

**ОТЗЫВ официального оппонента**  
**на диссертацию на соискание ученой степени кандидата биологических наук Боровковой Алены Николаевны на тему: «МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ КУЛЬТУРНЫХ И ПРИРОДНЫХ ДРОЖЖЕЙ РОДА *SACCHAROMYCES*» по специальностям 1.5.18. Микология и 1.5.7. Генетика**

На протяжении очень длительного времени человек использует дрожжи. Самый древний способ применения этих микроорганизмов – ферментация в процессе изготовления пищевых продуктов. Сейчас сахаромицеты занимают одно из первых мест как в списке дрожжей, применяемых в пищевой промышленности, так и в других областях биотехнологии, однако, их биотехнологический потенциал практически неисчерпаем, и до сих пор перспективным является поиск штаммов-сахаромицетов, обладающих важными для их использования характеристиками. Дрожжи также являются излюбленным объектом генетиков и микробиологов, работающих в области фундаментальных научных исследований. Проводимые ими работы актуальны и значимы в перечисленных выше областях знания. К таким работам следует отнести диссертацию Боровковой Алены Николаевны.

Может показаться удивительным, но до настоящего времени очень мало известно о пектинолитической активности большинства видов *Saccharomyces*, а их гены, кодирующие ферменты полигалактуроназы, остаются малоизученными. Следует сразу отметить, что в процессе написания работы автор в тексте применяет к изучаемым ферментам то термин пектиназы, то полигалактуроназы. В каждом случае обоснованность того или иного термина неочевидна и встает вопрос: для чего потребовалось такое «разнообразие» и не вносит ли оно ненужную неопределенность в формулировки? Справедливости ради скажу, что в обзоре литературы есть раздел, посвященный и пектиновым веществам растений и эндо-полигалактуроназам дрожжей *Saccharomyces* (Глава 3 и, в частности, раздел

3.3.). Тем не менее, и в этом разделе речь постоянно идет только о пектинолитической активности.

Многое автором диссертации сделано впервые, в частности: впервые в России обнаружен вид *S.jurei*, филогенетический анализ показал, что этот вид вид *S. jurei* наиболее близок виду *S.mikatae*. В комплексном виде *S. bayanus* обнаружены дивергентные популяции, отличающиеся по молекулярным маркерам. Между *S. bayanus var. bayanus*, *S. bayanus var. uvarum*, *S. eubayanus*, новозеландской и западнокитайской популяциями нет полного запрета на скрещивание и они относятся к одному биологическому виду, обладая дивергенцией геномов в пределах вида. Впервые, в результате представительного скрининга пектинолитической активности, у дрожжей *Saccharomyces* обнаружен значительный внутри- и межвидовой полиморфизм этого признака. Выявлены виды с наибольшей пектинолитической активностью (виды *S. bayanus* и *S.paradoxus*). Продемонстрировано, что дрожжи *S. arboricola*, *S. cariocanus*, *S. cerevisiae*, *S. kudriavzevii* и *S. paradoxus* обладают только одним геном PGU, расположенным в хромосоме X. У ряда видов обнаружены полимерные гены PGU при хромосомной локализации на разных хромосомах. **Проделана впечатляющая по объему и тщательности выполнения работа. Новизна полученных данных не вызывает сомнения.** В то же время формулировки, используемые автором при описании своей работы, не всегда корректны, наиболее применимым словом, которым можно охарактеризовать сказанное является слово «небрежность». Так например, фраза на стр. 10 диссертации : «Впервые проведен сравнительный анализ нуклеотидных и аминокислотных последовательностей генов PGU у всех видов рода *Saccharomyces*.» вызывает вопросы ВСЕ ли виды рода *Saccharomyces* были изучены и есть ли аминокислотная последовательность у генов....?

Вызывает сожаление весьма скромная оценка автором практической значимости своей работы. По этому вопросу Алена Николаевна пишет: «Обнаружены штаммы *S. cerevisiae*, *S. bayanus* и *S. paradoxus*, секретирующие

активную эндо-полигалактуроназу и представляющие интерес для дальнейших исследований и селекционных работ с винными дрожжами.» На мой взгляд, можно заключить, что проведено объемное **научное исследование** **теоретическая** и, особенно хотелось бы отметить, **практическая значимость которого высока**. Полученные результаты могут являться основой для базы данных, полезных при любых работах с дрожжами в области пищевой промышленности.

Сказанное без сомнения позволяет определить диссертационную работу Боровковой Алены Николаевны как **актуальное исследование новизна и значимость которого велика как в области генетики, так и в области микробиологии**.

Работа построена по традиционному плану и состоит из следующих разделов: «Введение», «Обзор литературы», экспериментальной части, включающей «Материалы и методы», «Результаты и обсуждение», «Заключение», «Выводы» и «Список литературы», есть раздел «Приложение». Материалы изложены на 214 страницах, содержат 36 рисунков и 4 таблицы.

Список литературы включает 282 источника. К сожалению отсутствует раздел «Список сокращений», что затрудняет чтение работы.

В целом работа читается с интересом, во всем чувствуется интерес автора к своему исследованию. Тем не менее, текст не лишен некоторых стилистических недостатков. Примером может служить фраза на стр.7 диссертации: «Практически нечего не известно о пектинолитической активности остальных видов *Saccharomyces*, а их пектиназные гены ранее не изучались.»

