

Отзыв

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

Исследование генетических механизмов, вовлеченных в процесс формирования и развития растения картофеля (*Solanum tuberosum* L.), является актуальной фундаментальной и практической задачей. Понимание особенностей функционирования этих процессов позволит не только расширить наши знания в биологии развития растений, но и направленно осуществлять селекцию картофеля, реализовывать направленное редактирование генома и создание эффективных генетических модификаций этой ценнейшей культуры.

В этой связи, диссертационная работа Ганчевой Марии Семеновны, посвященная изучению некоторых аспектов функционирования *CLE* генов в развитии картофеля, несомненно, является очень важной и весьма актуальной.

В работе автор использует целый арсенал классических и современных методов, включающий не только молекулярно-биологические и генно-инженерные подходы, но и биоинформатический инструментарий. Использование этих методов полностью соответствует решению поставленных задач и проверки предложенных гипотез. Достоверность полученных результатов не вызывает никаких сомнений. Обоснованность научных положений и выводов подтверждается приведенными результатами.

Полученные М. С. Ганчевой результаты, обладают значительной научной новизной. В работе идентифицированы 42 гена *CLE* картофеля, охарактеризована их доменная структура, изучена активность и тканевая специфичность промоторов генов *StCLE4* и *StCLE10*. Исследована экспрессия генов *StCLE23* и *StCLE8*. Исследовалось взаимодействие транскрипционного фактора BEL5 с промоторной областью гена *StCLE4*.

Результаты диссертационной работы расширяют существующие представления о *CLE* генах картофеля и вносят вклад в развитие функциональных и прикладных аспектов этой проблематики. Работа имеет несомненное практическое значение.

Представленная диссертационная работа изложена на 94 страницах, включает в себя 32 рисунка, таблицу и 5 приложений.

В Главе 1 «Обзор литературы» автор проводит анализ современного состояния изучаемой проблемы. Диссертантом проанализировано 149 источников (из них 8 работ, опубликовано в отечественных изданиях). М.С. Ганчева рассматривает как физиологические, так и генетические аспекты изучаемого вопроса, особое внимание, уделяя биологии развития растений картофеля в фокусе своей проблематики. В целом обзор содержит информацию,

необходимую для дальнейшего обсуждения проблемы, и после рассмотрения литературных данных становится очевидной перспективность выбранного диссертантом направления исследований.

Для реализации задач, поставленных в диссертационной работе, М.С. Ганчева использует разнообразные методы и подходы, которые достаточно подробно описаны в главе 2 «Материалы и методы». Основным объектом в работе является *Solanum tuberosum* L. Сорта Дезире, используются, также, штаммы бактерии *E.coli* Top10 и штаммы дрожжей Y2H Gold. Из раздела 2.7. «ПЦР в реальном времени» рецензенту осталось не ясно с чем связано использование для обработки результатов метода $2^{-\Delta\Delta CT}$, не учитывающего эффективность реакции? Чем обусловлено использование интеркалирующего красителя (Eva Green) а не гидролизуемых зондов, которые дают более точные и воспроизводимые результаты?

Результаты, полученные в ходе выполнения диссертации, и их обсуждение подробно изложены в Главе 3. Диссертант подробно показывает, результат анализа и изучение экспрессии генов *CLE* у картофеля. В разделе 3.2.3. «Анализ активности промоторов генов *StCLE4* и *StCLE10* у картофеля» описывается эксперимент по исследованию активности промоторов генов в присутствии или отсутствии азота в нитратной и аммонийной форме и убедительно демонстрируется взаимосвязь активности промоторов с наличием азота, однако возникает вопрос, с чем связано одновременное использование для эксперимента азота в разных степенях окисления? Не влияет ли на результаты эксперимента использование штамма *A. rhizogenes*, который сам по себе изменяет морфологию корня? Не повлияет ли на результат «бородатость» корней?

В разделе 3.3. обсуждаются гены *CLE*, участвующие в ответе на нехватку воды. Убедительно демонстрируется, что экспрессия гена *StCLE23*, резко повышается в условиях нехватки воды. Сам по себе этот факт представляет большой интерес, но как он может быть использован для управления продуктивностью картофеля, ведь в условиях дефицита воды клубнеобразование не пойдет уже по массе других причин?

В разделе 3.4. «Поиск генов *CLE*, участвующих в утолщении клубня» при анализе экспрессии гена *StCLE 8*, демонстрируется самый высокий уровень его экспрессии (рисунок 21) в зоне камбия, это же демонстрирует корреляционный анализ (стр.57), почему в дальнейшем обсуждается прежде всего перимедулярная зона, где экспрессия значительно меньше и наблюдается только на периферической части?

В работе созданы разнообразные генетические конструкции, иллюстрированные наглядными картами и систематизированные в приложении 5.

Особенно хотелось бы отметить масштабность и значительный объем работы, проведенный диссертантом. Высокую точность и подробность в описании рабочих гипотез,