

УТВЕРЖДАЮ
Проректор – начальник
управления научной политики
МГУ имени М.В.Ломоносова

А.А.Федянин
2021 г



**ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ
на диссертационную работу Ганчевой Марии Семеновны
«ГЕНЫ *CLE* В РАЗВИТИИ КАРТОФЕЛЯ».**

**представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по
специальности 03.02.07 Генетика**

Актуальность диссертации

Работа Ганчевой Марии Семеновны посвящена выявлению регуляторных компонентов и механизмов индукции клубнеобразования у картофеля. Картофель является важнейшим компонентом питания человека и сельскохозяйственных животных, в связи с чем изучение генетического контроля клубнеобразования у картофеля является актуальной задачей, решение которой может привести к улучшению этой сельскохозяйственной культуры. Несмотря на большое практическое значение, генетические регуляторные механизмы развития картофеля все еще плохо изучены. В том числе для картофеля практически не исследовано семейство генов *CLE*, которое у растений играет важнейшую роль в регуляции эмбриогенеза, активности меристем, растительно-микробных взаимодействий и ответа на факторы окружающей среды, а также в регуляции роста стебля утолщением. Исследование Ганчевой Марии Семеновны является первым и весьма весомым вкладом в изучение семейства генов *CLE* у картофеля и анализ функции пептидов в регуляции клубнеобразования у этой практически важной культуры.

Научная новизна и практическая ценность работы

В работе Ганчевой Марии Семеновны впервые охарактеризовано семейство генов *CLE* у картофеля. Показано, что консенсусная последовательность доменов *CLE* картофеля отличается от последовательностей соответствующих доменов *CLE* арабидопсис (резуховидки) и томата, хотя демонстрирует 6 наиболее консервативных аминокислот. Среди генов *CLE* у картофеля *Solanum tuberosum* L. сорта Дезире (*StCLE*)

выявлены те, экспрессия которых ассоциирована с изменением содержания азота в среде (*StCLE4* и *StCLE10*), а также доступностью воды (*StCLE23*) и утолщением клубня (*StCLE8*). Выявленные гены - предполагаемые участники образования клубня у картофеля - могут стать мишенями для улучшения этой сельскохозяйственной культуры.

Структура и содержание работы

Диссертационная работа Ганчевой Марии Семеновны изложена на 94 страницах, содержит 1 таблицу, 32 рисунка, 5 приложений и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, результатов и обсуждения, заключения, выводов и списка цитируемой литературы.

Во введении автор подводит к сути проблемы и формулирует цель и задачи. В обзоре литературы автор освещает вопросы, связанные с уже известными регуляторами клубнеобразования у картофеля, подробно описывает фотопериодическую регуляцию образования клубней, а также нитратный сигналинг, который у картофеля почти не изучен, но есть данные по другим растениям, таким как резуховидка и лядвенец. Вторая глава обзора литературы посвящена пептидным фитогормонам CLE и их роли в развитии апикальных меристем, проводящих систем и в ответе на внешние факторы. Подробно описаны сигнальные пути, запускаемые пептидами CLE, и дано представление о разнообразии функций пептидов CLE у растений. Завершает главу абзац про возможные функции пептидов CLE у картофеля, что является плавным переходом к цели исследования.

В разделе «Материалы и методы» М.С. Ганчева дает характеристику и обоснование выбора сорта картофеля, используемого в работе, и подробно описывает условия выращивания картофеля. В работе использован широкий набор биоинформатических и молекулярно-генетических, гистологических и статистических методов, а также методы агробактериальной трансформации картофеля. Для анализа экспрессии генов использовали не только метод ПЦР в реальном времени, но и репортерные гены *GUS* и *GFP*, слитые с промоторами исследуемых генов. Чтобы провести такое исследование пространственных и временных особенностей активации промоторов диссертантом были созданы все генные конструкции, а затем получены трансгенные растения или трансгенные корни с использованием трансформации *A.tumefaciens* или *A.rhizogenes*, соответственно. Для проверки взаимодействия транскрипционных факторов с промоторами изучаемых генов М.С. Ганчевой использована дрожжевая одногибридная система.

Раздел «Результаты и обсуждение» включает в себя четыре подраздела, посвященных анализу последовательностей семейства генов *CLE* у картофеля, поиску генов, участвующих в ответе на изменение содержания азота в среде, в ответе на засуху, а также выявлению генов, регулирующих утолщение клубня. Анализ этих разделов свидетельствует о том, что диссертантом получена новая научная информация, которая может в дальнейшем использоваться для практических целей. Диссертантом с использованием биоинформатических подходов идентифицирован 41 ген *CLE*, среди которых двадцать ранее даже не упоминались. Важнейшим результатом работы является анализ функции ряда генов – кандидатов, который осуществлялся на основе изучения особенностей их экспрессии, а также с помощью анализа фенотипа растений с суперэкспрессией генов – кандидатов. Эти исследования потребовали проведения большого объема экспериментальной работы по созданию генетических конструкций разного назначения, а также получения трансгенных растений картофеля или трансгенных корней. Отдельно отметим интересный раздел, посвященный изучению взаимодействия транскрипционного фактора *BE15* с промоторами гена *CLE*. Для осуществления этой части исследований М.С. Ганчевой также создавались особые генные конструкции и использовалась дрожжевая одногибридная система.

