

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора биологических наук Перевертина Кирилла Александровича на диссертационную работу Махмуди Нилуфар «Сравнительный морфометрический анализ нематод *Ditylenchus destructor* Thorne, 1945 популяций иранского и российского происхождения и разработка новых тест-систем для их молекулярно-генетической идентификации», представленную на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 4.1.3. Агрохимия, агропочвоведение, защита и карантин растений.

Актуальность темы. Тема представленной на защиту диссертационной работы является крайне актуальной в связи с прогрессирующим в последние годы ростом потерь урожайной продукции картофеля в ряде стран (в том числе, и особенно, в России) от клубневой нематоды *Ditylenchus destructor* Thorne, 1945. К сожалению, причиной этого «прогресса» являются не объективные биогенные причины, подобные мутациям вирусов с актуализацией особо вирулентных форм, а в значительной степени субъективные, антропогенные, связанные с нерачительным подходом к природопользованию. Об этом совершенно справедливо упоминает Соискатель даже в первой строке резюме диссертации: «Основным источником появления дитиленхов на полях является заражённый посадочный материал». Действительно, наносивший значительный ущерб картофелеводству СССР ещё в 50-е годы прошлого века дитиленхоз, был сведён практически до хозяйственно-неощутимого уровня уже к началу - середине 80-х, благодаря не в последнюю очередь, включения в ГОСТы «Картофель семенной» отдельной строкой недопустимость заражённости посадочного материала, в том числе, именно картофельным дитиленхозом. Возвращение проблемы связано с низким уровнем контроля качества семенного картофеля, включая диагностику дитиленхоза. Представленная к защите работа направлена на решение проблемы диагностики дитиленхоза.

Степень разработанности темы основывается на литературных источниках по изучению морфологических особенностей нематод различной видовой принадлежности, а также доступных методов молекулярно-генетического анализа отдельных популяций.

Целью диссертационной работы сформулированной соискателем является «исследование географически удалённых популяций *D. destructor*, разработка нового диагностического метода видоспецифической ПЦР, а также апробация и усовершенствование известных

методов диагностики». Решённые автором задачи позволяют с полным основанием утверждать, что поставленная цель диссертационной работы достигнута.

Научная новизна проведенных исследований

Указанные соискателем три пункта:

- впервые проведен сравнительный морфометрический и генетический анализ популяций *D. destructor* российского и иранского происхождения;
- разработаны два набора пар новых видоспецифических праймеров для молекулярной диагностики популяций *D. destructor* из России и Ирана;
- доказана высокая чувствительность и селективность новых праймеров dsn.1 F/R и dsn.2F/R для идентификации *D. Destructor*;

несомненно отражают научную новизну исследования.

Теоретическая и практическая значимость результатов исследований

Исследования соискателя имеют высокую ценность, как в фундаментальном, так и в прикладном аспектах. Очень интересным представляется доказанный на основе генетического анализа вывод о близости популяций дитиленха агробиоценозов Ирана и Китая. Разработанные автором новые праймеры будут востребованы как подразделениями службы карантина растений, так и специалистами по защите растений для диагностики дитиленха в хозяйствах, овощехранилищах и, главное, при оценке качества посадочного материала.

Степень достоверности и обоснованности результатов исследований

Объём выборки – 50 особей нематод из каждой популяции представляется достаточным. Все процедуры выполнены автором по стандарту ВНИИКР или другим стандартам с использованием набора реагентов [EPPO protocol, 2017]

Использованные методы статистического анализа с формированием филогенетических дендрограмм показывают высокую степень достоверности результатов исследований. В порядке апробации результаты были доложены на 6-и научных конференциях, в том числе на таком авторитетном форуме, как XIII Международный нематологический симпозиум.

По результатам диссертационного исследования автором опубликовано 8 статей, из них 2 в журналах входящих в наукометрическую базу Scopus, 3 в рецензируемых научных журналах, входящих в перечень ВАК.

Соответствие диссертации и автореферата. Диссертационная работа

представлена на 108 страницах компьютерного текста, содержит 24 рисунка и 20 таблиц. Сопровождена списком цитируемой литературы содержащем 124 источника. Автореферат представленный на 23 страницах (включает 13 рисунков и 13 таблиц) полностью отражает содержание диссертации

Анализ содержания диссертации

Во введении автором показана актуальность темы и научная новизна исследования, сформулирована цель исследования и необходимые для её достижения задачи, а также положения, выносимые на защиту. В этом же разделе обозначена практическая и теоретическая значимость работы.

