

ОТЗЫВ

Официального оппонента на диссертационную работу Мувинги Муфаро
«Development and optimization of methods for the detection and
identification of bacterioses that are significant to the export and import of
Russian grain products / Разработка и оптимизация методов выявления и
идентификации бактериозов, значимых для экспорта и импорта
Российской зернопродукции», представленную на соискание ученой
степени кандидата сельскохозяйственных наук по специальности 4.1.3.
Агрохимия, агропочвоведение, защита и карантин растений

Актуальность избранной темы. Зерновые культуры занимают лидирующее положение по посевным площадям в Российской Федерации, а зернопродукция является основой продовольственной безопасности и экспортного потенциала нашей страны. Фитопатогенные бактерии могут наносить прямой ущерб урожаю зерновых культур и вместе с семенами распространяться на новые территории. Ввиду отсутствия эффективных средств защиты растений от бактериальной инфекции, основным способом контроля бактериозов является лабораторная диагностика подкарантинной продукции. Для большинства бактериальных патогенов, поражающих зерновые культуры, не разработаны диагностические протоколы. В связи с этим, диссертация Мувинги Муфаро, посвященная разработке и оптимизации методов выявления и идентификации бактериальных возбудителей, значимых для импорта и экспорта зернопродукции Российской Федерацией, является весьма актуальной.

Научная новизна. Автором впервые с помощью молекулярных методов исследованы растительные образцы зерновых культур из нескольких регионов Российской Федерации на наличие бактериальной инфекции, в результате обнаружено заражение *Xanthomonas translucens* и *Pseudomonas syringae*. Путем проведения биоинформатического анализа 171 генома бактерий рода *Xanthomonas* найдены уникальные для *Xanthomonas translucens* нуклеотидные последовательности, к которым подобраны новые праймеры для ПЦР-идентификации этого вида. Усовершенствованный и унифицированный метод подготовки проб зерна позволяет сократить время анализа возбудителей до 6 часов. Микробиологическими и ПЦР-методами исследована бактериальная микробиота зерновых культур в фитоценозах Москвы, Ставропольского края и Республики Крым.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации, их достоверность и новизна. Полученные в ходе использования современных общепринятых методов экспериментальные данные согласуются с теоретическими научными положениями в исследуемой области, что подтверждает

достоверность результатов исследований. Выводы, сформулированные в диссертации, сделаны на основе результатов проведения на большом экспериментальном материале комплексно подобранных опытов. Экспериментальные данные получены при непосредственном участии соискателя и корректно проанализированы. Диссертация охватывает основные вопросы поставленной научной проблемы и представляет собой целостное научное исследование.

Значимость полученных результатов для науки и производства. Автором собрана и обобщена необходимая для разработки методов идентификации информация о наиболее значимых для импорта и экспорта зерна видах бактерий. Апробированы и оптимизированы процессы лабораторного анализа – подготовки проб, изоляции культур и ПЦР-тесты. Проведена оценка применимости некоторых ПЦР-тестов. Результаты проведенных исследований использованы при разработке методических рекомендаций ФГБУ «ВНИИКР» по выявлению и идентификации возбудителей бактериозов зерновых культур, введенных в действие и рекомендованных к применению испытательными лабораториями на территории РФ.

Полнота опубликованности положений и результатов диссертации. Результаты исследований, проведенных в рамках настоящей диссертационной работы, апробированы автором на 3-х международных научных конференциях; они достаточно полно представлены в 9 публикациях, в том числе 2 статьи в международных базах цитирования Scopus/WoS и 1 статья в рецензируемом издании, рекомендованном ВАК РФ.

Структура и объем диссертационной работы. Диссертация Мувинги Муфаро состоит из введения, трёх глав, заключения, списка сокращений и условных обозначений, глоссария, списка литературы и приложений. Работа изложена на 193 страницах, содержит 31 таблицу, 54 рисунка и 142 источника литературы.

Оценка содержания диссертации.

Во введении обоснована актуальность, сформулированы цель и задачи исследования, определены научная новизна, теоретическая и практическая значимость полученных результатов, сформулированы основные положения, выносимые на защиту.

Глава 1 представляет собой обзор литературы и содержит сведения о фитосанитарном статусе, систематическом положении, географическом распространении, морфологии, биологических особенностях и методах идентификации изучаемых фитопатогенов; представлены сведения о поражаемых культурах и их возделывании в регионах РФ.

Глава 2 содержит характеристику материалов и методов, использованных в исследовании. Автором подробно перечислены штаммы

бактерий и растительные образцы, с которыми проведены исследования. Следует отметить, что работа проведена на большом объеме материала (181 растительный образец из трех регионов РФ, 434 бактериальных изолята из этих растений, коллекционные штаммы исследуемых бактерий, 171 геномная сборка бактерий рода *Xanthomonas*). Подробно и последовательно изложены методы сбора образцов растений, их подготовки к исследованию, ход опыта по оптимизации подготовки проб семян для анализа, культурально-морфологические и молекулярно-генетические методы. Особую ценность представляет подробное описание метода разработки новых ПЦР-тестов для идентификации *Xanthomonas translucens*.

