

## ОТЗЫВ

ведущей организации на диссертационную работу Насерзаде Юсефа «Молекулярная идентификация и дизайн специфических праймеров для карантинных и некарантинных видов плодовых мушек (*Drosophila suzukii*, *Drosophila simulans*, *Drosophila melanogaster*)», представленную на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 4.1.3 Агрохимия, агропочвоведение, защита и карантин растений

Россия осуществляет значительные объёмы импорта и экспорта плодоовощной и ягодной продукции, в связи с этим необходим жесткий контроль для предотвращения распространения новых опасных видов вредных организмов.

Диссертационная работа Насерзаде Юсефа направлена на поиск способа быстрого выявления и идентификации видов плодовых мух, включая карантинный объект, не зарегистрированный на территории Российской Федерации – азиатскую ягодную дрозифилу *Drosophila suzukii*, а также близкородственные виды *Drosophila simulans* и *Drosophila melanogaster*.

**Актуальность темы.** Плодовые мухи из рода *Drosophila* – особая обширная группа вредителей, питающаяся перезрелыми плодами, ягодами, овощами, гниющими растениями. Среди них наиболее опасен карантинный объект азиатская ягодная дрозифила *Drosophila suzukii*, приводящая к значительному экономическому ущербу за счет потери товарных качеств плодовой и ягодной продукции и ее быстрому загниванию. Вид широко распространен в Америке, ряде стран Азии и Европы, на территории Российской Федерации не зарегистрирован. Фитосанитарный риск распространения очень высокий, особенно для южных регионов России, где выращивается много различных плодовых, ягодных культур и винограда.

В настоящее время для идентификации имаго *Drosophila suzukii* широко используется морфологический метод (половой диморфизм в окраске крыльев, ног; строение яйцеклада; строение гениталий самцов и др. признаки), ПЦР анализ.

Зачастую при проведении фитосанитарного контроля поступающей в Российскую Федерацию продукции обнаруживают только преимагинальные фазы развития плодовых мух – личинки и пупарии, по которым видовая идентификация затруднена. Поэтому точная диагностика возможна только с применением молекулярных методов исследований. В связи с этим проведенные Насерзаде Юсефом исследования по разработке специфических пар праймеров для идентификации азиатской ягодной дрозофилы *Drosophila suzukii*, а также близкородственных видов *Drosophila simulans* и *Drosophila melanogaster* методом ПЦР в реальном времени и классической ПЦР являются актуальными.

**Степень разработанности темы.** Наиболее точная идентификация вредных организмов возможна только с применением молекулярно-генетических исследований. Существует несколько универсальных праймеров, которые можно использовать для общей идентификации *Drosophila* spp. Однако универсальность праймеров не дает достоверных результатов в идентификации отдельных видов рода *Drosophila*, среди которых особую опасность представляет вид *Drosophila suzukii*, включенный в единый перечень карантинных объектов Евразийского экономического союза. В проведенном исследовании было разработано более девяти пар новых специфических пар праймеров для повышения селективности и чувствительности анализа видовой идентификации целевых видов плодовых мух.

**Целью диссертационной работы** является поиск способа быстрого выявления и идентификации карантинного вредного организма *Drosophila*

*suzukii*, а также близкородственных видов: *Drosophila simulans* и *Drosophila melanogaster*.

**Научная новизна проведенных исследований.** Проведен филогенетический анализ видов *Drosophila* в качестве маркера.

Разработаны специфические пары праймеров для идентификации азиатской ягодной дрозофилы *Drosophila suzukii*, а также близкородственных видов *Drosophila simulans* и *Drosophila melanogaster*.

Проведена оценка селективности предлагаемых праймеров.

**Теоретическая и практическая значимость результатов исследований.** Разработаны новые специфичные праймеры для экспресс-диагностики карантинных и некарантинных видов рода *Drosophila*.

Для молекулярной идентификации *D. suzukii*, разработаны три пары праймеров - 12.dsuz.F/R, 12.dsuz.F/R и 3.dsuz.F/R для классической ПЦР и 1.dsuz.F/R. Probe и 3. dsuz. F/R. А также для ПЦР в реальном времени.

Для молекулярной идентификации *D. melanogaster* были разработаны две пары праймеров – 4. DM. F/R для классической ПЦР и 3. DM. F / R. Probe для ПЦР в реальном времени.

Для молекулярной идентификации *D. simulans* были разработаны две пары праймеров – 6.ds. F/R для классической ПЦР и ds.F/R.Probe для ПЦР в реальном времени.

Результаты исследований могут быть внедрены для работы в специализированных лабораториях.

**Степень достоверности и обоснованности результатов исследований** подтверждается использованием современного оборудования для работы с генетическим материалом.

По результатам проведенных исследований опубликовано семь статей: две в научных журналах, включенных в базу данных International Journal,

две – в базах данных Scopus, две – в рецензируемых журналах, включенных в список ВАК.

Основные результаты исследований были представлены на конференции «Наука и инновации – современные концепции», по итогам которой была опубликована статья.

