

## ОТЗЫВ

Официального оппонента Деревягиной М.К. на диссертацию  
Чижики Веры Константиновны «SSCP- анализ генов вирулентности  
возбудителя фитофтороза *Phytophthora infestans*», представленную на  
соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности  
03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнология)

Актуальность исследований определяется тем, что фитофтороз относится к числу наиболее вредоносных и широко распространенных болезней картофеля. Возбудитель - оомицет *Phytophthora infestans* обладает широкой генетической изменчивостью, обеспечивающей жизнеспособность в меняющихся условиях среды. Распространение в 80-х годах прошлого столетия 2-го типа совместимости A<sub>2</sub> во всех картофелеводческих странах мира обусловило возможность полового процесса, ведущего к значительному увеличению рекомбинационной изменчивости в естественных популяциях фитофторы и последующему формированию высокоагрессивных штаммов с новыми свойствами, в том числе устойчивых к системным фунгицидам и адаптивно штаммоспецифической устойчивости к контактными фунгицидами.

В связи с этим эпифитотии фитофтороза приобрели новые характеристики и стали отличаться быстротой, почти ежегодной, сменой генотипического состава полевых популяций.

В условиях интенсивной генетической изменчивости *Phytophthora infestans* основаны на генеративных рекомбинациях, наиболее эффективной защиты от фитофтороза является возделывание сортов с высокой степенью устойчивости.

В программе селекции на полевую устойчивость к фитофторозу контроль за R-генами в настоящее время не проводится, что обусловлено сложностью и трудоемкостью этого процесса. Для генотипирования линий *Phytophthora infestans* традиционно используют набор растений-дифференциаторов Мاستенброка-Блэка. Этот метод трудоемок и обладает существенными недостатками.

В работе Чижики В.К. был создан на основе Single-Strand Conformation Polymorphism (SSCP) анализа биотехнологический метод различения линий *Phytophthora infestans* по признаку полиморфизма Avr генов. Этот метод выявляет редкие варианты Avr генов, что важно при появлении новых патотипов *Phytophthora infestans*.

Автором были оптимизированы условия ПЦР для амплификации Avr генов *Phytophthora infestans*, валидирован метод SSCP – анализа для быстрого различения изолятов фитофторы на основе полиморфизма Avr генов, исследован полиморфизм Avr генов фитофторы на территории Российской Федерации и проведено сравнение состава Avr генов фитофторы с генами устойчивости у зараженных этими штаммами растений картофеля.

Значимость работы заключается в том, что автором доказана возможность применения SSCP – анализа для различения штаммов *Phytophthora infestans*, используя дескрипторы, основанные на первичном

строении *Avr* генов, т.е. тех участков генома патогена, которые непосредственно связаны с его вредоносностью.

Полученные результаты можно использовать для мониторинга популяций *Phytophthora infestans*, а эти данные можно учитывать при создании новых устойчивых к фитофторозу сортов картофеля.

Анализ материалов работы Чижик В.К. говорит о том, что автор осуществил большой объем исследований, проанализировал огромный экспериментальный материал, сделал по нему правильные выводы. В работе были применены новые подходы для изучения основных вопросов биологии фитопатогенного организма, что является в области биотехнологии редкостью в нашей стране.

Работа состоит из введения, трех глав, заключения, выводов и научно-практических рекомендаций. Она изложена на 158 страницах машинописного текста, включает 17 таблиц и 27 рисунков. Список цитированной литературы состоит из 190 источников, в том числе 181 зарубежных авторов. Работа написана литературным языком, хорошо оформлена.

Во введении В.К. Чижик достаточно обосновала общие направления своей работы, показала ее актуальность, новизну, теоретическую и практическую значимость. В работе использована литература только по теме диссертации.

В первой главе автор подробно излагает современное состояние вопроса. В частности, описывает биологию и систематику возбудителя фитофтороза, функции эффекторных белков, механизмы их распознавания в клетках, механизмы возникновения генов вирулентности *Avr 1*, *Avr 2*, *Avr 3a* и *Avr 3b*, *Avr 4*, *Avr 8*, *Avr – Smira 1*, *Avr – vnt 1*, *Avr blb1* и *Avr blb2*, модульные строения *R*-генов и молекулярные методы определения генетического разнообразия *Phytophthora infestans*.

Вторая глава посвящена изложению материалов и методов исследований.

В третьей главе автор излагает результаты исследований. Наиболее значимы из них следующие:

- метод SSCP – анализа позволяет оперативно определять различные варианты *Avr* генов;
- для оценки полиморфизма генов вирулентности был оптимизирован протокол SSCP – анализа. Это позволило провести первичный скрининг и отобрать только полиморфные образцы. Выявлены паттерны изучаемых генов;
- отмечены различия в аллельном составе для генов *Avr 2 – like*, *Avr 3a*, *Avr – Smira 1*, *Avr blb1* и *Avr blb2*;
- среди последовательностей *Avr* генов 52 охарактеризованы впервые.

Новые данные о полиморфизме *Avr* генов способствуют изучению эволюции *Phytophthora infestans* и, как следствие, возможности изучения преодоления устойчивости сортов картофеля. Полученную информацию можно использовать для характеристики вирулентности штаммов

фитофторы. Это позволит прогнозировать возникновение эпифитотий на определенных сортах.

Диссертация заканчивается выводами и рекомендациями.

Замечания по существу диссертации:

На стр. 6 автор пишет, что R - гены являются полигенной системы защиты растений. Однако, R – гены к полевой (полигенной, горизонтальной) устойчивости не относятся.

На стр. 15 автор пишет, что элиситоры стимулируют иммунный ответ растений, далее автор пишет, что они принимают участие в подавлении ответных иммунных реакций.

На стр. 73 автор указывает, что последовательность праймеров для гена Avt blb2 заимствована из литературных источников. Однако в таблице 5 отмечено, что праймеры были созданы автором.

Непонятен вывод автора, как результаты генов вирулентности «могут не только служить в качестве популяционных маркеров, но и непосредственно связаны с его патогенностью».

Однако перечисленные недостатки не имеют принципиального значения и не могут повлиять на положительную оценку рассматриваемой диссертации.

Основные результаты диссертации опубликованы. Автореферат содержит наиболее существенные положения диссертации и соответствует ее содержанию.

Диссертация В.К. Чижик представляет законченное исследование, посвященное SSCP – анализу генов вирулентности возбудителя фитофтороза, имеет теоретическое и прикладное значение, отличается актуальностью и новизной.

Оформление диссертационной работы в целом соответствует требованиям, предъявляемым ВАК Минобрнауки РФ. В целом работа соответствует положению о порядке присуждения ученых степеней ВАК, а ее автор В.К. Чижик достойна присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.06 – биотехнология (в т.ч. бионанотехнология).


Ведущий научный сотрудник лаборатории  
защиты растений ФГБНУ «ФИЦ картофеля  
имени А.Г. Лорха»



М.К. Деревягина

Подпись М.К. Деревягиной заверяю  
Зам. директора по науке ФГБНУ  
«ФИЦ картофеля имени А.Г. Лорха»



 Е.В. Овэс

13.07.2020