во всем мире, в том числе и в северных провинциях Вьетнама, где в настоящее время среди фруктовых деревьев они занимают наибольшую площадь произрастания и урожайность. Однако получению высоких и стабильных урожаев цитрусовых препятствует широкое развитие фитопфтороза, вызывающий гуммоз, корневую и бурую гниль, хлороз листьев. В настоящее время в качестве основного метода борьбы с болезнями, как указывает автор, является применение фунгицидов широкого спектра действия, которые имеют целый ряд негативных последствий, таких как, загрязнение окружающей среды, угроза здоровью человека, ущерб водным экосистемам, сокращение численности полезных микроорганизмов в почве и истощение основного плодородного слоя. Альтернативой химическому методу защиты служат биологические способы, в частности использование микроорганизмов-антагонистов рода *Bacillus*. Поэтому диссертантом были изучены морфологические и биологические характеристики *Bacillus pumilus*, его эффективность в борьбе с фитопфторозом, а также его потенциал для стимулирования роста растений. В условиях повышающейся техногенной нагрузки на агроэкосистемы несомненно актуальна задача экологизации систем защиты цитрусовых культур от патогенов в северном Вьетнаме на основе уточнения видового состава возбудителей фитопфтороза, изучения их биологических свойств, усовершенствования методов диагностики, выявления эффективности штаммов бактерий-антагонистов в борьбе с болезнями.

Научная новизна результатов исследований

При непосредственном участии автора в ходе исследования были собраны новые данные о распространении видов родов *Phytophthora* и *Pythium* в горных районах северного Вьетнама. Выявлены различия между видами по морфологии, чувствительности к фунгицидам и агрессивности. Диссертантом впервые во Вьетнаме были обнаружены виды *Phytophthora parvispora* и *Pythium deliense* и в горных районах северной части страны – *Phytophthora mekongensis*.

Чан Ван Куанг впервые выявил, что штаммы *Bacillus pumilus* (VN-H5, VN-H8, VN-F8, VN-K13) эффективны в ингибировании радиального роста пяти видов возбудителей фитофтороза, поражающих цитрусовые деревья во Вьетнаме. Установил, что данные штаммы *B. pumilus* могут продуцировать летучие органические соединения, аммиак, индол-3-уксусную кислоту и ферменты (протеазу, фосфатазу, каталазу, хитиназу, целлюлазу).

Соискателем идентифицированы гены синтеза антибиотиков в штаммах *B. pumilus*, ответственные за производство итурина, субтилина, бацилизина, бацилломицина и впервые для штаммов VN-K13, VN-F8 – гена бацилломицина Б. Кроме того, им установлено, что штамм *B. pumilus* VN-K13 способствует увеличению массы стеблей и корней цитрусовых саженцев в опытах «*in vivo*».

Степень обоснованности и достоверности результатов подтверждается большим объемом проведенных исследований с применением современных методов лабораторных анализов, оценкой полученных результатов статистическими методами с использованием международной системы обработки данных, апробацией в печати.

Сформулированные автором цель и задачи исходят из актуальности проблемы разработки и оптимизации технологий интегрированной защиты цитрусовых культур от болезней и фитосанитарной оптимизации агроэкосистем. Заключение, выводы, научные положения соответствуют поставленным целям, задачам и полученным результатам.

Теоретическое и практическое значение полученных результатов

Чан Ван Куанга заключается в том, что идентификация новых видов возбудителей фитофтороза citrusовых, изучение их морфологических характеристик, чувствительности к фунгицидам, будет способствовать пониманию разнообразия и эволюции этих патогенов растений.

Полученные результаты автором по оценке эффективности штаммов бактерий-антагонистов *Bacillus pumilus* в борьбе с фитофторозом citrusовых культур в лабораторных и тепличных условиях послужат основой для будущих исследований в области биологического контроля.

Результаты исследования диссертанта перспективны для разработки более эффективных и экологически безопасных мер борьбы с болезнями citrusовых культур во Вьетнаме.

Апробация и публикации по результатам исследований

Основные положения диссертации Чан Ван Куанга опубликованы в 8 научных работах, в том числе 3 в журналах, индексируемых в Scopus и Web of Science и 2 – из списка ВАК. Результаты исследований представлены на двух научных конференциях.

Структура и содержание работы

Диссертационная работа Чан Ван Куанга изложена на 151 странице компьютерного текста и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследований, экспериментальной части, заключения, списка использованной литературы и приложений. Содержит 12 таблиц, 18 рисунков и 3 приложения. Список литературы включает 245 наименований, в том числе 232 иностранных авторов.