В главе 3 рассмотрены результаты сбора растительных образцов зерновых культур в трех регионах РФ – г. Москва (Полевая опытная станция РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева, 3 района Р. Крым и 8 районов Ставропольского края). Представлены результаты разработки новых ПЦР-тестов для идентификации *Xanthomonas translucens*, оценки их специфичности с коллекционными штаммами и перспективность применения в лабораторной диагностике. Проведено сравнение используемых для изоляции *Rathayibacter tritici* сред и с использованием статистических методов анализа определена наилучшая из них. Автором представлены результаты оптимизации подготовки проб семян для их анализа на наличие *Xanthomonas translucens*, *Rathayibacter tritici*, *Pseudomonas fuscovaginae* и *Pseudomonas syringae*. Показана применимость метода для последующей ПЦР-идентификации всех вышеперечисленных бактерий. В результате анализа всех собранных в регионах РФ образцов растений зерновых культур (181 шт.), показано отсутствие *Rathayibacter tritici* и *Pseudomonas fuscovaginae*, наличие *Xanthomonas translucens* в образце озимой пшеницы с. Аскет, наличие *Pseudomonas syringae* в 41% всех проанализированных образцов. Фактически, разработанные и оптимизированные диагностические методы успешно апробированы на реальном материале. Проведена идентификация компонентов бактериальной микробиоты собранных растительных образцов и дана характеристика выделенных бактерий. Выполнен анализ частоты встречаемости видов и родов бактерий. Особую ценность представляет то, что работа проведена с живыми штаммами бактерий, которые выделены при личном участии автора и могут быть использованы для будущих исследований. Представлены фотографии колоний некоторых штаммов, в том числе – объектов исследования.

Автореферат полностью отражает содержание диссертации и ее основные результаты, заключение, включает список опубликованных научных работ в количестве 9 шт.

Вопросы и замечания к диссертационной работе. Наряду с достоинствами рассматриваемой диссертации, к ней имеются следующие вопросы и замечания:

- большинство возбудителей бактериозов, над разработкой методики определения, которых работал автор, являются карантинными объектами или имеют фитосанитарное значение только для стран-импортеров, будут ли полученные методические рекомендации являться основанием для решения спорных вопросов с такими странами, если у них должны существовать свои утвержденные методы оценок?

- согласно официальным источникам (aemscx.ru), республика Крым не является поставщиком зерновой продукции, предназначенной для экспорта, в связи с этим, является ли выбор данного региона для сбора образцов оптимальным?

- как отбирались образцы растений и готовились образцы для ПЦР-тестирования ДНК указанные в рисунках 3.13, 3.18, 3.21 как «54. тритикале, пшеница, ячмень»? Какие культуры входили в злаково-бобовую смесь?

- при перечислении культур и их сортов следует сначала указывать род, потом вид и форму: «пшеница мягкая яровая»;

- у большинства фотографий, кроме размещенных в обзоре литературы, не указаны авторы;

- в автореферате встречаются опечатки и неточности, связанные с переводом (к примеру: стр.22 автореферата, инициалы Н.В. Цицина; стр. 23 не согласовано предложение);

- список литературы оформлен не по ГОСТ Р 7.0.100-2018, имеет разную стилистику;

- ссылки на литературные источники в главе 1 указаны разными способами, как с указанием порядкового номера источника в разделе 1.1., так и с указанием автора и года издания в разделе 1.2.

- текст раздела 1.2. написан случайным образом, не отображает климатические условия регионов РФ, выбранных для обследования, и не описывает должным образом зерновые культуры, образцы которых были отобраны для исследований, содержит устаревшую информацию по хозяйственному значению зерновых культур в РФ;

- в списке литературных источников отсутствуют авторы: Carlson and Vidaver, 1982, указанные в разделе 1.1, White, 1987; Khomyakov et al., 2001; Kruchkov and Rakovskaya, 1990 указанные в разделе 1.2.

Заключение. Диссертация Мувинги Муфаро «Development and optimization of methods for the detection and identification of bacterioses that are significant to the export and import of Russian grain products / Разработка и оптимизация методов выявления и идентификации бактериозов, значимых для экспорта и импорта Российской зернопродукции» является

оригинальным, законченным научным трудом, в котором предложено решение научных и практических задач разработки и оптимизации методов выявления и идентификации бактериальных возбудителей, значимых для осуществления Российской Федерацией импорта и экспорта зерна. Полученные автором результаты имеют значение для развития отрасли сельского хозяйства и найдут широкое применение в области обеспечения фитосанитарной безопасности. По актуальности, объему, содержанию, научной новизне и практической значимости работа соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата сельскохозяйственных наук, согласно п. 2.2 раздела II Положения о присуждении ученых степеней в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы», утвержденного Ученым советом РУДН, протокол № УС-1 от 22.01.2024 г., а ее автор, Мувинги Муфаро, заслуживает присуждения ученой степени кандидата сельскохозяйственных наук по специальности 4.1.3. Агрохимия, агропочвоведение, защита и карантин растений.

Официальный оппонент:

Щуклина Ольга Александровна

Кандидат сельскохозяйственных наук (06.01.09 – Растениеводство), старший научный сотрудник – и.о. заведующего отделом отделённой гибридизации ФГБУН Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина Российской академии наук

Подпись Щуклиной О.А. удостоверяю:



Ученый секретарь



Мишанова Е.В.

« 27 » августа 2024 г.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина Российской академии наук

Адрес: 127276 г. Москва, Ботаническая ул., дом 4

Телефон: 8-499-977-91-45

E-mail: INFO@GBSAD.RU

Официальный сайт: <https://www.gbsad.ru/>