

Отзыв

официального оппонента Звягиной Елены Анатольевны на диссертационную работу Фам Тхи Ха Жанг «Болетовые грибы (Boletaceae, Basidiomycota) Центрального нагорья Вьетнама», представленную в диссертационный совет Д 002.211.01 при Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Ботанический институт им. В.Л. Комарова Российской академии наук на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.12 — «Микология».

Актуальность темы диссертационной работы. Диссертационное исследование Фам Тхи Ха Жанг посвящено изучению разнообразия, таксономии, экологии и перспектив практического использования болетовых грибов. Болетовые грибы играют важную роль в экосистемах, являясь микоризообразователями и источником органического углерода для других компонентов биоты. Виды данной группы используются в пищу человеком, являются источником фармакологических субстанций и биотехнологическими объектами. Несмотря на длительную историю практического использования болетовых грибов, информация об их разнообразии на отдельных территориях и в мире в целом скудна и часто не объективна вследствие использования европейских ключей, не адекватных для определения видов в других регионах. Юго-Восточная Азия является центром разнообразия многих групп живых организмов. Современные исследования показывают, что, по всей вероятности, именно здесь расположен центр разнообразия болетовых грибов. Получение объективных данных о видах болетовых грибов Вьетнама является одним из шагов к решению задачи изучения биологического разнообразия Юго-Восточной Азии.

Оценка подходов и методов. В основу диссертационной работы легли как классические методы маршрутного сбора материала и изучения морфологических признаков с использованием световой и сканирующей электронной микроскопии, так и современные методы молекулярной генетики и биоинформатики. Обращает на себя внимание, что методы сбора и фиксации гербарных образцов модифицированы под природные условия региона. Так автор использовал для сушки плодовых тел герметичные контейнеры с силикагелем. Крупные плодовые тела болетовых грибов плохо сохнут, теряя свои морфологические признаки и генетическую информацию. Силикагель позволяет избежать порчи материала в значительной степени. Исследование основано на материале собранном в 8 географических точках, расположенных относительно равномерно в северной, центральной и южной частях Центрального нагорья. Ключевые участки заложены с учетом климатических условий и растительности, и отражают разнообразие природных условий исследуемой территории. Таким образом, методы и подходы, использованные в работе, отвечают поставленным целям и задачам исследования.

Научная новизна исследования. Несомненным достоинством работы является то, что она сформировала существенный задел в изучении тропических болетовых. Из установленных автором в разнообразии региона 81 таксономических единиц 28 являются потенциально новыми для науки и 42 новыми для территории Вьетнама. Автором совместно с коллегами описано четыре новых для науки вида *Afroboletus vietnamentis*, *Fistulinella olivaceoalba*, *Boletus candidissimus*, *Veloporphyrellus vulpinus*. Работа является первой попыткой оценки разнообразия болетовых грибов Центрального нагорья Вьетнама, основанной на анализе молекулярно-генетических данных, впервые

предпринято флористическое исследование болетовых грибов Вьетнама в различных экологических условиях. Таким образом, результаты исследования, представленного к защите, имеют высокую научную новизну.

Практическая значимость. Прикладное значение данной работы не вызывает сомнений. Изучение ресурсных характеристик потенциально пригодных для использования видов, предпринятое в работе, основывается на их таксономической инвентаризации и определении потребительских качеств. В случае работы Фам Тхи Ха Жанг, оценена съедобность известных для науки видов, найденных на территории, а также очерчен круг видов, съедобность которых не известна, и химический состав которых требует дальнейшего изучения. Одним из достоинств работы является то, что изучение разнообразия болетовых было произведено территориях, которые предназначены для сохранения природных комплексов. Таким образом, данное исследование закладывает фундамент для дальнейших мониторинговых мероприятий в динамике изменений состояния окружающей среды и принятия мер к дополнительной охране уязвимого биологического разнообразия Юго-Восточной Азии.

Оценка содержания работы. Диссертационная работа Фам Тхи Ха Жанг изложена на 186 страницах основного текста и 50 страницах приложения. Общий объем работы составляет 236 страниц. Основной текст содержит 45 рисунков и 7 таблиц. Текст структурирован в 4 главы, предваряется введением, содержит заключение, выводы, списки сокращений, использованной литературы и иллюстративного материала. Список литературы состоит из 225 источников из них 11 на русском языке, 21 на вьетнамском и 193 на других иностранных языках.

