

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу Башкировой Иды Геннадьевны на тему: «Изучение фитоплазм из групп Apple proliferation и Stolbur с помощью молекулярно-генетических методов диагностики», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.11. Микробиология

Диссертационная работа И.Г. Башкировой «Изучение фитоплазм из групп Apple proliferation и Stolbur с помощью молекулярно-генетических методов диагностики», представленная на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.11. Микробиология, посвящена актуальной для микробиологии проблеме – усовершенствованию методов диагностики фитоплазм групп Apple proliferation и Stolbur и выявлению их распространённости в стране. Актуальность избранной автором темы исследования не вызывает сомнений, так как потенциальная вредоносность этих патогенов велика, а масштабы распространения болезней плодовых и ягодных культур, вызываемых ими сложно оценить ввиду несовершенства существующих методов диагностики.

Диагностика фитоплазм всегда представляла сложную задачу. В настоящее время надежды в основном возлагаются на использование молекулярно-генетических методов. Однако требуют уточнения и оптимизации такие этапы диагностики как выделение ДНК фитоплазм, сравнение тест-систем по их чувствительности и специфичности. Все эти задачи имеют большое значение для получения достоверной информации о зараженности растений и использования этих методов для мониторинга фитоплазменных болезней плодовых и ягодных растений.

К сожалению степень разработанности темы исследования автором охарактеризована крайне скудно, без ссылок на проведенные ранее работы в этом направлении в России и в мире.

В целом можно заключить, что избранная автором тема является актуальным направлением исследования, способствующим более точному выявлению фитоплазм групп Apple proliferation и Stolbur и распространению фитоплазменных болезней плодовых и ягодных культур в некоторых регионах Российской Федерации. Это представляет высокую значимость для микробиологии и практического сельского хозяйства.

Основные результаты работы и их новизна. Научная новизна результатов диссертационного исследования, вполне очевидна:

- впервые выявлена степень распространения фитоплазм групп Apple proliferation и Stolbur на территории Российской Федерации и в некоторых зарубежных странах;
- оптимизирован процесс выделения ДНК фитоплазм, проведено сравнительное изучение для этого наборов реактивов отечественного и зарубежного производства;
- для проведения ПЦР подобраны оптимальные реакционные смеси, апробированы тест-системы отечественного производства для видовой идентификации фитоплазм;
- получены оригинальные нуклеотидные последовательности ряда фитоплазм, которые депонированы в Международную базу данных NCBI.

Выводы и практические рекомендации подтверждаются полученными и приведенными в таблицах и рисунках данными, вытекают из результатов исследования и подтверждают положения, выносимые на защиту. Достоверность полученных результатов, отраженных в диссертационном исследовании Башкировой И. Г. не вызывает сомнений.

Степень достоверности и обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций. Методы, выбранные диссертантом для решения поставленных задач, следует признать вполне подходящими для выполнения диссертационного исследования. При анализе результатов использованы адекватные критерии и статистические программы, что обеспечивает достоверность и обоснованность выводов. Используемые автором методы исследования адекватны поставленной цели и задачам, позволяют сформулировать научно обоснованные выводы и практические рекомендации. Достоверность полученных результатов подтверждается корректной статистической обработкой.

Полученные автором научные результаты, выводы и практические рекомендации научно обоснованы, статистически достоверны, аргументированы, отражают суть исследования, удовлетворяют современным требованиям и соответствуют названию диссертации, цели, поставленным задачам и паспорту научной специальности 1.5.11. Микробиология. Основные результаты работы доложены и апробированы на ведущих Российских и международных научных конференциях, опубликованы в журналах из международной базы цитирования Scopus и в журналах, рекомендованных ВАК РФ или РУДН.

Научная и практическая значимость полученных результатов и их внедрение в практику. Автором получены новые данные о методах экстракции ДНК фитоплазм групп Apple proliferation и Stolbur, выявлены оптимальные реакционные смеси для ПЦР диагностики видов фитоплазм.