В первой главе «Обзор литературы» приводится аналитический обзор публикаций посвящённых объекту исследований – клубневой нематод *Ditylenchus destructor*; вредоносность растения-хозяева, приводятся ее морфологические характеристики. Достаточно полно представлена информация о существующих методах молекулярной идентификации для сравнительного анализа различных популяций нематод.

Во второй главе «Материалы и методы» представлены этапы проведения молекулярно-генетической диагностики, описаны процессы

выделения ДНК, секвенирования и филогенетического анализа, дизайна праймеров, проведение ПЦР с видоспецифичными праймерами, гель-электрофорез и очистки продуктов ПЦР. Методологическая база исследований соответствует современному уровню.

В третьей главе «Результаты и обсуждение» автором проведено морфологическое сравнение *D. destructor* из клубней картофеля трех популяций из Российской Федерации (Нижегородская, Брянская и Московская области) и отобранных образцов из 13 населенных пунктов 4 регионов Ирана (провинции Хамадан, Исфахан, Зенджан и Ардебиль). Очень ценным в работе является не только анализ собственных данных, но и сравнение их с опубликованными измерениями ведущих мировых специалистов по дитиленам (Торн,

1945; Хупер, 1973; Чижов и др., 2010). Значительным достижением автора является демонстрация специфичности и надёжности праймеров *in vitro* с *D. destructor*, *D. dipsaci* и *D. gigas*. Учитывая специфичность, чувствительность и надёжность праймеров для *D. destructor*, диагностические праймеры могут обеспечить быстрый и надёжный метод для идентификации особей *D. destructor*, выделенных из разных растений-хозяев в разных агробиоценозах.

В **Заключении** дан анализ выполненных исследований с краткой формулировкой полученных результатов. Сделанные автором выводы полностью соответствуют поставленной цели и задачам, отражают суть проведенных исследований. Очень ценным представляется второй пункт: NCBI GenBank дополнен последовательностями (коды: MN122076, MN307126, MN307128, MN493767, MN658597, MN658599, MN658637, MN658638), что является вкладом в расширение знаний мирового научного сообщества о генетическом разнообразии видов *D. destructor*.

Диссертация достаточно грамотно оформлена, содержит значительный табличный материал проиллюстрирована графиками и фотографиями.

При изучении материалов представленной диссертационной работы возникли следующие непринципиальные замечания, которые можно отнести к разряду мелочей:

1. Русское название «Стеблевая нематода картофеля» используется всё реже. Более корректным является «Клубневая нематода картофеля»

2. Вторая строка Резюме: «Использование очищенного от фитопаразитов семенного картофеля снижает *инфекционную* нагрузку на поля». Пожалуй, лучше было бы *инвазионную*.

3. Там же: «...молекулярных тест-систем для идентификации вредоносных видов *стеблевых и гнилостных нематод*». Пожалуй, лучше было бы «*стеблевых нематод вызывающих корневые гнили*».

Возникшие в процессе изучения диссертации замечания ни в коей мере не снижают научную и практическую значимость полученных результатов и не влияют на общую положительную оценку работы.

Заключение

Считаю, что представленное диссертационное исследование является цельной, законченной научной работой, выполненной на высоком методическом уровне. По актуальности исследований, теоретической и практической значимости работы, объему экспериментальных данных диссертация Махмуди Нилуфар «Сравнительный морфометрический анализ нематод *Ditylenchus destructor* Thorne, 1945 популяций иранского и российского происхождения и разработка новых тест-систем для их молекулярно-генетической идентификации», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности «4.1.3 Агрономия, агропочвоведение, защита и карантин растений» является вполне законченным исследованием с решенными задачами.

Диссертация полностью соответствует требованиям п.2.2 раздела II Положения о присуждении ученых степеней в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Российский университет дружбы народов», утвержденного Ученым советом РУДН протокол № 12 от 23.09.2019г., а её автор Махмуди Нилуфар заслуживает присуждения ей учёной степени кандидата биологических наук по специальности 4.1.3 Агрoхимия, агропочвоведение, защита и карантин растений.

Официальный оппонент

Доктор биологических наук по специальностям:

03-00-20 – Паразитология;

06.01.11 – защита растений

Ведущий научный сотрудник лаборатории

Фитопаразитологии ФГБУН Институт проблем

Экологии и эволюции им. А.Н. Северцева РАН



Перевертин К.А.

Россия, Москва, Ленинский пр.,33

Тел. (903)687 73 34; e-mail: perevertink@mail.ru



Серевертин К.А.
Зав. канц. ИПЭЭ РАН
" 17 " " 2022 г.