Во введении Фам Тхи Ха Жанг дает оценку актуальности и степени разработанности темы, научной новизны, теоретической и практической значимости исследования, формулирует цель, задачи и основные положения, выносимые на защиту. В данном разделе автор приводит краткое описание методов и подходов, использованных в работе, оценивает свой личный вклад в исследование и степень достоверности полученных результатов. Убедительность утверждений автора относительно актуальности и значимости исследования основана на анализе литературных источников, посвященных исследованиям микобиоты региона Юго-Восточной Азии и изучению глобального разнообразия данной таксономической группы. Большое впечатление производят публикации автора по теме диссертации и широкий круг ведущих специалистов, в тесном взаимодействии с которыми была выполнена работа. В то же время, краткое изложение методологии и методов, на которых основано исследование, на мой взгляд, не достаточно точно. Так автор утверждает, что использует филогенетический подход к распознаванию видов и опирается на принятые для грибов границы внутривидовой изменчивости использованных маркерных участков ДНК. Однако при дальнейшем прочтении работы видно, что в критических случаях Фам Тхи Ха Жанг отдает предпочтение морфологическому сходству образцов данной филогенетической линии с известным видом, несмотря на молекулярные различия (см. стр. 78, 92, 95).

Глава 1 посвящена обзору современного состояния исследования болетовых грибов. Автор подробно освещает два аспекта: основные проблемы современной таксономии болетовых и историю изучения данной группы грибов на территории Центрального нагорья Вьетнама. В качестве аргумента, подтверждающего состояние

изученности группы болетовых грибов на территории Центрального нагорья Вьетнама очень удачно использована таблица 1. В ней автор приводит литературные сведения о находках и географическое происхождение типовых образцов видов. При анализе данной таблицы легко убедиться, что к имеющимся литературным данным следует относиться критически, поскольку 23 из 37 найденных на плато Тейнгуен ранее видов были описаны на основе Европейских образцов, 7 на основе Северо-Американских, что расходится с современными представлениями о степени эндемизма у грибов. Такой подход свидетельствует о зрелости автора как исследователя.

Проработка раздела, посвященного истории вопроса мне представляется несколько избыточной, поскольку автор приводит значительное количество подробностей, не связанных непосредственно с историей изучения именно болетовых грибов, а дающих представление о богатой истории вьетнамской культуры и традиций использования грибов в целом. Данные сведения в контексте работы я считаю лишними.

Глава 2 дает представление о материале, на котором выполнена работа, и методах исследования. В ней приведены характеристики природных условий как района исследований в целом, так и конкретных ключевых участков, и качественные картографические иллюстрации. Подробно описаны методы сбора и гербаризации плодовых тел, морфологических и молекулярных исследований и математической обработки результатов. Приведены принципы записи значений морфологических параметров, использованные в работе. К сожалению, Фам Тхи Ха Жанг допустила неточность в формулировке статистических параметров микроморфологических признаков. По-видимому, в работе в качестве границ данных параметров были использованы не минимальные/максимальные средние арифметические, а средние минимальные и максимальные значения параметра, полученные для имеющегося числа образцов при измерении 20 соответствующих структур каждого образца. Кроме того, следует отметить, что автор в дальнейшем при написании аннотированного списка не всегда придерживался приведенной записи параметров.

Производит достойное впечатление материал исследования. Он представлен проанализированными образцами коллекционных сборов и типов, а также последовательностями ДНК. Из 195 образцов коллекционных сборов автору принадлежат сборы 100 образцов. В ходе работы было получено 117 последовательностей ITS, 110 последовательностей гена *tef1 α* и 19 LSU. Для филогенетического анализа автор также привлек последовательности образцов, в том числе и типовых, из базы Genbank. Однако общее число последовательностей в окончательных выравниваниях автором не указано, и филогенетических построений или заключений, для которых использованы последовательности LSU мне найти не удалось.

Глава 3 отражает полученные в работе результаты. Глава изложена на 106 страницах и структурирована в 4 раздела.

