

## **Отзыв официального оппонента**

кандидата биологических наук, старшего научного сотрудника лаборатории иммунитета растений к болезням ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений» Хютти Александра Валерьевича 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 темы**

Комплекс патогенов, приводящих к развитию черной ножки картофеля и сопутствующей мягкой гнили, является одной из наиболее серьезных угроз среди бактериальных заболеваний картофеля. Эти заболевания вызваны различными видами пектолитических грамотрицательных энтеробактерий из родов *Pectobacterium* и *Dickeya*, существенно влияющими на урожайность и качество получаемой продукции. Исследования показывают, что данные патогены ответственны за ежегодные потери урожая в 10–15%, а в годы эпифитотий этот показатель может возрасти до 50%.

В последние годы наблюдаются заметные изменения в видовом составе возбудителей черной ножки, а также рост их вредоносности. Эти факторы, в сочетании с высоким генетическим разнообразием и сложными таксономическими отношениями между данными группами патогенов, подчеркивают необходимость постоянного мониторинга их распространения. Таким образом, диссертационная работа Васильевой А.А. является особенно актуальной и раскрывает такие важные аспекты как географическое распространение возбудителей черной ножки картофеля, характеристику их биологических свойств, разработку методов диагностики бактериозов картофеля на основе актуальных данных о разнообразии возбудителей, а также исследования, направленные на поиск эффективных средств защиты картофеля от данных патогенов.

## **Новизна и достоверность результатов диссертации**

Результаты фитосанитарного мониторинга, проведенного в различных регионах Российской Федерации, показали преобладание видов *P. versatile*, *P. brasiliense* и *P. carotovorum* среди возбудителей черной ножки и мягкой гнили картофеля. Впервые на территории страны был идентифицирован возбудитель болезни – *P. punjabense*. Также была проведена характеристика его биологических свойств и разработана диагностическая тест-система на основе ПЦР в реальном времени. В рамках исследования была осуществлена комплексная оценка клубневой и стеблевой устойчивости 16 сортов картофеля к заражению возбудителями черной ножки и мягкой гнили. Показан защитный эффект от примененияfungицида Ридомил Голд Р по отношению к бактериальным патогенам картофеля как в условиях *in vitro*, так и относительно эпифитных популяций возбудителей. Исследована антибактериальная активность эфирных масел и растительных экстрактов и продемонстрирована их эффективность в профилактических и лечебных целях на фоне искусственной инфекции.

Диссертационная работа была проведена с применением современного оборудования и актуальных методик, что обеспечивает надежность полученных результатов. Экспериментальные данные подвергнуты статистической обработке, выполненной с применением дисперсионного анализа, что подтверждает достоверность их интерпретации.

## **Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации**

Научные положения, представленные в диссертации, обоснованы и охватывают ключевые аспекты исследования, включая: видовое разнообразие и штаммовую изменчивость возбудителей черной ножки и мягкой гнили картофеля; разработку системы диагностики патогенов *P. punjabense* с использованием метода ПЦР в реальном времени; оценку комплексной устойчивости сортов картофеля к возбудителям черной ножки и мягкой гнили;

а также изучение потенциала эфирных масел, растительных экстрактов и меди содержащих фунгицидов в защите картофеля от комплекса бактериальных патогенов.

Автором представлена исчерпывающая методология проведенных исследований, которая полностью отвечает поставленным задачам и соответствует современным научным стандартам. Информация, представляемая в различных разделах диссертации, изложена ясно и структурировано, обоснована соответствующими экспериментальными данными и полностью соответствует поставленным целям и задачам исследования. Выводы и рекомендации производству формулируются на базе продуманного и систематизированного исследования и являются логичным итогом научной работы.

### **Ценность результатов диссертационного исследования для науки и практики**

В ходе исследования были выявлены сорта картофеля, обладающие клубневой и стеблевой устойчивостью к возбудителям черной ножки и мягкой гнили. Разработан метод ПЦР-диагностики, который показал высокую чувствительность и видоспецифичность для штаммов *P. rupjabense*. Кроме того, проведены исследования, подтверждающие перспективность применения бактериофагов, веществ растительного происхождения и меди содержащих фунгицидов для защиты картофеля от патогенов из родов *Pectobacterium* и *Dickeya*. Предложенные практические рекомендации, представленные в диссертации, способствуют созданию эффективных стратегий как для диагностики, так и для селекции, направленных на борьбу с бактериальными заболеваниями картофеля.

### **Оценка содержания диссертации**

Диссертация представлена на 202 страницах и состоит из введения, трех глав, заключения, списка литературы. Содержит 19 таблиц и 45 рисунков.

Список литературы включает 338 источников, в том числе 256 иностранных. Цель и задачи исследований сформулированы четко в соответствии с темой диссертации. Выводы и практические рекомендации представляют собой логическое завершение работы и отражают основные результаты проведенных исследований. К неоспоримым преимуществам диссертационной работы можно отнести тщательное изучение соискателем как отечественной, так и зарубежной современной научной литературы по теме исследования, а также освоение методов современных экспериментальных исследований и подходов в статистической обработке данных.

### **Полнота опубликованности положений и результатов диссертации**

Результаты проведенных соискателем исследований достаточно полно отражены в публикациях и доложены на всероссийских и международных конференциях. По теме диссертации опубликовано 8 научных работ, в том числе 3 – в рецензируемых научных изданиях, включенных в перечень ВАК РФ, 1 – в журнале, индексируемом в базе данных Scopus и Web of Science и 1 – свидетельство о государственной регистрации базы данных.

### **Соответствие содержания автореферата основным положениям диссертации**

Автореферат изложен четко, последовательно и логично и полностью соответствует основному содержанию диссертации, включая описание материалов, методов, результатов и выводов по исследованию, а также практических рекомендаций.

