

Отзыв

официального оппонента на диссертацию Яхник Яны Викторовны на тему «Влияние устойчивости сортов и фунгицидов на популяционную структуру возбудителя сетчатой пятнистости листьев ячменя в центральной агроклиматической зоне Краснодарского края», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 4.1.3. - Агрохимия, агропочвоведение, защита и карантин растений

В диссертации, представленной Яхник Яной Викторовной на соискание ученой степени кандидата биологических наук, затронута актуальная проблема популяционной изменчивости грибов под влиянием таких важных факторов окружающей среды, как устойчивость сорта и действие фунгицидов. Объектом исследований является возбудитель сетчатой пятнистости листьев *Pyrenophora teres* Drechsler., который доминирует в патогенном комплексе среди болезней ячменя по распространению и эпифитотийной опасности. В связи с тем, что Россия является одной из самых крупных стран-производителей ячменя, а Краснодарский край занимает лидирующую позицию по возделыванию ячменя озимого, где его площади увеличиваются с каждым годом, а средняя урожайность в условиях интенсивного растениеводства составляет 50-60 ц/га, данный выбор является вполне обоснованным.

Научная новизна диссертационной работы заключается, прежде всего, в том, что соискателем была впервые установлена способность *P. teres* накапливать на устойчивых сортах ячменя высоко агрессивные расы с широким спектром вирулентности. Такая же способность у патогена выявлена и под действием химических фунгицидов. Кроме того, одним из новых и перспективных направлений диссертации является разработка современных методов диагностики сетчатой пятнистости с использованием цифровых технологий и компьютерного зрения, что актуально в реалиях сегодняшнего дня.

Практической значимостью работы является выявление устойчивого к сетчатой пятнистости сорта озимого ячменя Тимофей, который можно использовать в селекции в качестве донора устойчивости и возделывать в зонах наибольшего распространения данного заболевания. Важным практическим выходом являются также рекомендации по применению в производстве сортосмешанных посевов ячменя, показавшие по результатам проведенных исследований свою эффективность в сдерживании развития болезни и сохранении урожая.

Апробацией работы является представление ее результатов на 14 научных конференциях, в том числе за рубежом (Казахстан). По теме диссертации опубликовано 19 работ, из которых 5 – в изданиях, рекомендованных ВАК, и 3 – в изданиях, индексируемых в базе данных WoS. Разработаны и опубликованы научно-практические рекомендации, получены свидетельства о государственной регистрации трёх баз данных, получено четыре акта внедрения результатов исследований в работу научных, образовательных и производственных организаций.

Диссертация имеет традиционную структуру и состоит из введения, основной части, заключения, практических рекомендаций, списка использованной литературы. Основная часть диссертации содержит три главы, в которых изложены обзор литературы, методы и результаты исследований. Объем диссертации составляет 204 страницы машинописного текста и содержит 12 таблиц, 23 рисунка и 6 приложений. Список литературы состоит из 265 источников, из них 136 (51,3%) принадлежат отечественным и 129 (48,7%) - зарубежным авторам; 187 (70,5%) источников датируются последним десятилетием. Содержание автореферата соответствует содержанию диссертации.

Главу, посвященную обзору литературы, автор логично начинает с описания распространения, вредоносности и биологии возбудителя сетчатой пятнистости листьев ячменя. Данные по его распространению и развитию на производственных посевах ячменя

в Краснодарском крае Яна Викторовна привела, опираясь на результаты обследований, проведенных ФГБУ «Россельхозцентр» в 2020-2023 гг.

Относительно сведений о диагностике заболевания, определения его экономически значимого уровня и возможности прогнозирования с помощью искусственного интеллекта, автор приводит 9 зарубежных статей, посвященных данной проблематике, и констатирует, что на сегодняшний день ИТ-решение этих вопросов все еще находится в зачаточном состоянии, а в России аналогичных работ нет.

