

## Отзыв

официального оппонента доктора биологических наук Долгова Сергея Владимировича на диссертацию Ганчевой Марии Семеновны «Гены *CLE* в развитии картофеля», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – Генетика.

Диссертация Ганчевой Марии Семеновны посвящена выявлению роли пептидных фитогормонов семейства *CLE* в регуляции формирования клубня картофеля – важнейшего компонента питания человека и сельскохозяйственных животных. Исходя из важности картофеля как пищевой культуры, выявление регуляторных компонентов и механизмов индукции клубнеобразования представляет несомненно **актуальна** для поиска генов-кандидатов, которые могут стать мишенями для улучшения этой сельскохозяйственной культуры, - в том числе, генов *CLE*. В последние годы во всем мире было получено много новых данных о роли генов этого семейства в разных аспектах развития растений (в том числе – в контроле роста утолщением, который крайне важен для развития таких запасающих органов, как клубень), а также в ответе на факторы окружающей среды. В то же время, вопрос участия генов *CLE* в клубнеобразовании у картофеля ранее не исследовался, и данные об участии генов *CLE* в этом процессе были получены диссертанткой впервые, что обуславливает **научную новизну** проведенных исследований.

Диссертация Ганчевой М.С. изложена на 94 страницах и включает в себя все традиционные разделы, такие как Введение, Обзор литературы, Материалы и методы, Результаты и обсуждение, Заключение, Выводы, Список литературы.

Во Введении автор формулирует поставленные цели и задачи, а также основные положения, выносимые на защиту; кратко приводит данные о современном состоянии темы своих исследований, ее актуальности, новизне и значении.

В обзоре литературы изложена информация об известных на сегодняшний день регуляторах клубнеобразования у картофеля: флориген-подобных белках, транскрипционных факторах, микроРНК, а также об участии в клубнеобразовании различных абиотических факторов, таких, как длина светового дня, температура, влажность и доступность азотного питания. Один из разделов обзора литературы также посвящен пептидным фитогормонам *CLE*, их роли в развитии меристем, росте утолщением и ответе на разнообразные факторы окружающей среды. Автор достаточно хорошо ознакомился с имеющейся литературой по изучаемому вопросу: в Списке литературы представлено 149 источников.

Раздел Материалы и методы посвящен характеристике используемого в работе растительного материала, а также описанию разнообразных методов исследования, а это и культуральные методы, и анализ экспрессии генов, и конструирование векторов, и биоинформатические методы.

В раздел «Результаты» представлены данные, полученные соискателем. На основе литературных источников описано семейство генов *CLE* у картофеля *Solanum tuberosum* group *Phureja*, включающее 41 ген, а также проведен поиск генов *CLE* в геномных сборках других видов картофеля, среди которых были культурные и дикие

виды. Учитывая имеющиеся в литературе (в том числе - ранее полученные автором) данные о роли генов *CLE* в развитии растений и ответе на факторы окружающей среды, соискатель изучила функциональную характеристику ряда выявленных ею генов *CLE* картофеля. В итоге были выявлены регуляторы развития растений в зависимости от доступности азотного питания - *StCLE4* и *StCLE10*; возможный регулятор ответа на нехватку воды - *StCLE23*; и участник роста утолщением и формирования клубня - *StCLE8*. К сожалению, сверхэкспрессия гена *StCLE8* в растениях картофеля под конститутивным промотором 35S не дала ожидаемого эффекта – закладки большего количества или более крупных клубней и, как следствие, прироста урожайности картофеля. Обсуждаются возможные причины этого эффекта.

В конце работы автор делает пять выводов, в целом соответствующих полученным результатам.

По данным, полученным автором, опубликованы пять статей в ведущих научных журналах; также эти данные были представлены в виде докладов на международных научных конференциях.

В исследовании использовались современные методы биоинформатики, генной инженерии и молекулярной биологии: анализ транскриптомов изучаемых форм, ПЦР в реальном времени, трансгеноз, однопородные скрещивания – что свидетельствует о достаточно высоком методическом уровне представленной работы.

Однако необходимо отменить некоторые недоработки в первую очередь связанные с представлением полученных результатов:

1. При описании анализа органоспецифичной экспрессии изучаемых генов не ясен источник получения информации – (транскриптомов),

2. В экспериментах с азотным питанием в автореферате в подписи под рисунками 4.5 не указано что конкретно подразумевается под АЗОТ? На рис 5 следует наверное писать о пересадке растений со среды без азота и согласовывать падежи. Неясно также с какой целью в эксперименте в среду обоих вариантов вводился дополнительный источник хлора имитирующий слабое засоление.

3. В экспериментах по реакции нехватки воды неясно как растения из культуры *in vitro* выдерживали 4 часа без воды?

4. Неясна причина выбора для детального анализа трансгенной линии 8#24, хотя по данным ПЦР в реальном времени экспрессия целевого гена была выше у линий 8#1, 8#4, 8#27.

5. В диссертации и автореферате встречаются некорректные формулировки – композитные растения вместо химерных, неточные подписи к графикам и иллюстрациям.

В целом соискателем проделана достаточно большая экспериментальная работа с применением современных методов исследований и получены новые данные об экспрессии генов семейства *CLE* в растениях картофеля, а указанные замечания не носят принципиального характера. Работа Марии Семеновны является, скорее, не законченным, а продолжающимся исследованием приведенные функциональные характеристики четырех из 41 генов *CLE* картофеля, требуют дальнейшего изучения и интерпретации.

Таким образом, проведенное исследование соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а соискатель Ганчева Мария Семеновна заслуживает присвоения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 Генетика.

Доктор биологических наук



Долгов Сергей Владимирович

по специальности 03.01.06. Биотехнология,

Главный научный сотрудник лаборатории экспрессионных систем и модификации генома растений Федерального государственного бюджетного научного учреждения Федеральный научный центр Институт биоорганической химии им. акад. М.М.Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской Академии Наук (Филиал).

142290, Российская Федерация, г. Пущино, Проспект Науки 6

Телефон: +79850697047

Email: [dolgov@bibch.ru](mailto:dolgov@bibch.ru)

Подпись Долгова С.В. заверяю  
Уч. Секретарь ФИБХ РАН к.х.н.



А.Н. Обухов

