

УТВЕРЖДАЮ:

Директор ФИЦ КазНЦ РАН,
член-корреспондент РАН



/ А.А. Калачев

12 2024 г.

ОТЗЫВ

ведущей организации

Татарский научно-исследовательский институт сельского хозяйства – обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Казанский научный центр Российской академии наук» на диссертационную работу Колычихиной Марии Сергеевны «**Защита картофеля от вирусов в полевых условиях с использованием индукторов болезнестойчивости**», представленную на соискание ученой степени кандидата сельскохозяйственных наук по специальности 4.1.3. Агрехимия, агропочвоведение, защита и карантин растений

Актуальность. Проблема вирусных патогенов актуальна для картофеля, как вегетативно размножаемой культуры, поскольку передача инфекции из поколения в поколение приводит к снижению качества и урожайности сортов, вплоть до полного их вырождения. В настоящее время оздоровление картофеля от вирусов проводится с помощью выделения верхушечной меристемы, свободной от вирусов, проверки высокочувствительными методами диагностики полученных растений на отсутствие вирусов. На следующих этапах проводится микрклональное размножение здоровых растений, получение миниклубней в теплицах, затем начинается размножение здорового материала в полевых условиях. На всех этапах размножения и, особенно в полевых условиях, существует риск повторного заражения оздоровленного материала вирусной инфекцией как контактным путем, так и с помощью насекомых-переносчиков. Одним из возможных путей поддержания оздоровленного материала в исходном продуктивном состоянии в полевых условиях кроме контроля насекомых-переносчиков, является использование веществ, либо обладающих прямой антивирусной активностью, либо способных индуцировать естественные защитные механизмы растения.

Целью исследований была оценка биологической эффективности многоцелевых препаратов с антивирусными свойствами и их влияния на зараженность вирусами растений и на продуктивность и урожайность картофеля в полевых условиях.

Научная новизна исследований заключается в том, что диссертантом впервые доказана биологическая эффективность применения препаратов Фармайод и Иммуноцитифит, как индукторов болезнестойчивости против Y- и M-вирусов, а также комплексов вирусов картофеля в полевых условиях. Получены новые знания об изменении содержания Y- и M-вирусов картофеля под действием исследуемых препаратов: Фармайод, Иммуноцитифит, Вирон, Зерокс, Экогель, Амулет. Приоритетно уточнен механизм действия йода на вирусные болезни, рост и развитие растений картофеля. Уточнена динамика проявления симптомов разных вирусов под влиянием погодных условий и особенностей сорта. Показано, что уровень скрытой зараженности растений вирусами был значительно выше, чем визуально наблюдаемый уровень распространенности болезней, особенно в отношении моноинфекции S-вируса. Приоритетно экспериментально доказана возможность повышения урожайности заражённых растений в результате применения препаратов Фармайод и Иммуноцитифит.

Теоретическая значимость Получены новые знания об изменении содержания Y- и M-вирусов картофеля под действием исследуемых препаратов. Приоритетно уточнен механизм действия йода на вирусные болезни, рост и развитие растений картофеля.

Практическая значимость. Усовершенствованы элементы технологии защиты посадок картофеля от вирусной реинфекции Y-, M- и S- вирусов и их сочетаний применением препаратов разных химических классов против на вегетирующих растениях современных сортов картофеля. Разработаны регламенты применения препарата Фармайод в качестве средства защиты растений от Y- и M-вирусов, а также комплексной вирусной инфекции картофеля в полевых условиях в наиболее оптимальные сроки с учетом исходной зараженности посадочного материала и возможного инфицирования растений в поле. На основе полученных данных препарат Фармайод внесен в Государственный каталог пестицидов и агрохимикатов, разрешенных для применения на территории Российской Федерации. Включение препарата Фармайод в систему защиты картофеля от болезней способствовало увеличению рентабельности производства продовольственного картофеля в среднем на 9-12%, использование Иммуноцитифита – на 7-10% в зависимости от региона. Результаты исследований могут быть использованы в учебном процессе при изучении дисциплин, связанных с растениеводством и защитой картофеля, также в производстве семенного и товарного картофеля.

Общая оценка. Диссертация изложена на 184 страницах компьютерного текста, состоит из введения, обзора литературы (глава 1), методической главы (глава 2), экспериментальной главы (главы 3), заключения, приложений (12), включает 20 таблиц и 27 рисунков. Библиографический список состоит из 240 наименований, в том числе 95 иностранных.

Во Введении обоснована актуальность исследований, описана степень разработанности темы, сформулированы цель и задачи, резюмирована научная новизна полученных результатов теоретического и прикладного характера, сформулирована методология исследований, рассмотрены основные положения, выносимые на защиту.