**Соответствие диссертации и автореферата.** Диссертационная работа состоит из введения, трех глав, выводов и списка литературы, что соответствует методическим требованиям.

Материал изложен на 127 страницах, включает 79 таблиц, 52 рисунка. Список литературы состоит из 84 наименований. Автореферат изложен на русском и английском языках, полностью соответствует содержанию диссертации.

### **Анализ содержания диссертации**

**Во введении** автором обоснована актуальность и научная новизна исследования, определены его цель и задачи, а также положения, выносимые на защиту. Приведена теоретическая и практическая и значимость проведенных исследований.

**В первой главе** «Обзор литературы» представлены общие сведения о карантинных и некарантинных близкородственных видах плодовых мух из рода *Drosophila* (*D. suzukii*, *D. simulans* и *D. melanogaster*): таксономия, синонимы, растения-хозяева, ареал распространения в мире, цикл развития, распространение и вредоносность *Drosophila* sp. в России и Иране.

Представлена информация об использовании ПЦР анализа для молекулярной идентификации *Drosophila* sp.

**Во второй главе** «Материалы и методы» указано происхождение образцов для проведения исследований (Всероссийский центр карантина растений (ВНИИКР), Москва, Россия; сельскохозяйственный университет Варамина в Тегеране, Иран).

Описана методика извлечения личинок плодовых мух из плодов, подготовка материала для выделения ДНК, приводится список используемых реактивов, способы экстракции и очистки ДНК.

Дано описание методов проведения ПЦР, секвенирования генома, филогенетического анализа, подбора специфичных праймеров.

**В третьей главе** «Результаты и обсуждение» приводится анализ полученных данных по молекулярной идентификации плодовых мух рода *Drosophila*, выделенных из разной плодовой продукции различного происхождения с использованием предлагаемых специфичных праймеров.

Приводятся списки видов плодовых мух, использованных при выявлении целевых видов методом ПЦР в реальном времени, результаты молекулярной диагностики с разными праймерами и оценка их селективности.

Представлена молекулярная филогения рода *Drosophila* и близкородственных родов.

**В Заключении** приводятся основные выводы, полученные на основании анализа результатов исследований. Они соответствуют целям и задачам, поставленным перед данной работой.

Автором выполнен значительный объем исследований. Есть некоторые замечания по диссертационной работе:

– пункт 1.4.1. главы «Обзор литературы» описан очень кратко, приводятся данные о сущности метода ПЦР, при этом отсутствует всесторонний детальный анализ применяемых в мире молекулярных методов идентификации плодовых мух рода *Drosophila*, хотя эти сведения важны для

рассматриваемого научного исследования. При отсутствии таких данных в литературных источниках, следовало отметить это, что повысило бы степень новизны проведенных исследований.

– в третьей главе «Результаты и обсуждение» не ясно с какой целью добавлена таблица 79, в которой приведены общеизвестные данные о сравнении классического ПЦР и ПЦР в реальном времени, что не относится к полученным автором результатам исследования.

– в заключении автор рекомендует включение плодовой мухи *Drosophila simulans* в список карантинных объектов в России. Это невозможно без проведения всестороннего анализа фитосанитарного риска. Кроме того, сделанный вывод не является анализом результатов исследований, проведенных автором и это не входило в задачи исследований.

– необходимо отредактировать и отформатировать текст диссертационной работы и автореферата в соответствии с установленными требованиями.

Указанные замечания не снижают научную и практическую значимость полученных результатов, их достоверность и актуальность и не влияют на положительную оценку работы.

### **Заключение**

Считаю, что представленная диссертационная работа Насерзаде Юсефа «Молекулярная идентификация и дизайн специфических праймеров для карантинных и некарантинных видов плодовых мушек (*Drosophila suzukii*, *Drosophila simulans*, *Drosophila melonogaster*)» является законченным научным исследованием, выполненным на высоком научно-методическом уровне. По актуальности исследований, теоретической и практической значимости работы, объему экспериментальных данных диссертация, представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 4.1.3 Агротехника, агропочвоведение, защита и карантин

растений, является законченным исследованием с решенными задачами и выполненной целью.

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 23.09.2019 г., а её автор Насерзаде Юсеф заслуживает присуждения ему учёной степени кандидата биологических наук по специальности 4.1.3 Агротехнология, агропочвоведение, защита и карантин растений.

Валеева Наталья Григорьевна,   
кандидат сельскохозяйственных наук по специальности 06.01.11 – защита растений, доцент, доцент кафедры плодоовощеводства и виноградарства  
Институт «Агротехнологическая академия»  
ФГБОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского»  
295492, Республика Крым, г. Симферополь, п. Аграрное  
Тел. +7(3652)263752  
e-mail: [document\\_120@mail.ru](mailto:document_120@mail.ru)  
[nvaleeva@mail.ru](mailto:nvaleeva@mail.ru)

Подпись Валеевой Н.Г. заверяю:

Директор Института  
«Агротехнологическая академия»  
ФГБОУ ВО «Крымский федеральный университет  
имени В.И. Вернадского»



В.В. Лемещенко