На основе анализа трансгенных растений картофеля, несущих конструкции для анализа активности промотора и сверхэкспрессии гена *CLE8* картофеля, диссертантом высказано интересное предположение о том, что пептид *CLE8* может быть ключевым участником образования клубня. Большой интерес представляет и выявление генов, экспрессия которых зависит от содержания азота и наличия воды в среде. Изменение экспрессии этих генов может привести к получению сортов картофеля, устойчивых к нехватке азота и воды в почве, что важно для сельского хозяйства.

В разделе «Заключение» М.С. Ганчева не только подводит итог проведенной работы, но и очерчивает наиболее интересные направления будущих исследований, что говорит об авторе как о состоявшемся исследователе.

Выводы из работы сформулированы четко; они полностью соответствуют поставленным задачам и полученным результатам.

В целом, работа очень хорошо написана, содержит информативный иллюстрационный материал. Замечаний к оформлению работы нет. Вместе с тем в ней есть некоторые упущения.

Недостатки работы

1. В обзоре литературы нет анализа работ отечественных авторов, которые были выполнены на картофеле и посвящены изучению функции генов FLC и CO-like в развитии растений, в том числе – их влиянию на клубнеобразование (работы, выполненные в лаборатории профессора Э.Е.Хавкина в ФГБНУ ВНИИ Сельхоз Биотехнологии).
2. В подписи к рисункам в обзоре литературы нет ссылок на источники. Это полностью оригинальные рисунки автора или же модифицированные рисунки из опубликованных работ?
3. Не слишком убедительной выглядит стратегия выбора генов, которые являются кандидатами в регуляторы ответа на изменение содержания азота и ответа на дефицит воды. Диссертант выявляет эти гены по сходству аминокислотной последовательности кодируемых ими пептидов с известными регуляторами ответа на азот и засуху у арабидопсис (резуховидки). Смущает не столько отсутствие родства сравниваемых таксонов, сколько внимание именно к пептидам, а не к регуляторным областям (цис-элементам) генов. Хотя «победителей не судят» (М.С. Ганчева показала активацию экспрессии отдельных генов в ответ на дефицит воды или повышение содержания азота), хотелось бы понять, почему выделение исходных генов-кандидатов велось по белку. Какие данные имеются об уровнях регуляции (транскрипционный, посттранскрипционный, трансляционный и пр.) экспрессии генов *CLE*?
4. Не обсуждается возможность создания новых клубнеобразующих сортов растений, которые ранее клубни не образовывали, хотя это упоминается в практической значимости работы.

Высказанные замечания не являются принципиальными и не снижают общей высокой оценки представленной работы.

Соответствие автореферата основным положениям диссертации

Автореферат диссертации соответствует установленным требованиям и отражает основные результаты проведенных исследований.

Заключение

В заключении следует отметить, что М.С. Ганчевой на высоком научном уровне выполнена большая работа, посвященная изучению генов *CLE* у картофеля. Основные результаты представлены на российских и международных конференциях, а также

отражены в представительном списке публикаций. В 5 из 6 публикаций диссертант является первым автором. Все представленные результаты характеризуется высокой степенью научной новизны и могут быть использованы в дальнейшем для улучшения урожайности картофеля путем научно обоснованной селекции, а также с помощью геномного редактирования. Достоверность результатов, а также обоснованность выводов работы, не вызывают сомнения. Несомненно, проделанная работа представляет собой законченное научное исследование и удовлетворяет требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям (постановление правительства РФ №842 от 24.09.2013 с ред. 01.10.2018, с изм. от 26.05. 2020), а ее автор – М.С. Ганчева заслуживает присвоения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 Генетика

Отзыв ведущей организации рассмотрен на заседании кафедры генетики биологического факультета МГУ имени М.В.Ломоносова (протокол №5-21 от 6 сентября 2021 г).

Отзыв подготовила:

Доктор биологических наук

по специальности 03.02.07 Генетика,

профессор кафедры генетики

биологического факультета



Татьяна Анатольевна Ежова

Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова»

Адрес: 119234, Россия, Москва, Ленинские горы д.1, стр.12,

Биологический факультет МГУ

Интернет-сайт: <http://www.bio.msu.ru>

Тел. 8(495)939-11-79, e-mail: ezhova2008@gmail.com



5 