Апробированы отечественные тест-системы для видовой идентификации фитоплазм, разработаны 3 методические рекомендации для использования службой карантина растений и два обучающих видеоролика. Результаты диссертационного исследования являются значимыми для микробиологии и карантина растений.

Полнота изложения основных результатов диссертационной работы. Результаты работы опубликованы в 11 работах. Из них 3 статьи в изданиях индексируемых международной базой Scopus, 2 статьи – в рецензируемых изданиях, входящих в перечень ВАК РФ или РУДН, а также методические указания и методические рекомендации. Результаты исследования докладывались на национальных и зарубежных научных конференциях.

Оценка содержания работы. Диссертация Башкировой И.Г. является законченным научно-квалификационным трудом, написана по общепринятому типу, состоит из введения, обзора литературы, описания методов исследования, главы с результатами экспериментальной работы, заключения, выводов, списка цитируемой литературы и приложения. Работа изложена на 152 страницах, иллюстрирована 20 таблицами и 39 рисунками, содержит 5 приложений. Список цитируемой литературы содержит 171 источник, в том числе 128 зарубежных.

Во введении обоснована актуальность проблемы фитоплазмозов культурных растений, цель и задачи диссертационной работы, научная новизна, теоретическая и практическая значимость, приводятся положения, выносимые на защиту.

В обзоре литературы автор дает анализ современных представлений и распространенности, симптомах, патогенезе фитоплазмозов растений. Описана современная систематика фитоплазм. Дана характеристика существующим методам диагностики. В обзоре используются публикации последнего десятилетия. В целом можно заключить, что автор провел хороший обзор зарубежной и отечественной литературы, имеющей непосредственное отношение к цели и задачам исследования, что свидетельствует о хорошем понимании предмета.

В главе 2 «Материалы и методы» и приводится описание сбора образцов растительного материала, пробоподготовки, описаны различные методы выделения ДНК. Соискатель дает характеристику используемых наборов реагентов и тест-систем. Описывает параметры постановки ПЦР. Описания материалов и методов дано достаточно подробно для воспроизводимости и понимания хода работы. Использованные в работе лабораторные микробиологические методы современны и адекватны поставленным задачам.

Биоинформатический анализ и статистическая обработка полученных данных была проведена общепринятыми методами.

Глава 3 посвящена результатам и их обсуждению. В ней диссертант описывает результаты исследования образцов растительного материала, полученного из различных регионов России и из зарубежных стран. Следует отметить значительный объем работы, всего было проанализировано 2939 образцов. Это безусловно повышает достоверность полученных результатов. Автор детально описывает анализируемый материал отмечая не только регионы происхождения, но и систематическое положение растений. В ходе исследований фитоплазмы были выявлены в 1,6% образцов. В 2020 году впервые были выявлены карантинные организмы *Candidatus Phytoplasma mali* и *Candidatus Phytoplasma pyri*. Были выявлены также фитоплазмы из группы Stolbur. В Тульской области фитоплазмы выявлены в образцах сорных растений.

Автор провел серию экспериментов по усовершенствованию процесса выделения ДНК фитоплазм из растений. Сравнивались различные наборы реагентов. Проведена серия экспериментов по оптимизации постановки ПЦР классической и в реальном времени с использованием различных наборов реагентов. Были определены лучшие миксы для классической ПЦР и ПЦР в реальном времени. Автор тестировал универсальные олигонуклеотиды для выявления фитоплазм методом ПЦР в реальном времени и методом вложенной ПЦР. Показана чувствительность метода. Большое теоретическое и практическое значение имеют результаты экспериментов по видовой идентификации фитоплазм. Приведены результаты апробации наборов различных фирм. Дана характеристика их специфичности и аналитической чувствительности. Диссертант анализировал сиквенсы участков 16S-23S рРНК 46 изолятов фитоплазм. Была выявлена видовая принадлежность изолятов, построено филогенетическое дерево, а три нуклеотидные последовательности депонированы в международную базу данных NCBI.