Раздел 3.1. «Выявление видового состава семейства Boletaceae Центрального нагорья» содержит результаты филогенетического анализа, произведенного с использованием одного гена и одного не кодирующего участка ДНК. Достоинством работы является (1) то, что для филогенетических построений были использованы участки с разной степенью варьирования в таксономических единицах различного уровня, (2) то, что при выгрузке последовательностей из международной базы данных автор отдавал

предпочтение тем, для которых имелась привязка к типовым или ваучерным образцам. В главе приведены 6 филогенетических деревьев, на основании которых выделялись оперативные таксономические единицы, а также таблица соответствия видов, оперативных таксономических единиц и номеров описаний, приведенных в следующей главе. К сожалению, обсуждение филогенетических деревьев, представляющих особый научный интерес, в главе отсутствует. Во втором абзаце данной главы приведена ссылка на таблицу «А». Таблицу с таким обозначением в тексте мне найти не удалось. В таблице 2 в скобках использованы номера, происхождение которых не понятно, желательно использовать номера Genbank, если это номера последовательностей ДНК. В тексте почему-то написано, что автором описаны как новые для науки 3 вида и одна разновидность, хотя на самом деле из опубликованных автором работ ясно, что описано 4 вида.

Раздел 3.2. Таксономическая ревизия видов *Boletus emodensis*-комплекса. Ревизия данного комплекса выполнена на высоком научном уровне. Выделение видов основывается на филогенетическом анализе молекулярных данных. Таксономические заключения обоснованы морфологическим анализом типовых образцов *Boletellus emodensis* и *B. annamiticus*, приведены протологи, оригинальные изображения, фотографии оригинальных гербарных этикеток и морфологии спор типовых образцов. Автор убедительно показал существование на исследованной территории пяти видов, относящихся к данной сложной группе. Два из пяти видов, *B. areolatus* и *B. aureocontextus*, несомненно, определяются по молекулярному и морфологическому сходству с типовыми образцами. Один, *B. annamiticus*, близок морфологически к соответствующему типу, описанному с данной территории. Два вида являются новыми для науки и требуют описания. При анализе произведенных автором филогенетических построений, возникает вопрос, почему в дереве ITS не были использованы последовательности ДНК образцов *B. emodensis*, полученных Н. Sato, Т. Hattori (2015) при описании видов *B. areolatus* и *B. aureocontextus*?

Раздел 3.3. Аннотированный список видов семейства *Boletaceae*, выявленных на территории Центрального нагорья Вьетнама. Список содержит подробные описания 50 видов и построен по общепринятой схеме. В примечаниях к каждому виду списка автор аргументирует свою точку зрения молекулярными или морфологическими признаками. Однако, в примечаниях при обсуждении видов нет отсылок на соответствующее филогенетическое дерево, что затрудняет понимание аргументов автора. В случае с *Pseudoaustroboletus valens* последовательности из Genbank, использованные автором для оценки сходства своего образца с образцами, цитированными в литературе, при помощи BLASTn, не были включены в филогенетические деревья. С чем это связано? Использование процентного сходства на основе BLASTn не является достаточно корректным способом сравнения генетических последовательностей. Обычно использование BLASTn может давать как завышенные, так и заниженные результаты в связи с тем, что концы последовательностей (в том числе и генбанковских) могут быть неуверенно прочитанными участками. Кроме того, последовательности могут нести непрочитанные или двояко-читаемые нуклеотиды. Поэтому сходство между последовательностями обычно находят по выравниванию с некоторым количеством родственных видов после обрезания краев выравнивания до консервативных участков.

При сравнении в тексте лучше писать на сколько нуклеотидных замен (вставок, делеций) отличаются последовательности, в том случае если ген белок-кодирующий, например *tef1*, хорошо понимать синонимичные это замены или нет.

Раздел 3.4. Анализ видового состава семейства Boletaceae Центрального нагорья Вьетнама. Показано, что на исследованной территории встречается 81 вид данного семейства. Произведен таксономический анализ, установлено что таксономическая структура микобиоты в части болетовых грибов близка к таковой на сопредельной территории Китая. Разнообразие ведущих родов примерно на половину представлено не описанными на настоящий момент видами. Эколого-ценотический анализ, свидетельствует о том, что наибольшим разнообразием болетовых грибов отличаются наиболее разнообразные в отношении микоризообразующих растений и благоприятные по климатическим условиям среднегорные хвойно-широколиственные леса. Важным заключением является основанный на анализе видового состава вывод, что полученные в работе данные свидетельствуют о тесной связи микобиоты территории плато Тейнгуен с микобиотой более северных субтропических территорий Японии и Китая.

