



Утверждаю
Заместитель директора ФГБУ ВНИИКР

К.П. Корнев

2024 г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Федеральное государственного бюджетного научного учреждения
«Всероссийский центр карантина растений» (ФГБУ «ВНИИКР»)

Диссертация «Изучение биологических и молекулярно-генетических особенностей фитопатогена *Xanthomonas euvesicatoria* pv. *allii* (Kadota et al., 2000)/«Analysis of biological properties and improvement of molecular genetic methods for diagnosing the phytopathogen *Xanthomonas euvesicatoria* pv. *allii*»/ выполнена в агробиотехнологическом департаменте ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» и в лаборатории бактериологии и анализа ГМО ФГБУ «ВНИИКР».

В 2016 году Кавиза Ньяша Джон окончил «Государственный университет Мидлендса» в Зимбабве с присуждением квалификации «Бакалавриат с отличием» по специальности «Садоводство».

В 2019 году Кавиза Ньяша Джон окончил Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский университет дружбы народов» (РУДН) с присуждением квалификации «Магистр» по специальности «Агрономия».

В 2019 году Кавиза Ньяша Джон поступил в аспирантуру в РУДН по специальности 4.1.3 Агрохимия, агропочвоведение, защита и карантин растений. Научные руководители: Заргар Мейсам, доктор сельскохозяйственных наук,

доцент (доцент Агробиотехнологического департамента, Аграрно-Технологического Института, РУДН);

В настоящее время не работает.

Документ о сдаче кандидатских экзаменов выдан в 203 году в РУДН.

Тема диссертационного исследования была утверждена на заседании Ученого совета Аграрно-технологического института Российского университета дружбы народов 21.10.2020 г., протокол № 2021-01-08/2.

По итогам обсуждения диссертации принято следующее заключение:

Личное участие автора в получении научных результатов

Соискатель непосредственно принимал участие в проведении научных исследований по теме диссертации. Осуществлял сбор и подготовку материала растений-хозяев возбудителя листового ожога лука *Xanthomonas euvesicatoria* pv. *allii* (Kadota et al.), выполнял работы с бактериальными коллекционными изолятами карантинного объекта, оценил их культурально-морфологические особенности на различных питательных средах. Провел оптимизацию и апробацию методики приготовления растительных экстрактов из листьев, семян и луковиц растений рода *Allium*. Собранный материал соискатель использовал для испытания ПЦР-тестов «в режиме реального времени» и гнездовой ПЦР по двум генетическим маркерам *prl* и *avr*, что в дальнейшем позволило установить достоинства и недостатки существующих методов выявления и идентификации карантинного объекта, оценить их эффективность и сделать предложения по наиболее приемлемому варианту лабораторной диагностики бактериоза. Кавиза Н.Д. провел постановку тестов на патогенность *X. euvesicatoria* pv. *allii* в тепличных условиях и в открытом грунте, полученные результаты позволили оценить пути переноса бактериальной инфекции с различными частями растений лука.

Соискателем выполнены необходимые расчёты и статистическая обработка экспериментальных данных, а также подготовка работы к защите диссертации.

Степень достоверности результатов проведённых исследований

Достоверность результатов диссертационных исследований соискателя подтверждается их соответствием общепринятым фитопатологическим методикам и международным диагностическим протоколам лабораторной диагностики бактериальных болезней растений.

Научная новизна работы

Научная новизна, проведенных соискателем исследований заключается в установлении зависимости между методом выделения ДНК и эффективностью ПЦР-анализа, что позволило установить наиболее оптимальный метод извлечения ДНК. Установлено влияние инокуляции бактериальной суспензии *X. euvesicatoria* pv. *allii* на снижение процента энергии прорастания и всхожести семян различных видов лука. Испытание олигонуклеотидов, содержащих два разных гасителя флуоресценции BHQ™ (Black Hole Quencher™) и MGB (Applied Biosystems TaqMan minor groove binder probes) показало, что более дешёвый и доступный в России гаситель BHQ может быть использован в качестве эффективной замены при проведении лабораторной диагностики недоступному MGB. Опыт в открытом грунте позволил установить, что наибольшая концентрация клеток бактериального агента концентрируется в верхней части луковицы в период вегетации и созревания зараженных растений. Оценка культурально-морфологических характеристик *X. euvesicatoria* pv. *allii* показала влияние температурного режима инкубации на рост бактерии на среде с экстрактом лука (ОЕМ).