В Главе 1 диссертантом приведен обзор вирусных болезней картофеля: изменений их патоконплекса, распространенности и вредоносности, роль векторов в условиях изменения климата; приведена характеристика распространенных в РФ вирусов картофеля, описаны методы диагностики и защиты от них растений, сделан обзор перспективных в качестве индукторов вирусоустойчивости соединений.

Глава 2 посвящена описанию условий, где проводились лабораторные, вегетационные и полевые исследования, объектов и методов исследований.

В Главе 3 приведены данные, полученные диссертантом в ходе выполнения исследований. Уточнена симптоматика моноинфекций вирусами Y, M, S сортов картофеля Ред Скарлетт, Адретта, Ильинский. Установлено, что Y-вирус вызывал снижение высоты и общей облиственности зараженных растений, снижалось содержание основных фотосинтетических пигментов в листьях: общего хлорофилла, хлорофилла *b*. Вирусы M и S не оказывали существенного влияния на высоту и облиственность растений, у сорта Адретта, зараженного M-вирусом, отмечали снижение количества сырого протеина, витамина C. В результате негативного влияния вирусов достоверно снижалась урожайность опытных растений: в среднем за период испытаний 2014-2019 гг. у сорта Ильинский на 48,8%, сорта Адретта – на 52,3%, сорта Ред Скарлетт – на 54,9%. При этом возрастала доля маловесных и нетоварных, деформированных клубней.

Автор в условиях мелкоделяночного полевого опыта и в производственных опытах определял биологическую эффективность препаратов в вариантах опыта по результатам ИФА отобранных проб до и после обработок препаратами. Распространенность вирусов PVY и PVM снижалась в вариантах с препаратом Фармайод намного сильнее, чем в вариантах с эталоном (Иммуноцитифит) и другими препаратами. Биологическая эффективность Фармайода против PVY составила 92,6%, против PVM – 70,9%. Биологическая эффективность препаратов Амулет, Экогель, Зерокс и Вирон против Y-вируса была ниже 26,1-37,3 %, против M-вируса –14,8 -33,5%, у Иммуноцитифита – 54,5%. Ни один из изучаемых препаратов не оказал значимого влияния на содержание S-вируса в анализируемых растениях. Такая же высокая биологическая эффективность препарата Фармайод против Y-вируса получена и в производственных условиях: в Липецкой области 79,1%, в Московской области – 74,9%. В Астраханской области биологическая эффективность препарата Фармайод против комплекса вирусов составила 73,2%.

Кроме того, испытываемые препараты оказали очень большое влияние на повышение урожайности обработанных растений. Так, после обработки Иммуноцитифитом средняя прибавка урожайности по годам на всех сортах картофеля в мелкоделяночных опытах составила 0,9 кг/м², в производственных опытах в Липецкой и Астраханской областях возросла на – 15,8-16,9 и 27,5%, соответственно. Средняя прибавка урожайности на всех сортах после трехкратного применения Фармайода была 1,3 кг/м², в производственных условиях Липецкой области урожайность возросла на 37,9-34,9%, в Астраханской области – на 45,5%.

Автор сообщает, что на основе полученных результатов препарат Фармайод внесен в Государственный каталог пестицидов и агрохимикатов с 2022 г., разрешенных для применения на территории Российской Федерации со следующей характеристикой: **Фармайод, ГР** (100 г/л йода) (ООО «НБЦ «Фармбиомед») – фунгицид (вирулицид), основой которого является водорастворимый комплекс йода с неионогенным ПАВ. Препарат системного и контактного действия, высокоэффективен против комплекса вирусных, бактериальных и некоторых грибных инфекций. Не вызывает резистентности и обладает иммуномодулирующим эффектом. Рекомендован к применению на следующих культурах: томат открытого и защищенного грунта, огурец защищенного грунта, картофель, яблоня и виноград для защиты от вирусных болезней. Норма применения пестицида на картофеле – 2,5-4,0 л/га. Физиологическое действие йода на растения осуществляется посредством специфического участия его в азотном обмене и последующим неспецифическим влиянием на активность ферментов и окислительно-восстановительные процессы, а также на состояние воды в тканях, как элемента отрицательной гидратации. Кроме того, йод, индуцируя биосинтез азотистых веществ, повышает скорость образования запасных и опорных белков, необходимых для создания органической массы, что в конечном итоге приводит к увеличению урожая и улучшению его качественного состава.

