



УТВЕРЖДАЮ:

И.о. директора ФГБНУ «ВНИИФ»,
доктор биологических наук, профессор

М.Г. Барышев

« 3 » октября 2024 г.

ОТЗЫВ

ведущей организации

Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт фитопатологии» на диссертационную работу Васильевой Анны Андреевны **«Биологические свойства возбудителей черной ножки картофеля и меры защиты»**, представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 4.1.3. Агрохимия, агропочвоведение, защита и карантин растений

Актуальность работы. В последние десятилетия наблюдаются тенденции изменения видового состава и усиления вредоносности бактериальных комплексов на сельскохозяйственных культурах. При этом одними из наиболее опасных патогенов являются пектолитические бактерии в составе родов *Pectobacterium* и *Dickeya*, возбудители мягкой гнили и черной ножки картофеля. Вопросы выявления новых видов возбудителей болезней, изучения их биологии, поиска новых средств защиты, усовершенствования систем диагностики и мер борьбы стоят перед производителями продукции растениеводства крайне остро и являются критическими для разработки эффективных стратегий защиты. Картофель является важнейшей стратегической культурой в мире, при этом ежегодные потери урожая от возбудителей черной ножки и мягкой гнили клубней, в эпифитотийные года, оцениваются более чем в 50 %, поражая не только вегетирующие растения, но и хранящиеся клубни картофеля. В связи с этим, тема диссертационного исследования Васильевой Анны Андреевны, целью которого является биологическое обоснование комплекса мер защиты картофеля от черной ножки приобретает особую актуальность.

Научная новизна исследований заключается в том, что впервые в Российской Федерации проведена диагностика и генетическая характеристика возбудителя чёрной ножки картофеля *Pectobacterium punjabense*. Изучены биологические свойства возбудителя, что позволяет более глубоко понять механизмы его патогенности и адаптации и расширяет знания о видовом разнообразии бактериальных патогенов картофеля в регионе. Автором также разработана система диагностики *P. punjabense* на основе метода ПЦР «в реальном времени», открывающая новые возможности для точного и своевременного мониторинга. Экспериментально доказана высокая эффективность фунгицида Ридомил Голд Р против возбудителя чёрной ножки картофеля *Dickeya chrysanthemi* в условиях, моделирующих эпифитное распространение патогена. Значимый вклад автор внесла в исследование антибактериальной активности эфирных масел душицы, кориандра и гвоздики, а также экстрактов бадана и дуба против комплекса возбудителей чёрной ножки и мягкой гнили, что в условиях усиливающейся экологизации сельского хозяйства открывает перспективы для разработки средств защиты картофеля на основе веществ растительного происхождения.

Теоретическая значимость работы заключается в расширении фундаментальных знаний о видовом разнообразии возбудителей чёрной ножки картофеля циркулирующих на территории РФ, а также межвидовых различиях среди представителей рода *Pectobacterium*. Разработанный лабораторный метод диагностики повышает точность определения патогенов, что вносит существенный вклад в теорию молекулярной диагностики. Исследование возможности использования растительных экстрактов и эфирных масел для борьбы с патогенами способствует пониманию их механизмов антимикробного действия и потенциала применения в сельском хозяйстве.

Практическая значимость диссертации состоит в разработке применимых на практике решений в области защиты растений. Данные о комплексной устойчивости сортов картофеля к возбудителям чёрной ножки и мягкой гнили имеют практическое значение для селекционных программ. Применение разработанной системы диагностики ПЦР-РВ в фитосанитарной диагностике позволит осуществлять более эффективный мониторинг фитопатогенов, что критически важно для своевременного принятия мер по предотвращению эпифитотий. Исследования антибактериальной активности веществ растительного происхождения и бактериофагов предлагают новые подходы к защите картофеля, которые могут быть интегрированы в

существующие системы управления и контроля заболеваний в сельском хозяйстве. Эти меры, учитывающие экологические аспекты, способны существенно снизить ущерб от бактериальных инфекций и повысить качество и безопасность сельскохозяйственной продукции.

Общая оценка работы. Диссертационная работа Васильевой А.А. логично и четко структурирована, обоснована проблематика исследования, обозначена цель и задачи. Работа содержит подробный обзор актуальной научной литературы по теме исследования, детальное описание методов спланированных и последовательно проведенных опытов, анализ полученных результатов исследований, иллюстрированных 19 таблицами и 45 рисунками. На основании проведенных исследований, логично и обоснованно сформулированы основные выводы по работе, даны практические рекомендации производству. Диссертационная работа изложена на 202 страницах, состоит из введения, 3 глав, заключения, практических рекомендаций и списка литературы, включающего 338 литературных источников, в том числе 256 – на иностранных языках.