Во введении (стр. 5-10) автором обоснована актуальность темы исследования, степень ее разработанности, представлены цель и задачи исследований, научная новизна, теоретическая и практическая значимость. Приведены основные положения, выносимые на защиту, степень достоверности полученных результатов, сведения об апробации работы,

участие в конференциях, количество публикаций по теме диссертационного исследования, объем и структура диссертации.

В **обзоре литературы** (стр. 10-30) Чан Ван Куанг отмечает важность исследований по изучению распространения и вредоносности фитопфтороза цитрусовых культур, вызывающий гуммоз, корневую и бурую гниль, хлороз листьев, так как ежегодные потери урожая от гуммоза составляют от 10% до 30%. Автором детально представлено биология цитрусовых культур и их поражающих основных патогенов. Приведена таксономия фитопатогенных оомицетов рода *Phytophthora*, описаны симптомы поражения, представлены ареалы распространения возбудителей, их жизненный цикл, экономические риски. Подробно описаны методы борьбы с болезнями, включающие химические средства, устойчивость сортов, соляризацию почвы, применение компоста с куриным пометом и органической мульчей, фитосанитарные и биологические способы.

В последнем отмечается роль бактерий рода *Bacillus*. Диссертантом подробно дан обзор рода *Bacillus*, их систематическое положение, биология и их эффективность в борьбе с болезнями растений. Соискатель отмечает механизмы действия микробов-антагонистов, включающие выработку антимикробных веществ или литических ферментов, конкуренцию за питательные вещества и пространство, паразитизм и индуцированную системную устойчивость растений.

В целом, литературный обзор написан на высоком научном уровне, отличается логичностью построения и анализа материала. Представленный автором анализ литературных источников позволил спрогнозировать и спланировать экспериментальную часть работы.

Во второй главе «**Материал и методы исследований**» (стр. 30-45) подробно описаны материалы и методики проведения исследований. Дано описание основных сред, растворов и способов их приготовления. Представлена методика сбора данных о распространении, выделении и

идентификации видов *Phytophthora spp.*, анализ их патогенности и тестирования чувствительности к фунгицидам. Описано выделение и идентификация штаммов *Bacillus*, оценка их антагонистической активности, проведение качественного анализа ферментативной активности штаммов бактерий, включая протеазу, хитиназу, целлюлазу, β -1,3-глюканазу, амилазу, индол-3-уксусную кислоту, производство сидерофоров и аммиака, солюбилизацию фосфатов, каталазу, утилизацию цитрата, липазу и уреазу. С помощью ПЦР выявлены гены, ответственные за биосинтез специфических противомикробных антибиотиков, таких как бацилломицин, итурин, бацилизин, субтилин, фенгицин и сурфактин. Представлены методы оценки эффективности штаммов бактерий *Bacillus* в биологическом контроле и их потенциала для стимулирования роста растений цитрусовых в условиях «*in vivo*».

В третьей главе «Результаты и обсуждение» (стр. 45-97) автором проведен анализ производства цитрусовых деревьев в четырех горных провинциях северного Вьетнама (Туен куанг, Ха Зянг, Фу Тхо, Йен баи) и мониторинг их заболеваемости. Наивысшая степень распространения болезней (19,5%), наблюдалась в Хам Йен провинции Туен Куанг.

В ходе исследования Чан Ван Куанг выявил 11 вредоносных болезней, включая 8 грибных, 2 бактериальных и одно заболевание неинфекционной природы. Среди них особенно опасными для цитрусовых культур являются гуммоз и корневые гнили, вызываемые *Phytophthora spp.*, поэтому диссертант сосредоточил свои усилия на их исследовании. Первоначально отметил распространенность фитофтороза цитрусовых деревьев от места выращивания и рельефа местности.

Чан Ван Куанг выделил 83 изолята оомицетов из почвенной ризосферы и тканей цитрусовых деревьев. На основании морфологических характеристик и анализа последовательностей гена *cox1* и области ITS автором были выявлены пять видов рода *Phytophthora* и четыре вида *Pythium*.

Автором проведена оценка патогенности и чувствительности видов рода *Phytophthora* к шести монокомпонентных фунгицидов *in vitro* для определения их эффективности. Выявлено, что наибольшие площади поражения цитрусовых при всех методах инокуляции (плодов, стеблей и корней) вызывают *P. mekongensis* и *P. citrophthora*. *P. nicotianae*, *P. palmivora* и *P. parvispora* также вызывали значительные площади поражения, но в целом были менее агрессивны. Фунгициды металаксил и диметоморф проявили наибольшую ингибирующую активность, за которой следовали хлороталонил и фосэтил алюминия. Фосфонат калия проявил наименьшую эффективность в ингибировании изолятов *Phytophthora*.

