

РЕЦЕНЗИЯ

на научный доклад, выполненный по результатам научно-исследовательской работы
(диссертации)

Гуриной Алены Алексеевны

на тему: «Полиморфизм *R* генов у примитивных культурных видов секции *Petota* Dumort.
рода *Solanum* L»,

по научной специальности 03.02.07. Генетика,
направленность (профиль) 06.06.01. Биологические науки

Актуальность темы

Работа Алены Алексеевны Гуриной посвящена изучению полиморфизма генов устойчивости к патогенам у примитивных культурных видов картофеля (ПКВ). Эта тема имеет не только теоретическое, но и важное прикладное значение – культурные диплоидные виды хорошо скрещиваются с тетраплоидным *S. tuberosum* и, следовательно, интродукция их генов в селекционные сорта не встречает тех затруднений, как в случае диких видов. Между дикими видами и культурным картофелем существует генетический барьер, который препятствует скрещиванию, кроме того, дикие виды содержат большое количество нежелательных признаков, избавление от которых требует проведения большого числа возвратных скрещиваний. Поэтому данное исследование, направленное на поиск новых генов устойчивости у ПКВ картофеля и тем самым создающее возможности для создания устойчивых сортов, безусловно, является актуальным

Степень обоснованности и достоверности

Примененные автором методы исследования вполне обоснованы, а сделанные выводы достоверны

Научная новизна

Впервые произведена комплексная оценка ПКВ картофеля из клоновой коллекции ВИР по морфологическим, фитопатологическим и молекулярно-генетическим признакам. Путем *in silico*-анализа автор впервые выявил гомологи ряда генов устойчивости (*Ve1*, *Ve2*, *R3b*, *Rpiber1*, *Gro1-4*, *Gpa2*, *Rx*) в геномах примитивных культурных видов картофеля. Впервые охарактеризован полиморфизм последовательностей *R*-генов у ПКВ картофеля. Для некоторых генов (например, *Rpi-vnt1.3*) удалось показать ассоциацию определенных аллельных вариантов с устойчивостью.

Теоретическая и практическая значимость

Обнаруженная у ПКВ картофеля последовательность, полностью аналогичная гену *Ve1*, говорит о перспективности использования этих видов в качестве источников устойчивости к вертициллезному увяданию. Для функциональной аллели гена *Rpi-vnt1.3* автором разработаны оригинальные CAPS-маркеры, с успехом апробированные на расщепляющейся популяции. В клоновой коллекции ПКВ картофеля ВИР выделено 14 генотипов, устойчивых к фитофторозу и 8 генотипов, устойчивых к золотистой картофельной нематоде.

Соответствие содержания НД (диссертации) паспорту научной специальности

Паспорту специальности работа соответствует

Полнота изложения материалов НД (диссертации) в опубликованных работах

По результатам исследований автор опубликовал три статьи в журналах, рекомендованных ВАК, содержание которых достаточно полно отражает полученные результаты. Также были сделаны доклады на нескольких конференциях, в том числе с международным участием.

Общая характеристика научно-квалификационной работы (диссертации)

Перед диссертантом было поставлено несколько сложных и весьма трудоемких задач: фенотипическая характеристика образцов в клоновой коллекции ПКВ картофеля ВИР, проведение фитопатологического анализа и выявление образцов, устойчивых к фитофторозу и золотистой картофельной нематодой (ЗКН) - потенциальных источников *R* генов. Параллельно было необходимо провести биоинформатический поиск гомологов *R* генов в базах полногеномных данных и дать оценку их вариабельности в связи с устойчивостью образцов.

Все задачи были автором успешно решены. Проведено комплексное исследование большого количества (78 образцов, представленных 84 генотипами) четырёх примитивных видов картофеля: *S. ajanhuiri*, *S. goniocalyx*, *S. stenotomum*, *S. phureja*, включавшее ботаническое описание образцов по ряду дескрипторов, фенологические наблюдения и фитопатологическую оценку. Кроме того, для 60 образцов проведено лабораторное изучение устойчивости к возбудителю фитофтороза и к золотистой картофельной нематодой. В результате выявлено 14 образцов ПКВ картофеля, устойчивых к фитофторозу и 8 – к ЗКН, что само по себе представляет значительный интерес и имеет большую практическую значимость. Параллельно образцы выборки исследовались на наличие известных маркеров генов устойчивости к фитофторозу (гены *RB/blb1*, *Rpi-blb2*, *R2-like* и *Rpi-vnt1.3*) и к золотистой картофельной нематодой (гены *H1*, *Gro1-4*).

В сырых данных полногеномного секвенирования (SRA) примитивных культурных видов картофеля автор провел поиск последовательностей гомологов 27 известных генов устойчивости. Полностью анализ был осуществлен для 15 генов и, кроме того, частично выполнен для гена *Gro1-4*. В последовательностях последнего были найдены большие различия в экзон/ интронной структуре, что делало невозможным корректное сопоставление результатов.