Много внимания в обзорной части диссертации уделено проблемам контроля сетчатой пятнистости. В вопросе создания устойчивых сортов ячменя, автор указывает, что эволюция вирулентных патотипов *P. teres* является основным препятствием для успешного включения в новые сорта имеющихся в наличии генов устойчивости. Вместе с тем Яной Викторовной приведены примеры других путей решения данной проблемы, в том числе поиск новых источников устойчивости среди родственных и диких видов ячменя, предварительная оценка сортов и сортообразцов в лабораторных и полевых условиях, система севооборотов, пространственная изоляция, возделывание генетически смешанных сортов. Относительно использования биологических средств защиты растений против сетчатой пятнистости ячменя автор, приводит факты эффективного использования биопрепаратов и индукторов устойчивости, отмечая их достоинства и недостатки, и указывает, что данное направление является недостаточно изученным ввиду небольших объемов применения. В разделе, посвященном химическим средствам защиты ячменя от сетчатой пятнистости, достаточно хорошо раскрыта проблема возникновения резистентных форм гриба *P. teres* к фунгицидам основных химических классов. Наряду с этим, автор констатирует отсутствие информации об изменении структуры популяции *P. teres* по агрессивности и вирулентности как под влиянием биоагентов, так и после проведения фунгицидных обработок растений химическими препаратами, а также о влиянии на эти показатели отличающихся от рекомендуемых производителями норм их применения.

В целом представленный обзор литературы читается с большим интересом, свидетельствует о хорошем знании отечественных и зарубежных публикаций по данной проблеме, все заявленные пункты освещены достаточно полно.

Во второй главе диссертации описаны место, условия, объекты, материалы и методы исследований. Из нее следует, что работа выполнялась на базе ФГБНУ ФНЦБЗР в течение 3-х вегетационных сезонов с 2019 по 2022 г. и в лабораторных условиях с 2020 по 2023 гг. Исследования проводились как на искусственном инфекционном фоне, так и в условиях полевого стационара на естественном инфекционном фоне. Погодные условия вегетационных сезонов наглядно представлены в виде графиков. В исследованиях использовались 19 основных сортов и одна линия ячменя озимого различной селекции, высеваемых на юге России, даны их характеристики по устойчивости к грибным заболеваниям по сведениям Государственного реестра селекционных достижений и литературным данным. Кроме того, в опытах участвовали 5 химических препаратов на основе триазолов и стробилуринов, а также 3 биологических препарата на основе бактерий *Bacillus amyloliquefaciens*, *Pseudomonas aureofaciens* и гриба *Trichoderma harzianum*. Методы исследований достаточно подробно описаны и являются адекватными решению поставленных задач.

Результаты исследований изложены в третьей главе диссертации и состоят из 7 разделов. Первый из них посвящен автоматической семантической сегментации проявлений сетчатой пятнистости листьев ячменя. Для решения этой задачи Яной Викторовной проделана огромная и кропотливая работа по фотографированию и разметке симптомов заболевания на различных по устойчивости сортах ячменя озимого в разные фазы вегетации. Результатом проделанной работы стал эталонный набор данных, позволяющий обучить нейросетевую модель идентифицировать участки с разной степенью поражения сетчатой пятнистостью на листьях ячменя в контролируемых

условиях. Такой успешный результат является достойным украшением диссертации и послужит отправной точкой для дальнейших исследований в этом инновационном направлении.

Важным звеном диссертационной работы является проведенная соискателем иммунологическая оценка сортов ячменя озимого, высеваемых на юге России, которая показала низкую устойчивость к сетчатой пятнистости большинства из них. Тем не менее, удалось выделить один устойчивый сорт Тимофей и четыре умеренно устойчивых сорта (Версаль, Мастер, Паттерн, Сармат), которые можно рекомендовать для возделывания в зонах сильного распространения заболевания. Немаловажно, что в процессе этих исследований автором были скорректированы иммунологические характеристики некоторых сортов, данные оригинаторами.

Интересной и актуальной задачей, выполненной диссертантом, было изучение влияния генетически разнородных посевов на развитие сетчатой пятнистости листьев ячменя озимого. Данный способ все более широко применяется в странах с интенсивным земледелием для замедления темпов потери сортовой устойчивости. Яна Викторовна в течение 3-х лет проводила исследования различных пропорций двухкомпонентной смеси разных по устойчивости сортов ячменя, отобранных на основе фенотипической совместимости и направления использования. На приведенных в диссертации графиках хорошо видно, что при увеличении доли умеренно устойчивого сорта развитие болезни снижалось. Отсутствие корреляции между долей умеренно устойчивого сорта и массой 1000 зерен позволило соискателю сделать вывод о наличии толерантности. В результате была выбрана смесь восприимчивого сорта Романс и умеренно устойчивого сорта Иосиф в соотношении 1:4. Ее эффективность должна обеспечиваться за счет сдерживания болезни слабopоражаемым сортом и за счет сохранения урожайности восприимчивым, но более урожайным и толерантным сортом ячменя озимого. Данная смесь была рекомендована к использованию в Краснодарском крае.