Во введении обоснована актуальность, четко сформулированы цель и задачи исследований, определены теоретическая и практическая значимость полученных результатов, сформулированы положения, выносимые на защиту.

Глава 1 представляет собой литературный обзор и посвящена распространению и вредоносности возбудителей черной ножки картофеля, принципам систематического положения патогенов. Автором описаны биологические особенности возбудителей, симптоматика заболевания. Представлены меры защиты картофеля от возбудителей черной ножки и мягкой гнили, современные методы диагностики патогенов.

В главе 2 дана общая характеристика материалов и методов, использованных в исследовании. Автором описаны этапы выделения чистых культур, оценка биологических и биохимических свойств патогенов, молекулярно-генетическая характеристика штаммов. Приведен большой блок методик, описывающих этапы скрининга фунгицидов и веществ растительного происхождения, описаны методы оценки распространения патогенов, посредством эпифитных популяций. Разъяснен порядок проведения оценки клубневой и стеблевой устойчивости сортов картофеля к возбудителям чёрной ножки и мягкой гнили.

В главе 3 приведены оригинальные данные, полученные автором в ходе проведения исследовательской работы. В частности, охарактеризованы

штаммы различных видов возбудителей черной ножки картофеля, принадлежащих к родам *Pectobacterium* и *Dickeya*, в том числе штаммы *Pectobacterium punjabense*, ранее не встречавшегося на территории РФ. Следует отметить глубокую характеристику патогенов как классическими биохимическими, микробиологическими и фитопатологическими, так и современными молекулярно-генетическими методами. Показана высокая специфичность и чувствительность оригинальной системы диагностики на основе метода ПЦР-РВ по отношению к штаммам-мишеням *P. punjabense*. Автором проведён анализ антибактериальной активности 25 эфирных масел и 7 растительных экстрактов и отмечена перспективность применения в защите картофеля от бактериозов веществ растительного происхождения, в частности, этанольные экстракты бадана толстолистного, дуба обыкновенного и эфирных масел коричника китайского, гвоздичного дерева и душицы обыкновенной. Показано антибактериальное действие и оценена биологическая эффективность медьсодержащих фунгицидов, в особенности по отношению к эпифитным популяциям патогенов. Продемонстрирован эффект от применения бактериофагов в защите клубней картофеля от возбудителей мягкой гнили. Проведена оценка восприимчивости 16 сортов картофеля к возбудителям черной ножки и мягкой гнили клубней, показана их дифференциация по клубневой и стеблевой устойчивости, выявлены несколько сортов, обладающих комплексной слабой восприимчивостью к патогенам.

В заключении приведены выводы, вытекающие из результатов исследований и представлены практические рекомендации.

Достоверность результатов проведенных исследований подтверждается согласованностью полученных в ходе использования современных общепринятых методов экспериментальных данных с теоретическими научными положениями в исследуемой области. Результаты экспериментов подкреплены статической обработкой полученных данных и достаточным количеством иллюстративного материала. Диссертация охватывает основные вопросы поставленной научной проблемы и представляет собой целостное научное исследование, что подтверждается согласованностью цели и задач с заключением и рекомендациями производству. Экспериментальные данные получены при непосредственном участии соискателя и корректно проанализированы.

Личный вклад автора. Работа является результатом оригинальных исследований автора. Васильевой А.А. лично проведён теоретический анализ

литературных источников по теме диссертационной работы, проведены лабораторные и вегетационные опыты, обобщение и анализ полученных результатов, сформулированы выводы и практические предложения.

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

Апробация работы. По материалам диссертационного исследования опубликовано 8 научных работ, 3 из которых в изданиях, включенных в перечень журналов, рекомендованных ВАК РФ и 1 – в издании, индексируемом в БД Scopus и Web of Science. Результаты работы были доложены и обсуждены в 2022 году в Москве на Международной научной конференции молодых учёных и специалистов, посвящённой 135-летию со дня рождения А. Н. Костякова и на Всероссийской конференции молодых исследователей «Аграрная наука-2022», а также в 2024 году в Санкт-Петербурге на V Всероссийском конгрессе по защите растений.

Рекомендации по использованию результатов диссертационных исследований. Результаты диссертационного исследования Васильевой А.А. и практические рекомендации производству могут быть применены специалистами по фитосанитарной экспертизе продукции растениеводства, предприятиями селекционно-семеноводческой направленности, картофелеводческими хозяйствами и иными научными, образовательными и производственными сельскохозяйственными учреждениями.