Практическая значимость работы

Разработан и оптимизирован протокол ПЦР-диагностики возбудителя листового ожога лука, подходящий как для России, так и для развивающихся

стран. В ходе оценки применимости испытанных тестов установлены такие параметры как: аналитическая чувствительность, аналитическая специфичность, повторяемость и воспроизводимость. Определение оптимального метода извлечения бактериальной ДНК значительно повысила чувствительность тестов, что, следовательно, позволит лабораториям быстрее и точнее обнаруживать, и идентифицировать карантинный объект в бессимптомном материале. В ходе оценки пригодности тестов установлена альтернатива зонду MGB и рекомендован зонд BnQ. Исследование внесло дополнительный вклад в изучение биологии бактерии благодаря испытаниям питательных сред на основе луковых экстрактов.

Полнота изложения материала диссертации в работах, опубликованных соискателем:

Kavhiza, N.J., Zargar, M., Prikhodko, S.I. and Pakina, E.N., 2022. Comparison of three commercial DNA extraction kits for the enhancement of PCR assay sensitivity for *Xanthomonas euvesicatoria* pv. *allii*. Journal of Applied Microbiology, 132(2), pp.1221-1226.

2. Kavhiza, N.J., Zargar, M., Prikhodko, S.I., Pakina, E.N. and Muvingi, M., 2023, June. Germination response of 12 onion varieties to inoculation with *Xanthomonas euvesicatoria* pv. *allii*. In AIP Conference Proceedings (Vol. 2777, No. 1). AIP Publishing.

Кавиза Н.Д., Заргар М., Приходько С.И., Пакина Е.Н., Диаките С. Влияние *Xanthomonas euvesicatoria* pv. *allii* на проращивание 12 сортов лука репчатого // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Агрономия и животноводство. 2023. Т. 18. № 2. С. 174-185.

Соответствие содержания диссертации специальности, по которой она рекомендуется к защите

Представленная Кавиза Ньяшей Д. диссертационная работа является завершенной научно-квалификационной работой, в которой автором

представлен большой экспериментальный материал, полученный в полевых и лабораторных условиях. В ней представлено научное обоснование для применения в лабораторной практике ПЦР-диагностики возбудителя листового ожога лука в качестве профилактической меры предотвращения интродукции бактерии на новые территории, изучены биологические и культурально-морфологические особенности и свойства фитопатогенной карантинной бактерии *X. euvesicatoria* pv. *allii*.

Область диссертационного исследования включает разработку таких положений: совершенствование и оценка пригодности классической гнездовой ПЦР и ПЦР «в реальном времени» для диагностики *X. euvesicatoria* pv. *Allii*, подбор оптимального метода выделения нуклеиновых кислот из различных матриц, оценка влияния инокуляции суспензией *X. euvesicatoria* pv. *allii* на параметры прорастания семян лука репчатого. Указанная область исследований соответствует формуле специальности 4.1.3 Агрохимия, агропочвоведение, защита и карантин растений, а именно п. 3.1 «Диагностика вредных организмов, оценка вредоносности и фитосанитарных рисков», п. 3.2 «Биологические, экологические особенности и методы исследований вредных организмов.»

Текст диссертации был проверен на использование заимствованного материала без ссылки на авторов и источники заимствования. После исключения всех корректных совпадений иных заимствований не обнаружено.

Диссертация соискателя Кавиза Ньяши Джон «Изучение биологических и молекулярно-генетических особенностей фитопатогена *Xanthomonas euvesicatoria* pv. *allii* (Kadota et al., 2000) / «Analysis of biological properties and improvement of molecular genetic methods for diagnosing the phytopathogen *Xanthomonas euvesicatoria* pv. *allii*» рекомендуется к защите на соискание учёной степени кандидат биологических наук по специальности: 4.1.3. Агрохимия, агропочвоведение, защита и карантин растений.

Присутствовало на заседании 12 человек.

Результаты голосования: «за» – 11 чел., «против» – 0 чел., «воздержалось» – 1 чел., протокол № 1 от «02» февраля 2024 г.

Результаты голосования: «за» – 11 чел., «против» – 0 чел., «воздержалось»

– 1 чел., протокол № 1 от «02» февраля 2024 г.

Начальник Испытательного лабо

Начальник Испытательного лабораторного центра ФГБУ «ВНИИКС»