Неотъемлемой частью исследований геимбиотрофных грибов является изучение их морфолого-культуральных признаков. Среди изолятов *P. teres*, выделенных с 4-х различных по устойчивости к патогену сортов ячменя озимого, Яна Викторовна обнаружила 7 морфотипов колоний и определила наиболее часто встречаемые. Определенная приуроченность морфотипов к сортам отсутствовала. Также не было выявлено значительной корреляции между морфотипами и развитием болезни, что позволило соискателю сделать вывод, что морфотипы не являются критериями агрессивности гриба.

Необходимым звеном популяционных исследований, ценным для селекции устойчивых сортов, является мониторинг расового состава и частоты генов вирулентности в популяциях патогенов. С этой целью Яна Викторовна в течение 4-х лет (2020-2023 гг) ежегодно исследовала популяцию *P. teres* из центральной агроклиматической зоны Краснодарского края по вирулентности на сортах-дифференциаторах ячменя. Было отмечено стабильно высокое количество вирулентных изолятов (39,1-54,2%), варьирующее относительно разных сортов, а также увеличение по годам генетического разнообразия по индексу Шеннона и дистанции в частоте генов вирулентности по индексу Нея. На основании этого сделаны выводы о высокой гетерогенности изучаемой популяции и наличия в ней интенсивных расообразовательных процессов, что представляет большой риск возникновения эпифитотий данного заболевания.

Углубляясь дальше в иммунологические исследования, Яна Викторовна путем серии опытов с разными по устойчивости сортами ячменя получила результаты, свидетельствующие о том, что с умеренно устойчивых сортов выделяются более агрессивные расы *P. teres*, что хорошо отражено на графиках. В дальнейшем при изучении влияния устойчивости сорта на агрессивность моноконидиальных изолятов *P. teres* была выявлена прямая пропорциональная зависимость между этими показателями. Важно отметить, что данное тестирование проводилось одновременно у всех изолятов для

исключения возможности влияния на результаты исследования биологических ритмов патогена. Как утверждает соискатель, устойчивый сорт является активатором потенциала стратегии выживания фитопатогена, обеспечивая естественный отбор наиболее агрессивных штаммов на растении-хозяине.

В том же ключе проведены и исследования с фунгицидами наиболее распространенных и широко применяемых на юге России химических классов триазолов и стробилуринов, а также с биологическими препаратами на основе *Bacillus amyloliquefaciens*, *Pseudomonas aureofaciens*, *Trichoderma harzianum*. Наряду с эффективным подавлением болезни, обработки растений химическими препаратами в то же время привели к увеличению вирулентности и числа рас в популяции *P. teres*. Напротив, биопрепараты на основе *Pseudomonas aureofaciens* и *Trichoderma harzianum* не оказывали такого влияния на популяцию, хотя были менее эффективны.

В заключительной части работы соискателем были проведены важные для разработки стратегии применения современных фунгицидов исследования по изучению чувствительности к ним региональной популяции *P. teres*. Опыты проводились на растениях и в чистой культуре. Для выявления чувствительности применялись разные нормы внесения препаратов с диапазоном 25-200% от разрешенной нормы. Из таблиц 10-12 видно, что частичная норма применения имела высокую эффективность в чистой культуре, но оказывала довольно слабый эффект на развитие болезни на растениях. Превышение разрешенной нормы имело высокую эффективность во всех случаях, а иногда приводило к 100%-ному уничтожению гриба. При использовании разрешенных к применению норм снижение чувствительности гриба при развитии на растениях отмечено к препаратам Амистар Трио и Квадрис, в составе которых содержатся стробилурины. То же самое наблюдалось и для биопрепаратов Трихоцин на основе *Trichoderma harzianum* и Псевдобактерин-2 на основе *Pseudomonas aureofaciens*. Итогом проведенных исследований стали рекомендации использовать при проведении защитных мероприятий против сетчатой пятнистости препараты на основе триазолов (Колосаль Про, Магнелло, Капелла) и *Bacillus amyloliquefaciens* (Оргамика), которые во всех случаях ингибировали развитие патогена.