Глава 4 раскрывает ресурсный потенциал болетовых грибов территории. Первая часть ее посвящена практическому значению грибов данного семейства. Основной упор в главе идет на анализ съедобности выявленных видов. Данный подход справедлив, так как большинство видов семейства имеют крупные мясистые плодовые тела и вероятность использования их в пищу довольно велика. Учитывая то, что далеко не все болетовые грибы съедобны, а 13 видов из указанного в работе списка – ядовиты, информация о том, какие виды пригодны для употребления, а какие нет представляет большую важность. Вопросы использования представителей данного семейства в других сферах хозяйственной деятельности, например в фармацевтической промышленности или лесном хозяйстве, кратко упоминаются в тексте диссертации в этой и других главах. Во второй части четвертой главы Фам Тхи Ха Жанг анализирует видовое разнообразие данного семейства на особо охраняемых природных территориях. К сожалению, анализ материала, представленного в данном разделе, очень краток и содержит только констатацию того факта, что наибольшее видовое разнообразие отмечено на территории двух парков, расположенных в юго-восточной части Центрального нагорья и пояснение, что данные участки характеризуются наибольшим разнообразием природных условий и микоризных хозяев. При обращении к карте исследований выясняется, что эти два парка расположены в пределах одной горной системы и граничат между собой. Как автор может объяснить тот факт, что микобиоты этих двух территорий имеют только 8 общих видов болетовых?

В заключении к работе автор еще раз коротко резюмирует полученные результаты и их практическое значение.

Выводы, сформулированы на основе результатов исследования, полностью соответствуют поставленной цели и задачам. Достоверность выводов не вызывает сомнений.

Список литературы составлен по установленным правилам. На использованные литературные данные дается соответствующая ссылка в тексте. В случае привлечения материалов, опубликованных совместно с другими исследователями, автор отмечает это в диссертации. При использовании фотоматериалов, изображений, коллекционных образцов сделаны соответствующие ссылки на авторство и гербарные коллекции.

Приложение к диссертации содержит великолепный иллюстративный материал к 50 видам грибов, описанным в аннотированном списке. На цветных наклейках изображены основные макро- и микроморфологические признаки и общий вид местообитания.

Структура и содержание **автореферата** диссертации Фам Тхи Ха Жанг соответствует структуре и содержанию диссертации: кратко приведено содержание всех разделов, в полном объеме представлены выводы. По теме диссертации автором опубликовано 9 работ, в том числе 5 статей в российских и международных журналах, индексируемых в базах данных Scopus и Web of Science, рекомендованных ВАК РФ. Результаты были представлены на 4 конференциях.

Тема диссертации по проблематике, объектам, выводам и положениям, выносимым на защиту, **соответствует** научной специальности 03.02.12 — «Микология»

Заключение

Диссертационная работа Фам Тхи Ха Жанг «Болетовые грибы (Boletaceae, Basidiomycota) Центрального нагорья Вьетнама» представляет собой законченную квалификационную работу, выполненную на современном научном уровне. Работа по актуальности, новизне, теоретической и практической значимости, объему выполненных исследований соответствует критериям, установленным в пунктах 9 – 11 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» (постановление правительства Российской Федерации №842 от 24.09.2013).

Кандидат биологических наук, специальность 03.00.13 – «Физиология»,
ведущий научный сотрудник
Научно-образовательного центра института естественных и технических наук
БУ ВО «Сургутский государственный университет»,

628412, Ханты-Мансийский
автономный округ – Югра,
г. Сургут, ул. Ленина д. 1.
Тел. +7 (3462) 76-29-14
E-mail: mycena@yandex.ru
Сайт: <http://www.surgu.ru>



Звягина Елена Анатольевна

Подпись *Звягина Е.А.*
заверяю
Начальник ОК СурГУ
Дата «22» апреля 2020 г.
Подпись *Михайлова*

14 апреля 2020 г.