Для всех 15 генов в геномах ПКВ были выявлены полноразмерные кодирующие последовательности (CDS). Гомологи ряда генов – *Ve1*, *Ve2*, *R3b*, *Rpiber1*, *Gro1-4*, *Gpa2*, *Rx* – у ПКВ картофеля были обнаружены автором впервые. У большинства генов хотя бы одна из копий являлась потенциально белок-образующей, то есть имела старт-кодон в том же месте, что и у референсного гена, и не содержала преждевременных нонсенс-кодонов. Сопоставление выявленных последовательностей у разных видов с референсными генами позволило автору показать, что частоты замен отличаются для разных участков: минимальное число замен (3,6-5,5%) присутствовало в домене NBS, наибольшая вариабельность (более 9%) отмечена у домена LRR. Выявлены случаи, когда такие изменения однозначно препятствуют работе генов устойчивости, так, у образца *S. phureja* к-8873 в LRR домене обнаружены три последовательных делеции. Однако для некоторых генов (например, *Rpi-vnt1.3*) путем сочетания *in silico*-анализа, данных секвенирования и фитопатологической оценки образцов удалось показать ассоциацию их аллельных вариантов с устойчивостью. Обнаруженная у ПКВ картофеля последовательность, полностью аналогичная гену *Ve1*, говорит о перспективности использования этих видов в качестве источников устойчивости к вертициллезному увяданию.

Для функциональной аллели гена *Rpi-vnt1.3* разработаны оригинальные CAPS-маркеры, апробированные на расщепляющейся популяции, полученной от скрещивания устойчивого генотипа *S. stenotomum* к-11020 и восприимчивого генотипа *S. stenotomum* к-9301 (материнская форма). Следует особо отметить большую работу, проведенную автором по получению расщепляющихся популяций – всего было осуществлено 13 комбинаций внутри и межвидовых

скрещиваний, 9 из них успешно; часть из полученных гибридных популяций была использована в дальнейшей работе.

Исследование Алены Алексеевны Гуриной осуществлено на высоком методическом уровне, с использованием комплекса очень трудоемких методов: классических гибридологического и фитопатологического анализов, методов молекулярной биологии и биоинформатики. Объем представленной работы – 45 страниц, работа имеет традиционные разделы (за исключением обзора литературы), материал проиллюстрирован пятью рисунками, также в тексте приводятся четыре таблицы. Список литературы содержит 52 названия, подавляющее большинство которых на английском языке.

Замечания и предложения

К недостаткам работы, на наш взгляд, нужно отнести слишком общее и неконкретное описание некоторых результатов. Например, в пункте 3.1. автор пишет «произведены ботанические описания образцов по ряду дескрипторов, сформированных на основе литературных данных об изменчивости и видовых характеристиках ПКВ картофеля». Сколько и каких конкретно признаков было изучено в работе, остается непонятным (в таблице 2 приведены данные по варьированию семи признаков, в тексте упоминаются еще пять, которые в таблице отсутствуют). В разделе «Методы», как минимум, необходимо привести таблицы с характеристикой использованных праймеров и условиями проведения ПЦР. Вероятно, их отсутствие в тексте связано с очень ограниченным допустимым объемом рукописи доклада, в диссертации этот недостаток необходимо исправить. Также слишком расплывчато сформулированы некоторые положения, выносимые на защиту. Например, положение №2 «Среди примитивных культурных видов выделены образцы – источники устойчивости к фитофторозу и золотистой картофельной нематодой». Было бы лучше дополнить данный вывод, указав число образцов, устойчивых к каждому патогену.

Также не самой сильной стороной работы является некоторая небрежность написания текста, в котором встречается достаточно много пунктуационных ошибок. При упоминании метода СТАВ- экстракции автор использует неправильное сокращение «СТАБ» (если используется русское наименование цетилтриметил бромид аммония, то первая буква в сокращении должна быть Ц). Следует отметить несколько странное цитирование русскоязычных источников в списке литературы, когда первый автор приводится на русском языке, а сокращение «и другие» - на английском (Киру et al.; Хютти А.В. et al.).

Заключение

Отмеченные недостатки никак не снижают ценности результатов работы Гуриной А.А., которая, безусловно, заслуживает оценки «отлично».

Рецензент:

Зав. лабораторией
молекулярной селекции
и ДНК-паспортизации
ВИР им. Н. И. Вавилова, к.б.н.
«13» июля 2023 г.



Антонова О.Ю.

С рецензией ознакомлен: _____
(Фамилия И.О. обучающегося) (подпись)

« ____ » _____ 20 ____ г.