Резюмируя все вышеизложенное, можно заключить, что в ходе проведения большого и глубокого объема исследований соискателем были полностью решены основные поставленные задачи. Диссертация в целом производит приятное впечатление, оформлена очень аккуратно, изложена грамотным научным языком, проиллюстрирована хорошего качества фотографиями, технические опечатки в тексте незначительны.

Вместе с тем есть ряд замечаний, о которых следует упомянуть.

Так, при описании биологии гриба автор отмечает наличие двух форм – сетчатой (*Pyrenophora teres* f. *teres* (Ptt)) и точечной (*Pyrenophora teres* f. *maculata* (Ptm)), но не указывает, есть ли какая-либо информация о частоте их встречаемости и степени вредоносности, и насколько важно обращать на эти формы внимание на практике.

Вопрос вызывает отсутствие информации об изолятах, используемых для создания искусственного инфекционного фона при иммунологической оценке сортов ячменя. Если это были изоляты из биоресурсной коллекции ФГБНУ ФНЦБЗР, то следовало привести их характеристики.

Есть несколько замечаний методического характера. Например, не указано, чья методика использовалась при проведении фотофиксации листьев ячменя и разметки данных – собственная или взятая из литературных источников. Также не указано, по какой методике определяли массу 1000 семян. Нет информации, в какую фазу проводили обработку фунгицидами в вегетационном опыте при изучении чувствительности к ним гриба *P. teres*, до инокуляции или после, и какие изоляты использовались для инокуляции.

В результативной части диссертации при изучении агрессивности изолятов *P. teres* на разных по устойчивости сортах автор использует в качестве критериев агрессивности скорость роста колоний и спорующую способность изолятов на питательной среде.

Оба показателя были выше у более агрессивных штаммов и в то же время между ними была выявлена слабая обратная корреляция, наблюдаемая как у изолятов, выделенных с умеренно устойчивого сорта Виват ($r=-0,2$), так и с восприимчивого сорта Рубеж ($r=-0,3$). На наш взгляд, в этом есть некоторое противоречие, взаимоисключающее эти показатели, и нужно ориентироваться на какой-то один из них, как фактор агрессивности. Так же было бы интересно узнать, наблюдалась ли связь между спорулирующей способностью изолятов и морфотипами их колоний?

Однако все указанные замечания не умаляют достоинства данной работы. Диссертация Яхник Яны Викторовны представляет собой законченный научно-квалифицированный труд. Полученные ею результаты внесут существенный вклад в теоретические основы и практику изучения иммунитета зерновых культур и послужат практическим пособием для построения стратегии защиты ячменя озимого от сетчатой пятнистости, как на основе соросмешанных посевов и сортовой мозаики, так и при выборе химических и биологических средств защиты. Отдельно хочется отметить разработанный диссертантом новый подход к реализации возможности применения IT-технологий для диагностики и определения степени развития сетчатой пятнистости, который, может быть приемлем и для других листовых болезней.

Диссертация полностью отвечает требованиям «Положения о порядке присуждения ученых степеней» ВАК, а ее автор, Яхник Яна Викторовна, безусловно, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 4.1.3. - Агрохимия, агропочвоведение, защита и карантин растений.

Старший научный сотрудник,
кандидат биологических наук

Подпись Пахолковой Е.В. заверяю:
Начальник отдела кадров
07.08.2025



Е.В.Пахолкова

Д.В. Кузина.

Контактные данные:

Пахолкова Елена Васильевна

кандидат биологических наук (06.01.11 - защита растений, 2003 г.)

Старший научный сотрудник отдела микологии и иммунитета. Федеральное государственное бюджетное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский институт фитопатологии (ФГБНУ ВНИИФ).

143050, Московская обл., Одинцовский р-н,

р.п. Большие Вяземы, ул. Институт, вл.5

Телефон: 8-968-461-35-06, e-mail: epaholkova@mail.ru