### **Замечания по работе**

Наряду с несомненными достоинствами рассматриваемой диссертационной работы, по ней имеются следующие вопросы и замечания.

1. В диссертации автор относит патогенов родов *Pectobacterium* spp. и *Dickeya* spp. к возбудителям мягких гнилей, однако в зарубежной литературе превалирует название мокрая гниль – wet rot, как и в отечественных – Международный стандарт ГОСТ 33996-2016 и Национальный стандарт Р 59551-2021. Какое название более правильное и почему?

2. На стр. 43 автор приводит информацию, что по ГОСТ 33996-2016 для категорий оригинальных и элитных семян, для бактериальной инфекции установлен нулевой допуск, а для репродукционных партий допускается не более 1 % пораженности, и подчеркивает, что это соотносится с европейскими допусками, указывая, что в странах ЕС данные допуски основаны исключительно на визуальной оценке клубней и растений, в то время как ГОСТ 33996–2016 предполагает использование дополнительно методов ПЦР, ИФА и ИХА-диагностики. Стоит отметить, что в ГОСТ 33996-2016 в пункте 5.1.11 контроль бактериальной инфекции методом ПЦР необходимо проводить только для исходного и оригинального семенного картофеля (заканчивается категорией супер-суперэлиты (второе полевое поколение), а начиная с категории элитного семенного картофеля – только визуальный осмотр.

3. Также на стр. 43 автор ссылается на Национальный стандарт РФ ГОСТ Р 59551-2021 (дополнение к актуальному ГОСТ 33996-2016) по обязательному использованию методов ПЦР, ИФА и ИХА-диагностики. Однако в п. 5.2.7 стандарта указано, что тестирование клубневых проб от партий элитного и репродукционного семенного картофеля проводят по согласованию сторон на основе контрактов на поставку семенного картофеля, используя методы ИФА и/или ПЦР, допустимый/приемлемый уровень скрытого бактериального поражения устанавливается индивидуально и фиксируется в договорах (контрактах) на поставку семенного картофеля.

4. На стр. 58 написано «сэнгенровского секвенирования», стоит использовать «секвенирование по Сэнгеру».

5. На стр. 54 ГЛАВА II. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ исследование патогенности проводилось на сорте Удача, однако не указано происхождение клубней (категория, получены ли клубни с поля). Проверялись ли клубни на наличие скрытой комплексной инфекции до эксперимента? Этот же вопрос и для п. 2.7 стр. 87, где автор указывает, что при оценке устойчивости использовались клубни 16 сортов, полученных с поля.

6. В п. 3.2 стр. 97 ХАРАКТЕРИСТИКА БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ЧЕРНОЙ НОЖКИ КАРТОФЕЛЯ ИЗ РОДА *PECTOBACTERIUM* приводится информация, что род *Pectobacterium* насчитывает 17 видов, однако до этого на стр. 24 автор приводит 19 видов. Какое число верное?

7. Рис. 11 стр. 101 и рис. 29В стр. 133 приведены фотографии ломтиков. На некоторых из них область мацерации ткани смещена в сторону и заходит за край. Возможно ли корректно померить диаметр некроза ломтика? Почему ломтики неровные и неодинаковые по размеру? Почему автор не использует одинаковые круглые высечки мякоти клубня применяя для этой цели специализированный бур, как это делают, например для грибов рода *Alternaria* spp.?

8. В последнем п. 3.7 ОЦЕНКА УСТОЙЧИВОСТИ СОРТОВ КАРТОФЕЛЯ К ВОЗБУДИТЕЛЯМ ЧЕРНОЙ НОЖКИ И МЯГКОЙ ГНИЛИ на стр. 153 приводится информация, что сорт Удача устойчив к штамму F004 *P. atrosepticum* и восприимчив к другим, и позже на стр. 154 делает вывод о наибольшей устойчивости к мягкой гнили сорта Удача (клубневая оценка). На стр. 156 при оценке вегетирующих растений сорт Удача среднеустойчивый. В ЗАКЛЮЧЕНИИ на стр. 160 п. 6 устойчивость к мягкой гнили клубней отмечена на сорте Удача. На стр. 161 в ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ в качестве источника устойчивости рекомендуется использовать этот же сорт. Корректно ли использовать сорт Удача в качестве устойчивого только к некоторым штаммам в исследованиях патогенности?

Указанные вопросы и замечания не носят принципиального характера и ни в коей мере не умаляют достоинств диссертационной работы Васильевой А.А.

## Заключение

Диссертационное исследование Васильевой Анны Андреевны «Биологические свойства возбудителей черной ножки картофеля и меры защиты» является законченной научно-квалификационной работой, в которой предложено решение научной задачи, имеющей важное значение для науки и практики. По своей актуальности, новизне и научно-практической значимости работа соответствует требованиям п.п. 9-11, 13 и 14, предъявляемым к кандидатским диссертациям «Положения о присуждении ученых степеней», утверждённого Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 № 842, а её автор, Васильева Анна Андреевна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 4.1.3. Агрохимия, агропочвоведение, защита и карантин растений.

14 ноября 2024 г.

### Официальный оппонент:

кандидат биологических наук (специальность 06.01.11 – Защита растений, 2008 год), старший научный сотрудник лаборатории иммунитета растений к болезням ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений»

Александр Валерьевич Хютти

Подпись Хютти А.В. *заявляю*  
Секретарь директора ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский  
институт защиты растений»

М.М. Кошталева

ФГБНУ «ВИЗР». Адрес: 196600, Санкт-Петербург, г. Пушкин,  
ш. Подбелльского, д. 3.

Телефон: +7 (812) 470-51-10, e-mail: [info@vizr.spb.ru](mailto:info@vizr.spb.ru), <http://vizrspb.ru>.