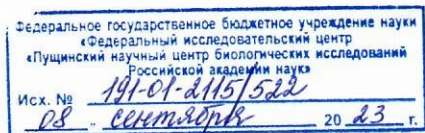


УТВЕРЖДАЮ:



Директор

ФГБУН «Федеральный исследовательский
центр «Пушкинский научный центр
биологических исследований Российской
академии наук»
доктор биологических наук



П. Я. Грабарник
«08» сентября 2023 г.

ОТЗЫВ

**ведущей организации на диссертационную работу
Башкировой Иды Геннадьевны
«Изучение фитоплазм из групп Apple proliferation и Stolbur с помощью
молекулярно-генетических методов диагностики», представленной на
соискание ученой степени кандидата биологических наук
по специальности 1.5.11. – Микробиология**

Диссертация Иды Геннадьевны Башкировой посвящена исследованию оптимальных молекулярно-генетических методов для анализа микроорганизмов, вызывающих фитоплазменную инфекцию, приводящую к огромным потерям в сельскохозяйственной отрасли не только в нашей стране, но и по всему миру.

Актуальность избранной темы

Актуальность исследования И.Г. Башкировой обусловлена тем, что фитоплазмы являются причиной заболевания более 1000 видов растений и их своевременная идентификация позволила бы сохранить сельхозпродукцию и препятствовать распространению инфекции.

Общепринятая идентификация фитоплазм основана на секвенировании гена 16S рРНК, а также на биологических характеристиках фитоплазм в соответствии со специальными правилами, предложенными Международным комитетом по систематике прокариот для микроорганизмов в статусе

Candidatus. Род '*Ca. Phytoplasma*' в настоящее время объединяет 61 вид и продолжает пополняться.

Научная новизна исследования

В представленной работе И.Г. Башкировой исследована степень распространения особо опасных фитоплазм из групп Apple proliferation и Stolbur на территории Российской Федерации и некоторых зарубежных стран. Впервые осуществлено сравнительное изучение и апробация методов выделения ДНК фитоплазм из растительного материала с использованием классической методики, наборов реагентов отечественных компаний, зарубежного набора компании Qiagen (США) из фитоплазм из групп Apple proliferation и Stolbur. Также впервые для видовой идентификации фитоплазм из этих групп успешно апробированы тест-системы отечественного производства. Автором определена видовая принадлежность, полученных нуклеотидных последовательностей на основе изучения участков 16S-23S рРНК гена, которые отнесены к кандидатным видам *Ca. Phytoplasma mali*, *Ca. P. pyri* и *Ca. P. prunorum* из группы Apple proliferation.

Теоретическая и практическая значимость

Автором диссертации выбраны оптимальные методы экстракции ДНК для исследованной группы бактерий, определены оптимальные реакционные смеси для проведения метода ПЦР, апробированы отечественные тест-системы для видовой идентификации фитоплазм *Ca. Phytoplasma mali*, *Ca. Phytoplasma pyri* (группа Apple proliferation), *Ca. Phytoplasma solani* (группа Stolbur). На основании полученных результатов разработаны методические указания «Диагностика ряда карантинных фитопатогенов методом полимеразной цепной реакции с флуоресцентной детекцией результатов с использованием диагностических наборов производства ООО «АгроДиагностика», методические рекомендации по выявлению и идентификации фитоплазмы Европейской желтухи плодов косточковых *Ca. P. prunorum*, подготовлены два обучающих видеоролика.

Оценка содержания диссертации и ее завершенности

Диссертационная работа И.Г. Башкировой изложена на 152 страницах машинописного текста и включает в себя 39 рисунков и 20 таблиц. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, результатов собственного исследования и их обсуждения, заключения, выводов, приложений, списка сокращений и списка литературных источников, который включает 171 наименование.

В разделе «Введение» автор убедительно обосновывает актуальность изучения идентификации особо опасных фитоплазм из групп Apple proliferation и Stolbur с помощью молекулярно-генетических методов диагностики, излагает цель и задачи исследования, характеризует представленную работу с точки зрения научной новизны и теоретической значимости, сообщает о месте проведения исследований и отражает свой личный вклад.

Поставленная цель заключалась в изучении распространения, выявления и идентификации особо опасных фитоплазм из групп Apple proliferation и Stolbur с помощью молекулярно-генетических методов диагностики. Достижение цели осуществлялась путем решения конкретных задач, которые полностью соответствовали теме диссертационной работы.

Глава 1 представляет собой обзор литературы, в котором автор описывает известные к настоящему времени сведения о бактериях-фитоплазмах группы Apple proliferation и Stolbur, их современную классификацию, морфологические и биологические свойства фитоплазм, а также сферы их распространения. Кроме того, подробно изложены существующие методы диагностики фитопатогенных микроорганизмов. Обзор написан хорошим литературным языком и дает ясное представление о предмете исследований.

