

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Чижик Веры Константиновны
«SSCP-анализ генов вирулентности возбудителя фитофтороза *Phytophthora infestans*»,
представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности
03.01.06 – Биотехнология (в том числе бионанотехнология)

Актуальность исследований. Фитофтороз картофеля, вызываемый оомицетом *Phytophthora infestans*, является одним из наиболее важных заболеваний картофеля. Прямые и сопутствующие глобальные экономические потери, связанные с этим патогеном, достигают нескольких миллиардов евро в год. Поскольку картофель относится к стратегическим сельскохозяйственным культурам, фитофтороз представляет собой значительную угрозу продовольственной безопасности населения. В связи с этим исследования, связанные с контролем данного патогена, включая типирование и оценку его потенциальной вредоносности, имеют огромное практическое значение, в частности, в сфере прогнозирования рисков, контроля распространения наиболее вредоносных штаммов и создания перспективных высокоустойчивых сортов картофеля.

Технологии типирования штаммов *P. infestans*, применяемые в настоящее время для оценки их потенциальной вредоносности, основаны на трудоемких и занимающих довольно много времени фитопатологических методах. В то же время молекулярно-биологические методы генотипирования, такие как анализ гаплотипов митохондриальной ДНК, RFLP и SSR, основаны на применении ДНК-маркеров полиморфных участков генома, никак не связанных с вредоносностью патогена. Таким образом, применяемые в настоящее время методики молекулярного анализа обеспечивают возможность проведения фундаментальных исследований в области эволюционных изменений и путей миграций штаммов патогена, но малополезны в важных прикладных аспектах, связанных с созданием устойчивых сортов картофеля, прогнозированием рисков и минимизацией связанных с фитофторозом потерь урожая.

Актуальность исследования заключается в том, что предложенный автором метод типирования, основанный на анализе участков генома *P. infestans*, напрямую связанных с его вирулентностью (гены вирулентности), позволяет получать информацию о патотипах *P. infestans*, их потенциальной вредоносности по отношению к используемым сортам картофеля, а также предсказывать возможные потери урожая и корректировать выбор сортов для культивирования с целью минимизации таких потерь.

Определенная соискателем **цель исследований** заключается в создании на основе SSCP-анализа (анализ полиморфизма конформаций одноцепочечной ДНК) простого и надежного метода генотипирования штаммов *P. infestans*, основанного на полиморфизме *Avr* генов вирулентности.

Научная новизна исследований. В настоящее время типирование штаммов *P. infestans* по их вирулентности традиционно проводится фитопатологическим методом с использованием набора растений-дифференциаторов Блэка. В данном исследовании автор впервые в мире использовал SSCP-анализ как метод для различения штаммов *P. infestans* и продемонстрировал их эффективность для выявления редких вариантов *Avr* генов. Несмотря на то, что в последние годы идентификация и характеристика *Avr* генов патогена является одной из активно развивающихся областей исследования за рубежом, распространение этих генов на территории России ранее не исследовали. Следовательно, полученные автором данные по присутствию и распространению этих генов в стране, а также их полиморфизму являются новыми. Наконец, в ходе диссертационного исследования были впервые выявлены и охарактеризованы 52 новые, ранее неизвестные вариации последовательности *Avr* генов, а также новые аллели для 9 этих генов.

Практическая значимость работы. Разработанная автором система генотипирования штаммов патогена на основе полиморфизма *Avr* генов позволяет различать штаммы по участкам генома, прямо связанных с уровнем его вредоносности, что, в свою очередь, обеспечивает возможность более точной оценки риска потерь урожая, а также минимизации возможных будущих потерь путем выбора для посадки сортов картофеля с генами устойчивости, не соответствующими генам вирулентности, представленным в локальной популяции патогена. Кроме того, полученные автором результаты могут быть использованы для мониторинга популяций *P. infestans*, а также в селекции фитофтороустойчивых сортов картофеля.

В ходе диссертационного исследования, автор выполнил ряд сложных и трудоемких задач с привлечением различных молекулярно-биологических методов анализа. Были подобраны (частью на основе литературных данных, частью самостоятельно) последовательности праймеров для 11 наиболее важных *Avr* генов и оптимизированы условия полимеразной цепной реакции для них. Был разработан и валидирован метод SSCP-анализа генов вирулентности *P. infestans*. Применение