В заключении обсуждаются полученные результаты исследования. Обобщены результаты всех экспериментов, проведено их сравнение с результатами других исследователей. Выводы и практические рекомендации являются логическим завершением работы, выполненной на современном научно-методическом уровне, соответствуют поставленным цели и задачам и в полной мере отражают полученные результаты.

Приложения содержат фотографии симптомов фитоплазмозов, сведения о распространении фитоплазм в различных странах, состав буферных смесей, результаты ПЦР в реальном времени, методические рекомендации и методические указания.

Несмотря на общую положительную оценку диссертации к работе имеется ряд замечаний:

1. Название диссертации считаю неудачным. В нем указывается на процесс («изучение») и метод «молекулярно-генетических методов») а не на содержание.
2. Нет никакой информации в разделе «Степень разработанности темы» (с.6).
3. Положения, выносимые на защиту сформулированы некорректно (с.9). Они по стилистике больше соответствуют выводам.
4. Обзор литературы не заканчивается результирующим заключением с анализом. Из него не следует актуальность поставленной цели и задач.
5. В разделе 3.1. Указывается, что растительный материал собран в 12 субъектах РФ. А главный результат – распространенность фитоплазм в России описан очень скупо. Нет ни одной таблицы или рисунка. Даны лишь отдельные сведения около 1 страницы текста.
6. Табл. 7, стр. 80. Нет сравнения методик выделения ДНК по трудоемкости, хотя на с. 81 есть об этом упоминание.
7. Табл.8, с.83. При анализе нескольких миксов для ПЦР в реальном времени делается вывод, что лучшим был один вариант. Между тем по статистическим критериям между тремя разными миксами нет существенных различий. Следует отметить, что несмотря на расчеты ошибки средней, ни в этом случае ни в целом по тексту автор не использует статистические критерии для обсуждения результатов.

Отмеченные недостатки не умаляют научной и практической значимости диссертации и не изменяют общей положительной оценки последней.

Автореферат оформлен в соответствии с требованиями, отражает основное содержание работы и научных публикаций, раскрывает основные положения, выносимые на защиту.

Заключение. Диссертация Башкировой Иды Геннадьевны «Изучение фитоплазм из групп Apple proliferation и Stolbur с помощью молекулярно-генетических методов диагностики», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.11. Микробиология, является законченной научно-квалификационной работой, в которой решена важная научная задача, а именно: усовершенствование методов молекулярно-генетической диагностики фитоплазмозов и выявление различных видов фитоплазм в РФ. Исследование имеет важное практическое значение поскольку позволяет оптимизировать диагностику зараженности сельскохозяйственных растений фитоплазмами и получить более достоверную информацию о распространенности фитоплазмозов в различных регионах.

По своей актуальности, методическому уровню, объему исследований, научной и практической значимости результатов, достоверности выводов, диссертационная работа полностью соответствует критериям раздела II Положения о присуждения ученых степеней в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Российский университет дружбы народов», утвержденного Ученым советом РУДН 23.09.2019, протокол № 12, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а соискатель Башкирова И.Г. заслуживает присуждения искомой ученой степень кандидата биологических наук по специальности 1.5.11. Микробиология.

Согласен на сбор, обработку, хранение и размещение в сети «Интернет» моих персональных данных (в соответствии с требованиями Приказа Минобрнауки России №662 от 1 июля 2015 года), необходимых для работы диссертационного совета ПДС 0300.010.

Официальный оппонент:

доктор биологических наук (06.01.07), профессор

заведующий кафедрой защиты растений

ФГБОУ ВО «Российский государственный

аграрный университет – МСХА имени

К.А. Тимирязева» Минсельхоза РФ

Ф.С. Джалилов

«06» сентября 2023 г.



Сведения об организации

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А.Тимирязева» Министерства сельского хозяйства Российской Федерации. 127434, г. Москва, Тимирязевская ул., 49.

Тел. +7 499 977 10 60; e-mail: info@timacad.ru сайт: www.timacad.ru