В главе 2 (Материалы и методы исследования) подробно описывается весь арсенал современных молекулярных, аналитических и микробиологических методов, который применяла И.Г. Башкирова для

выполнения такой большой работы. Примененные автором методические подходы полностью отвечают поставленным задачам, а их чрезвычайно широкий спектр делает результаты надежными и воспроизводимыми.

Результаты изложены в третьей главе диссертации. В результате проведения масштабных исследований автору диссертации удалось представить надежные доказательства того, что отечественные наборы реагентов «ЦитоСорб/CytoSorb», «Сорб-ГМО-Б» уменьшают время проведения исследования и не уступают по техническим характеристикам зарубежным аналогам. Из огромного массива проанализированных образцов растительного материала выявлено и идентифицировано 46 случаев заражения изучаемыми фитопатогенными микроорганизмами. В третьей главе диссертации также описан подбор реакционных смесей и условий проведения ПЦР. Кроме того, представлены результаты идентификации полученных нуклеотидных последовательностей фитоплазм из групп Apple proliferation и Stolbur на основе изучения участков 16S-23S рРНК гена.

Уникальный опыт и практические навыки, полученные в ходе выполнения настоящей работы, могут быть использованы в планировании и осуществлении будущих микробиологических исследований.

Работа аккуратно оформлена и содержит лишь небольшое количество стилистических и грамматических ошибок, но имеются некоторые замечания, вопросы и комментарии:

1. Стр 13, рис.1 На рисунке приведены устаревшие сведения о составе семейств и родов класса *Mollicutes*, например, семейство *Mycoplasmataceae* в настоящий момент объединяет 4 рода, а не два, как показано на рисунке. Актуальное состояние систематики прокариот полезно и правильно смотреть на сайте <https://www.bacterio.net/>. Следует отметить, что название всех таксонов, включая и таксоны высшего порядка, необходимо писать курсивом.

2. Стр. 42 название таблицы 1 не соответствует ее содержанию и таблица должна называться «Культуры, использованные в работе для выделения ДНК».
3. Рис. 11 и далее Подписи к рисункам не соответствует информации, изображенной на рисунках и должны быть в другой редакции.
4. Рис. 39. Филогенетическое древо нечитаемого качества. Отсутствуют какие-либо объяснения необходимости филогенетического анализа, полученных последовательностей гена 16S рРНК и того, что в результате получилось.
5. Каково сходство, полученных последовательностей, с последовательностями типовых штаммов исследованных кандидатных видов?

Однако замечания, безусловно, носят рекомендательный характер и никоим образом не умаляют достоинств работы. Все задачи, поставленные в работе, успешно выполнены. Выводы диссертационной работы вытекают из ее задач, корректны и полностью обоснованы полученным экспериментальным материалом. Автореферат и публикации в полной мере отражают содержание диссертации. Работа была апробирована на престижных российских конференциях в виде устных и постерных докладов. По теме диссертации опубликовано 11 работ, в том числе, 3 статьи в изданиях, включенных в международную базу данных Scopus, 2 статьи опубликованы в рецензируемых научных изданиях, входящих в перечень ВАК РФ/РУДН.

Заключение. На основе анализа диссертации можно заключить, что диссертационная работа И.Г. Башкировой является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение новой задачи, имеющие значение для молекулярно-генетической идентификации фитоплазм групп Apple proliferation и Stolbur. Высокий экспериментальный уровень диссертационной работы, разнообразие используемых подходов, новизна полученных результатов, позволяют с полным основанием считать,

что работа полностью соответствует критериям раздела II Положения о присуждении учёных степеней в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Российский университет дружбы народов», утверждённого Учёным советом РУДН протокол № 12 от 23.09.2019 г., предъявляемым к кандидатским диссертациям, а её автор, Башкирова Ида Геннадьевна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.11. Микробиология.

Отзыв обсужден, одобрен и утвержден на семинаре отдела «Всероссийская коллекция микроорганизмов» и лаборатории анаэробных микроорганизмов Института биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина – обособленного подразделения Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических исследований Российской академии наук» от 01 сентября 2023 г. протокол № 6.

Согласны 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.


Отзыв составила
Доктор биологических наук
(специальность 1.5.11. Микробиология)
ведущий научный сотрудник
Лаборатории анаэробных микроорганизмов
Института биохимии и физиологии микроорганизмов
имени Г.К. Скрябина (ИБФМ РАН)



Щербакова Виктория Артуровна

Подпись Щербаковой Виктории Артуровны заверяю



 Решетилова Т.А., д.б.н.

Ученый секретарь ИБФМ РАН

Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина,
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Федеральный
исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических
исследований Российской академии наук».

Почтовый адрес: Российская Федерация, 142290, Московская область, г.
Пушино, проспект Науки, 3.

Эл. почта: adm@ibpm.ru, <http://www.ibpm.ru>; тел./факс: (4967) 73-39-62