Вопросы и замечания по диссертационной работе. Наряду с неоспоримыми достоинствами рассматриваемой диссертационной работы, по ней имеются следующие вопросы и замечания.

1. Рисунок 4 (стр. 73) - не очень удачная подпись к рисунку. Вместо «Патогенное влияние возбудителя...» лучше назвать как: «Проверка патогенности возбудителя...».

2. Что использовали в качестве аутгруппы при построении филогенетического дерева на рисунке 9 (стр. 98)?

3. Почему при культивировании штаммов патогенов в биореакторе были выбраны параметры скорости 1250 об/мин и продолжительность инкубации в 30 часов (стр.60)?

4. Почему для детальной характеристики штаммов использовали секвенирование именно по гену *gyrB* (стр. 57)?

5. Не совсем понятна фраза «меченной 50-репортерным красителем (FAM-6-карбоксифлуоресцеин (FAM)) и 30-концевым гасящим красителем (RTQ1)» (стр. 64). Может быть, автор имела ввиду «меченной 5'-репортерным красителем (FAM-6-карбоксифлуоресцеин (FAM)) и 3'-концевым гасящим красителем (RTQ1)»?

6. Раздел 2.4 (стр. 64): почему автор не проводила скрининг других фунгицидов, используемых в выращивании картофеля, у которых известна антибактериальная активность (например, тирама или манкоцеба) хотя бы в качестве стандарта при сравнении с медьсодержащими фунгицидами?

7. Как известно, действующие вещества содержащие ионы меди имеют мультисайтовую активность. Каков механизм действия оксихлорида меди, использованного в опытах? Также автор, вероятно, допустила опечатку в названии этого д.в. на страницах 49 и 65, верное наименование «меди оксихлорид», а не «меди охсихлорид».

8. При какой температуре питательной среды в нее вносили растворы пестицидов (стр. 65)? Не происходило ли разложения действующих и вспомогательных веществ фунгицидов при такой температуре?

9. В дополнении к проведенным опытам с использованием веществ растительного происхождения в защите картофеля желательным было бы проверить фитотоксическое действие эфирных масел и экстрактов на растения картофеля.

10. В работе имеются грамматические и стилистические ошибки.

Высказанные вопросы и замечания ни в коей мере не снижают научную и практическую ценность выполненной Васильевой А.А. диссертационной работы и не влияют на общую положительную оценку.

Заключение о соответствии диссертации предъявляемым требованиям.


Диссертационная работа Васильевой Анны Андреевны на тему «Биологические свойства возбудителей черной ножки картофеля и меры защиты» является законченным научным трудом, выполненным автором самостоятельно на высоком методическом уровне. Считаем, что диссертационная работа решает важные научные и практические задачи по уточнению биологических свойств возбудителей черной ножки и мягкой гнили и усовершенствованию приёмов защиты картофеля от них, имеющие большое значение для развития сельского хозяйства и обеспечения продовольственной и биологической безопасности страны. По своей актуальности, методическому уровню, объёму исследований, значимости и

достоверности результатов и выводов, диссертационная работа полностью соответствует требованиям пп. 9, 10, 11, 13, 14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ № 842 от 24 сентября 2013 года, а ее автор – Васильева Анна Андреевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 4.1.3. Агрохимия, агропочвоведение, защита и карантин растений.

Диссертация Васильевой Анны Андреевны на тему «Биологические свойства возбудителей черной ножки картофеля и меры защиты», автореферат диссертации и отзыв ведущей организации были рассмотрены и одобрены на заседании Отдела болезней картофеля и овощных культур ФГБНУ «ВНИИФ». Отзыв ведущей организации заслушан и утвержден на заседании Ученого совета ФГБНУ «ВНИИФ», протокол № 10 от 31 октября 2024 года.

Решение ведущей организации по диссертации Васильевой Анны Андреевны «Биологические свойства возбудителей черной ножки картофеля и меры защиты» на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 4.1.3. Агрохимия, агропочвоведение, защита и карантин растений - положительное.

Заведующая отделом болезней картофеля и овощных культур ФГБНУ «ВНИИФ», ведущий научный сотрудник,
кандидат биологических наук (06.01.07 - защита растений, 2000)

Кузнецова Мария Алексеевна 

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт фитопатологии»

143050, Россия, Московская область, Одинцовский район, р.п. Большие Вяземы, ул. Институт, владение 5

Телефон: 8(495) 597-42-28, факс 8(498) 694-11-24

www.vniif.ru; e-mail: vniif@vniif.ru,

Подпись Кузнецовой М.А. заверяю:

Начальник отдела кадров ФГБНУ
«Всероссийский научно-исследовательский
Институт фитопатологии»

31.10.2024





Д.В. Кузина