

Отзыв

официального оппонента кандидата биологических наук Богомаза Дениса Игоревича на диссертацию Гуриной Алёны Алексеевны «Полиморфизм *R*-генов у примитивных культурных видов секции *Petota Dumort* рода *Solanum L.*», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7 – Генетика.

Исследование особенностей полиморфизма генов, вовлеченных в проявление устойчивости к болезням картофеля (род *Solanum L.*), является актуальной фундаментальной и практической задачей. Знание полиморфизма генов устойчивости позволит не только глубже понять эволюцию признаков устойчивости в ходе естественного и искусственного отбора, но и направленно осуществлять селекцию картофеля, реализовывать направленное редактирование генома и создание эффективных генетических модификаций этой ценнейшей культуры.

В этой связи диссертационная работа Гуриной Алёны Алексеевны, посвященная изучению полиморфизма последовательностей, гомологичных *R*-генам картофеля, несомненно, является очень важной и весьма актуальной.

В работе автор использует целый арсенал классических и современных методов, включающий как молекулярно-биологические подходы, так и глубокий 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 А. А. Гуриной результаты, обладают значительной научной новизной. В работе впервые проведена комплексная оценка образцов ПКВ картофеля по ряду важнейших признаков, впервые проанализированы последовательности маркерных фрагментов генов устойчивости к фитофторозу и ЗКН. Проанализирована связь одного из аллельных вариантов гена *Rpi-vnt1* с устойчивостью к фитофторозу у образца *S. stenotomum* к-11020-283. Проведен *in silico* поиск и анализ последовательностей гомологичных *R*-генам у ПКВ картофеля. Показана неравномерность частот замен в нуклеотидных последовательностях гомологичных *R*-генам.

Результаты диссертационной работы расширяют существующие представления о последовательностях гомологичным *R*-генам у ПКВ картофеля и вносят вклад в развитие функциональных и прикладных аспектов этой проблематики. Работа имеет несомненное фундаментальное и практическое значение.

Представленная диссертационная работа изложена на 147 страницах, включает в себя 28 рисунков, 12 таблиц и 4 приложения.

В Главе 1 «Обзор литературы» автор проводит анализ современного состояния изучаемой проблемы. Диссертантом проанализировано 258 источников (из них 20 работ, опубликовано в отечественных изданиях). А. А. Гурина рассматривает как систематику и агробиологию ПКВ, так и генетическую составляющую группы исследуемых видов. Большое внимание уделено вопросам устойчивости растений, в т.ч. механизмам и описанию наиболее значимых болезней картофеля. Из раздела не совсем понятно, изучен или нет механизм действия генов устойчивости, на которых в дальнейшем фокусируется автор, например *Rpi-vnt1* и др. (амплифицирует их, секвенирует, создает CAPS маркеры), к генам какого типа иммунитета они вообще относятся в соответствии с концепцией “zig-zag”? И лишь на 80-й странице из раздела “Результаты и обсуждения” становится понятно, что речь идет о семействе белков CNL.

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, А. А. Гурина использует разнообразные методы и подходы, которые достаточно подробно описаны в Главе 2 «Материалы исследования». Основным объектом в работе является образцы ПКВ картофеля из клоновой коллекции ВИР, а также данные из открытых баз данных. Гибридологический анализ был проведен на 13 вариантах скрещиваний. Из раздела становится не совсем понятно, какими соображениями руководствовался автор при планировании скрещиваний. Также при выполненных 13 вариантах скрещиваний проанализировано только 2 варианта. Возникает вопрос, как автор ликвидировал образовавшуюся брешь в получении запланированных результатов?

Глава 3 посвящена методам исследования. Исследователем применены, как классические морфологические и агробиологические методы, так молекулярно-биологические и биоинформатические методы. Секвенирование ПЦР фрагментов автор проводил через промежуточное клонирование в *pAL-TA* вектор. С чем связана необходимость этого клонирования? В случае наложения пиков при прямом секвенировании без клонирования возможна ситуация амплификации нескольких гомологичных, но отличающихся последовательностей, чем в таком случае обеспечивалось секвенирование всех возможных вариантов ампликонов?

При поиске в полногеномных сборках ПКВ картофеля наличие *R*-генов определялось при сходстве с референсной последовательностью не менее 80 процентов. Что дает основание считать, что столь значимые отличия все еще не влияют на функциональность исследуемых последовательностей?

Результаты, полученные в ходе выполнения диссертации, и их обсуждение подробно изложены в Главе 4. В разделе 4.1 диссертант подробно анализирует морфологические и агробиологические особенности ПКВ картофеля из коллекции ВИР. Раздел 4.2 посвящен скрининговым исследованиям ПКВ картофеля на наличие маркеров *R*-генов. Проводились исследования на устойчивость и корреляцию устойчивости с маркерами *R*-генов на различные фитопатогены, такие как: фитофтороз, ЗКН, вирусные заболевания. Было проведено первичное исследование по устойчивости ПКВ к альтернариозу. В итоге обнаружить надежную корреляцию между устойчивостью к исследованным заболеваниям и опубликованными в литературе маркерами диссертанту не удалось. С чем может быть связан такой результат?

В разделе 4.3 и 4.4 диссертант проводит глубокий биоинформатический анализ полиморфизма некоторых последовательностей, гомологичных *R*-генам. Произведен не только анализ нуклеотидных и аминокислотных последовательностей, но и структурный анализ возможных последствий детектированных полиморфизмов.

Несомненным достоинством работы является разработка оригинальных CAPS-маркеров для проверки гипотезы появления устойчивости к фитофторозу за счет аллели гена *Rpi-vnt1*. Разработанные молекулярные маркеры блестяще применены, в классическом генетическом эксперименте, являющемся, безусловно, украшением работы и демонстрирующем лучшие традиции Петербургской школы генетики.

Хотелось бы отметить масштабность исследования и значительный объем разноплановых работ, проведенный диссертантом. Объективность, строгость и критичность в обсуждении результатов экспериментов. Высокую точность и подробность в описании рабочих гипотез, условий экспериментов и результатов. Подобный подход в представлении материалов дает возможность глубоко обсудить работу и сильно облегчает продолжение исследований.

Диссертация хорошо проиллюстрирована, что облегчает восприятие материала. Выводы соответствуют поставленным задачам и согласуются с полученными результатами. Основные результаты работы представлены в 4 рецензируемых статьях, обсуждены на различных российских и международных конференциях.

Автореферат полностью отражает содержание диссертации.

Диссертационная работа А. А. Гуриной «Полиморфизм R-генов у примитивных культурных видов секции *PetotaDumort* рода *SolanumL.* », представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7 – Генетика, представляет собой законченное научное исследование, которое вносит существенный вклад в понимание фактических и функциональных полиморфизмов R-генов у примитивных культурных видов картофеля. Полученные данные представляют интерес для специалистов в области агробиологии, эволюционной биологии, генетики, селекции.

В целом, по актуальности проблемы и ценности полученных экспериментальных результатов работа А. А. Гуриной полностью отвечает требованиям, предъявляемым ВАК к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор, Гурина Алёна Алексеевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7 – Генетика.

Кандидат биологических наук

Богомаз Денис Игоревич

по специальности 03.00.15. Генетика,

доцент Института биомедицинских систем и биотехнологий

194021, Россия, Санкт-Петербург, Хлопина д.11

Телефон: +7 904 6367716

Email: bogomazden@mail.ru

02.04.2024

Подпись Богомаза Д.И. заверяю