Диссертант на основе полученных результатов внес уточнения в механизм действия Фармайода против вирусов картофеля. При обработке растений водным раствором йодполимерного комплекса Фармайод происходит высвобождение молекулярного йода I₂ и устанавливается равновесие, при котором из комплекса продолжается высвобождение йода по мере вступления последнего в различные реакции с белковыми структурами, аминокислотами, жирными кислотами. При этом в водном растворе одновременно протекает реакция молекулярного йода с водой с образованием йодид-иона и йодноватистой кислоты, обладающей высокой окислительной активностью. Вероятно, свободный йод реагирует с окисляемыми группами -SH или -OH аминокислотных звеньев ферментов и структурных белков, а также ДНК и РНК патогенов, что приводит к дезактивации ферментов и денатурации белков.

В Заключении обобщены результаты исследований и приведены практические результаты.

По материалам диссертации опубликовано 7 печатных работ, в том числе 2 – в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК РФ, 1 – в издании, входящем в международную реферативную базу данных Scopus.

Положения диссертации полностью отражены в опубликованных работах и доложены на научных конференциях.

Достоверность полученных результатов. Степень обоснованности и достоверности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации, подтверждается достаточным объемом экспериментальных данных и их статистической обработкой в программе Microsoft Excel.

Личный вклад автора. Работа является результатом оригинальных исследований. На 90% этапы работы были выполнены лично автором (обзор и анализ литературы по теме исследований, запланированные опыты и исследования, сбор и анализ, включая статистическую обработку данных). Разработка программы исследований и выбор необходимых методов исследований выполнены при участии научного руководителя.

Автореферат отражает основное содержание диссертации, изложен последовательно и логично, с соблюдением требований, предъявляемых ВАК Минобрнауки РФ к авторефератам диссертационных работ.

Апробация работы. Основные результаты работы доложены на Всероссийской научной конференции с международным участием «Растениеводство и луговодство» (18-19 ноября 2020 г., РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, г. Москва), конференции «Система питания и интегрированная защита сельскохозяйственных культур на основе биологических препаратов» (30 января 2019 г., ЦАС-АГРОХИМ, г. Майкоп), конференции «Органическое сельское хозяйство и биологизация земледелия – состояние и перспективы» (21 ноября, 2019 г., организатор – ФГБНУ ВНИИБЗР, ВКК «Экспоград Юг», г. Краснодар), Международной научной конференции, посвященной 175-летию со дня рождения К.А. Тимирязева (4-6 декабря, 2018 г., РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, г. Москва), VIII Международной научно-практической конференции «Инновационные процессы в сельском хозяйстве» (20-22 апреля, 2016 г., РУДН, г. Москва). Результаты исследований были использованы для разработки регламентов применения пестицида Фармайод, ГР для включения его в Государственный каталог пестицидов и агрохимикатов, разрешенных для применения на территории Российской Федерации, 2022 г. (свидетельство о государственной регистрации № 3696 от 25 мая 2022 г., регистрант – ООО «НБЦ «Фармбиомед»)

Рекомендации по использованию результатов диссертационных исследований. Диссертант рекомендует использовать Фармайод для защиты от

вирусной реинфекции при выращивании семенного материала от суперэлиты и далее до низких репродукций, используемых на товарные посадки. Рекомендуется включение в технологический процесс проведение трехкратной обработки вегетирующих растений 0,05-0,1%-ным раствором Фармайода, ГР (100 г/л йода) в указанные сроки: фаза всходов высотой 10-15 см, далее двукратно с интервалом между обработками 10-14 дней.

Отдавая должное большой и важной научной работе, создающей положительное впечатление от представленной к защите диссертационной работы, имеются вопросы, пожелания и замечания.

1. После обработки препаратом Фармайод, ГР для тестирования методом ИФА отбирали листовые пробы. Возможно ли, что непосредственно сам йодсодержащий препарат оказывает влияние на процесс тестирования вируса методом ИФА и поэтому по мере аккумулялирующих обработок препаратом происходит кажущееся снижение величины показателя распространенности вирусной инфекции?

2. На полученных результатах могло сказаться, на наш взгляд, относительно небольшое количество растений в вариантах опыта – 15 растений в 3 повторностях, также небольшое количество в случайной форме отбираемых проб для ИФА, в мелкоделяночных опытах отбирали по 10 из 15 учетных растений в 3-х повторностях, в производственных исследованиях 25-30 растений. При исследованиях таких сложных процессов количество растений должно быть больше, чем это предусматривается обычно в методиках.

3. Две защитные обработки актарой и фитовермом в открытом грунте на мелкоделяночных опытах совершенно недостаточны для защиты от новых заражений вирусами в течение вегетации при высокой векторной активности переносчиков. Если изучаемые препараты защищали также и от новых заражений в течение вегетации, то получается, что их фактическая эффективность еще выше. При проведении подобных опытов в открытом грунте желателен контроль за векторной активностью переносчиков.

4. Как объяснить биоцидное действие препарата Фармайод, ГР на вирусные РНК и ДНК и отсутствие токсического действия на белки, аминокислоты самого растения?