Обзор литературы в достаточной степени освещает современное состояние исследований по теме диссертации и вводит читателя в круг проблем, стоящих перед автором, позволяя лучше понять логику работы. Следует отметить весьма полное цитирование работ выдающегося отечественного исследователя Г.И. Наумова, в частности, его статьи «Естественное разнообразие дрожжей – неисчерпаемый генофонд для

фундаментальных и прикладных разработок.»

Ознакомление с методическим разделом работы убеждает в высокой достоверности полученных автором результатов. В работе были применены как классические, так и самые современные методы генетики и микробиологии.

Раздел, в котором описаны результаты исследования, представляет объемное, подробно описанное и хорошо иллюстрированное исследование, убеждающее читателя в том, что **степень обоснованности научных положений и выводов, сделанных автором**, весьма высоки. В тексте отражается увлеченность автора своим исследованием и его высокий профессионализм, глубокие знания и умение анализировать полученные результаты и сопоставлять их с опубликованными ранее. Тем не менее, и в этом разделе встречаются неудачные обороты и формулировки. Так например, в разделе 4.2.2. «Определение пектинолитической активности» написано «Суточные культуры дрожжей уколом микробиологической петли высевали на среду..... Культивировали при 28°C в течение 3 суток, затем выросшие колонии дрожжей смывали дистиллированной водой и визуализацию производили .....». Микробиологическая петля, как следует из названия инструмента, плохо предназначена для операции «укол». Отсюда встает вопрос: сколько клеток в процессе такого посева переносил исследователь? И еще – как контролировали интенсивность роста различных культур ( 3 суток, согласно текста)? Не могут ли быть связаны различия в активности с этим параметром? И далее указано: «Для каждого штамма были проведены два независимых эксперимента.» для статистической обработки данных эксперимента, поставленного в таком формате лучше было бы 3 повтора.

Положительное впечатление производит написанный автором раздел заключение. В совокупности со сделанными выводами он позволяет утверждать, что все поставленные задачи выполнены в полном объеме. Сами

выводы адекватны полученным результатам. Отдельно следует отметить, как достижение, тщательно выполненную и описанную экспериментальную часть работы по изучению вида дрожжей *Saccharomyces bayanus*. Этот комплексный вид охарактеризован с помощью методов молекулярной и классической генетики, обнаружены две его дивергентные популяции (новозеландская и западнокитайская), описаны их отличия. Сделан вывод о том, что указанные популяции относятся к одному биологическому виду *S. bayanus* при наличии дивергенции геномов в пределах вида.

Очень хорошо, четко и емко сформулирована цель работы. Задачи, поставленные перед исследователем выполнены и результаты отражены в выводах. **Выводы адекватны полученным результатам.** Несколько более многословные и не всегда логично сформулированные положения, выносимые на защиту в конечном итоге вписываются в канву работы. В первую очередь сказанное следует отнести к положению 4.

В целом суммируя сказанное, можно заключить, что работа Боровковой Алены Николаевны «МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ КУЛЬТУРНЫХ И ПРИРОДНЫХ ДРОЖЖЕЙ РОДА *SACCHAROMYCES*» заслуживает высокую оценку.

Публикационная активность автора на хорошем уровне, но анализ полученных результатов свидетельствует о том, что потенциал работы не исчерпан и можно ожидать новых публикаций, в том числе и в журналах с высоким рейтингом как отечественных, так и международных.

Автореферат изложен на 22 страницах, хорошо и достаточно полно отражает содержание диссертационной работы. Все результаты диссертационной работы Алены Николаевны Боровковой опубликованы в 12 печатных работах, в том числе шести статьях в рецензируемых журналах, индексируемых в международных базах данных Scopus и/или Web of Science, а также были доложены автором на семи конференциях: четырех российских и трех международных.

Указанные в отзыве замечания не умаляют значимости диссертационного исследования. Диссертация Боровковой А.Н. отвечает всем требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В. Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует специальностям 1.5.18. Микология (по биологическим наукам) и 1.5.7. Генетика (по биологическим наукам), а также критериям, определенным пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В. Ломоносова, а также оформлена согласно требованиям Положения о совете по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова.

Таким образом, соискатель Боровкова Алена Николаевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 1.5.18. Микология и 1.5.7. Генетика.

**Официальный оппонент:**

Доктор биологических наук,  
Ведущий научный сотрудник кафедры молекулярной биологии  
биологического факультета ФГБОУ ВО «Московский государственный  
университет имени М. В. Ломоносова»,

Калебина Татьяна Сергеевна \_\_\_\_\_

06 мая 2024 г.

**Контактные данные:**

Тел.: \_\_\_\_\_, e-mail: \_\_\_\_\_  
Адрес места работы: 119234, г. Москва, ул. Ленинские горы, 1, стр. 12.  
ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В.  
Ломоносова», биологический факультет, кафедра молекулярной биологии

**Специальность, по которой официальным оппонентом защищена  
диссертация:**

03.00.03 – Молекулярная биология

Подпись сотрудника ФГБОУ ВО «Московский государственный  
университет имени М.В.Ломоносова» Т.С. Калебиной удостоверяю:  
Ученый секретарь биологического факультета  
ФГБОУ ВО «Московский государственный  
университет имени М.В.Ломоносова»

Е.В. Петрова