Из 143 полученных соискателем бактериальных штаммов *Bacillus pumilus*, четыре, обозначенные как VN-H5, VN-H8, VN-F8 и VN-K13, проявили значительную антагонистическую активность против пяти видов рода *Phytophthora*, ассоциированных с болезнями цитрусовых культур. Штамм VN-K13 проявил наивысшую эффективность, с процентом ингибирования радиального роста (PIRG) в диапазоне от 53,13% до 68,31%.

Диссертантом выявлено, что все четыре штамма бактерий *B. pumilus*, VN-H5, VN-H8, VN-F8 и VN-K13, обладают способностью производить сидерофорные соединения, ферменты, такие как протеаза, фосфатаза, каталаза, летучие органические соединения и несут гены биосинтеза антибиотиков (итурины и субтилины). Кроме того, штаммы VN-H5 и VN-K13, могут вырабатывать аммиак (NH_3). Штамм VN-K13 также способен производить индол-3-уксусную кислоту, известную своей способностью стимулировать рост растений и синтезировать ферменты хитиназу и целлюлазу. Штаммы VN-H8, VN-F8 и VN-K13 также содержат гены биосинтеза антибиотиков, ответственные за производство бацилизина.

В результате проведенных исследований Чан Ван Куанг предложил штамм *B. pumilus* VN-K13 в качестве перспективного кандидата для борьбы с фитофторозом и стимулирования роста цитрусовых культур во Вьетнаме.

Автореферат, представленный на 21 странице, соответствует и отражает содержание диссертации.

Вопросы и замечания к диссертационной работе.

1. Не указаны годы исследований, в каких институтах или научных учреждениях они проведены? Также не указаны места проведения научных конференций, где автор участвовал. Желательно было указать все использованные источники литературы.

2. В обзоре литературы нет данных сколько же видов рода *Phytophthora* поражает цитрусовые культуры в мире и во Вьетнаме. Есть ли приуроченность различных видов *Phytophthora* к проявлению тех или иных симптомов поражения (гуммоз, корневую и стебельную гниль, хлороз листьев, опадение листьев, отмирание побегов и слабый рост) или в них участвует несколько видов?

3. Нет описания системы химической защиты на плантациях цитрусовых за сезон или год (сколько раз применяют, какие препараты, схема их применения). Соответственно должны быть данные по полевой эффективности тех или иных химических препаратов, применяемых для борьбы с болезнями.

4. Не понятно описание интегрированной защиты культур. Начинать систему защиты с него, так как она включает все описанные автором способы.

5. Указать вид заболевания неинфекционной природы.

6. Как соискателю кандидата сельскохозяйственных наук желательно было бы дать и рекомендации производству и акты внедрения.

7. Есть некоторые грамматические и стилистические ошибки, повторы в тексте диссертации.

Все высказанные замечания не снижают общего положительного впечатления от работы Чан Ван Куанга. Сделанные замечания не затрагивают основных положений и выводов и носят, в основном, дискуссионный характер.

Заключение

Диссертационное исследование Чан Ван Куанга «Идентификация и биологический контроль фитофтороза цитрусовых культур в горной местности северного Вьетнама» является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится новое решение экологизации защиты цитрусовых культур от фитофтороза во Вьетнаме, имеющей важное значение для повышения продуктивности и ее качества. Работа соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата сельскохозяйственных наук, согласно п. 2.2 раздела II Положения о присуждении ученых степеней в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы», утвержденного Ученым советом РУДН, протокол № УС-1 от 22.01.2024 г., а ее автор, Чан Ван Куанг, заслуживает присуждения ученой степени кандидата сельскохозяйственных наук по специальности 4.1.3. Агрохимия, агропочвоведение, защита и карантин растений.

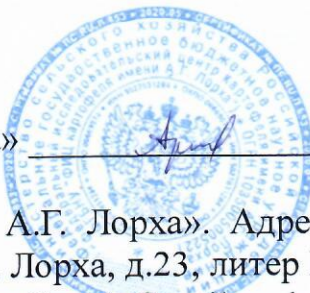
Официальный оппонент:

Старший научный сотрудник отдела агротехнологий,
ФГБНУ «ФИЦ картофеля имени А.Г. Лорха»,
доктор сельскохозяйственных наук,
по специальности 4.1.3. Агрохимия,
агропочвоведение, защита и карантин растений
«__» _____ 2024

 Г.Л. Белов

Подпись Белова Г.Л., заверяю:

Ученый секретарь ФГБНУ
«ФИЦ картофеля имени А.Г. Лорха»



_____ К.В. Аршин

ФГБНУ «ФИЦ картофеля имени А.Г. Лорха». Адрес: 140051, Московская обл., г. Люберцы, д.п. Красково, ул. Лорха, д.23, литер Б;
тел/факс (498)645-03-03, e-mail: coordinazia@mail.ru, <https://potatocentre.ru>