5. Для мелкоделяночных опытов брали растения трех сортов на 92-95% моноинфицированные Y-, M- и S-вирусами картофеля. В контроле скрытая зараженность вирусами выявлялась и распространенность вирусов оставалась высокой, в вариантах опыта под воздействием препарата концентрация вирусов снижалась и распространенность становилась низкой. Но это не означает, что растения полностью выздоравливали, так как проверка их более чувствительным методом диагностики, например, ПЦР, могла подтвердить 92-95%-ю распространенность моноинфекций. Поэтому считаем нужным сделать уточнение, что под биологической эффективностью препаратов в работе

подразумевается снижение концентрации вирусов до низкого уровня, неопределяемого ИФА.

4. Положительный вирулицидный эффект применения препарата Фармайод, ГР был зафиксирован лишь на вегетирующей части растений картофеля. В то же время совершенно не понятно, почему не было проведено диагностическое изучение вирусных патогенов в клубнях после уборки урожая экспериментальных растений и, таким образом, не были изучены аспекты возможного практического применения препарата в семеноводстве картофеля.

5. Таблица 3 в диссертации не совсем удобна к просмотру.

6. В материалах и методах исследований представлено сравнительно мало информации по технологии выращивания картофеля сорта ВР-808 в производственных посадках Московской области.

7. Биологическая эффективность препаратов в полевых опытах определялась до и после обработки препаратами, на основе только визуальных учетов. Почему не проверяли варианты полевого опыта методом ИФА?

8. В диссертации отсутствуют данные об определении остаточного количества йода в урожае. Существует ли опасность для здоровья человека при обработке Фармайодом, ГР?

9. Полученные автором высокие положительные результаты применения препарата Фармайод, ГР указывают на необходимость его дальнейшего изучения. В том числе: механизмов его возможного вирулицидного воздействия, возможностей его применения для элиминации вирусных патогенов методом вычленения и культивирования апикальной меристемы, для защиты от вирусной реинфекции на всех этапах семеноводства, а также для использования обнаруженных свойств йода в селекции картофеля.

Высказанные замечания и пожелания не снижают научную и практическую ценность диссертационной работы и не влияют на общую положительную оценку.

Заключение о соответствии диссертации предъявляемым требованиям. Диссертация Колычихиной Марии Сергеевны на тему «Защита картофеля от вирусов в полевых условиях с использованием индукторов болезнеустойчивости» является завершенной научно-квалификационной работой, выполненной автором самостоятельно на высоком методическом уровне. Считаем, что диссертационная работа решает важную народно-хозяйственную задачу по защите от вирусной реинфекции семенного картофеля и соответствует требованиям пп. 9, 10, 11, 13, 14 «Положения о присуждении ученых степеней, утвержденных Постановлением Правительства РФ 24.09.2013 г. № 842, а ее автор Колычихина Мария Сергеевна заслуживает присуждения искомой степени кандидата сельскохозяйственных наук по специальности 4.1.3. Агрехимия, агропочвоведение, защита и карантин растений.

Диссертация Колычихиной Марии Сергеевны на тему «Защита картофеля от вирусов в полевых условиях с использованием индукторов


болезнеустойчивости», автореферат диссертации и отзыв ведущей организации были рассмотрены и одобрены на заседании отдела сельскохозяйственной биотехнологии Татарского научно-исследовательского института сельского хозяйства – обособленного структурного подразделения Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Казанский научный центр Российской академии наук».

Отзыв ведущей организации заслушан и утвержден на заседании Ученого совета ТатНИИСХ – обособленного структурного подразделения ФИЦ КазНЦ РАН (протокол №8 от 10 ноября 2024 г.)

Решение ведущей организации по диссертации Кольчихиной Марии Сергеевны на тему «Защита картофеля от вирусов в полевых условиях с использованием индукторов болезнеустойчивости», на соискание ученой степени кандидата сельскохозяйственных наук по специальности 4.1.3. Агрохимия, агропочвоведение, защита и карантин растений – положительное.

Руководитель
ТатНИИСХ ФИЦ КазНЦ РАН

 А.З. Хазиев

Замалиева Фания Файзрахмановна,  Ф.Ф. Замалиева
доктор сельскохозяйственных наук по специальности
06.01.07 – защита растений (сельскохозяйственные науки)
06.01.05 – селекция и семеноводство сельскохозяйственных растений,
доцент, главный научный сотрудник
отдела сельскохозяйственной биотехнологии.
ТатНИИСХ ФИЦ КазНЦ РАН,
г. Казань, ул. Оренбургский тракт, 48
тел. +7 (843) 277-81-17
E-mail: tatniva@mail.ru

