

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА  
на диссертационную работу Сулимы Антона Сергеевича «Характеристика гена *LycX*, определяющего специфичность взаимодействия гороха посевного (*Pisum sativum* L.) с клубеньковыми бактериями *Rhizobium leguminosarum*»,  
представленную на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – генетика

Генетическая регуляция процессов развития растений является одной из наиболее важных проблем современной биологии. Проблема симбиотической азотфиксации находится на стыке генетики развития растений, экологической и эволюционной генетики, не говоря уже об очевидном прикладном значении результатов исследований в этой области. Тема диссертационной работы А.С. Сулимы находится как раз в поле симбиогенетики. По мнению оппонента, этого достаточно для того, чтобы подчеркнуть актуальность тематики исследования.

Говоря о методических аспектах представленной работы, необходимо отметить, насколько гармонично в ней взаимодействуют подходы «прямой» и «обратной» генетики. Скрининг коллекции в поисках интересующего «афганского» фенотипа и тесты на аллелизм логично сочетаются с поиском мутаций в гене-кандидате с помощью метода TILLING. Представленная диссертационная работа – это исследование именно в области генетики, усиленное за счёт удачного применения инструментов биоинформатики и геномики.

Адекватность выбранных методов и достоверность полученных результатов не вызывают сомнений. Дополнительным подтверждением этому служит тот факт, что основные результаты исследования были опубликованы в очень серьёзных рецензируемых международных журналах – в том числе *Frontiers in Plant Science*, одном из самых авторитетных изданий в области наук о растениях. Результаты работы также были представлены на международных конференциях. Выполненные на современном уровне исследования по симбиогенетике с использованием гороха посевного в качестве модельного объекта – черта профессионального стиля лаборатории, к сотрудникам которой принадлежит соискатель. Можно уверенно утверждать, что эта лаборатория – в числе мировых лидеров в обсуждаемом направлении исследований.

Хотелось бы по возможности избежать привычной для подобных отзывов каталогизации и перечисления разделов работы с конспектированием их содержания. Текст построен по традиционному плану и обращает на себя внимание ясным стилем изложения. В целом при прочтении диссертационная работа производит хорошее впечатление.

Соискателем получены новые и очень ценные результаты. Впервые охарактеризован на молекулярном уровне ген, ответственный за формирование «афганского» фенотипа. Показано, что существует два источника узкой специфичности симбиоза – «афганский» и «таджикский» аллели. При декларированной скромности и кажущейся локальности поставленных задач полученные результаты имеют большое значение для понимания генетической регуляции симбиогенеза у гороха и Бобовых в целом.

Было бы интересно расширить спектр видов, у которых изучена последовательность гена *LycX*, за счёт других представителей трибы Виковых. Напрашивается, к примеру, включение в сравнение рода *Vavilovia*, у которого достаточно детально охарактеризован спектр симбиотических видов бактерий. Возможно, обращение к филогенетическому

аспекту «афганского» фенотипа помогло бы решить вопрос о древности различных аллелей гена *lykX*.

В работе нет существенных недочётов, которые ставили бы под сомнение достоверность и значимость полученных результатов. Однако, при прочтении возникает несколько вопросов, на которых хотелось бы остановиться.

1. Почему в таблице 1 отсутствуют сведения о странах происхождения некоторых образцов? По крайней мере, линия SGE имеет документированную родословную (Kosterin O.E., Rozov S.M. (1993) Mapping of the new mutation *blb* and the problem of integrity of linkage group I. *Pisum Genet.* 25: 27-31).

2. Почему сравнение последовательностей гена *lykX* и его белкового продукта проведено с предполагаемыми ортологами только из геномов *Arabidopsis*, люцерны и лядвенца? К настоящему времени получены полногеномные последовательности целого ряда представителей других родов Бобовых (*Cajanus*, *Arachis* и др.), которые можно было бы привлечь к сравнению.

3. Не совсем понятно, как установили, что у мутантов *lykX* «в тех случаях, когда нить развивалась нормально, инфекция приводила к формированию зрелых функциональных клубеньков» (с. 87-88). Применённая автором методика не характеризует процесс инфицирования в динамике, а фиксирует его в определённый момент времени. Можно ли в этом случае судить о том, какая доля инфекционных событий (даже при условии нормального формирования инфекционной нити) завершается образованием полноценных клубеньков?

4. С чем соискатель связывает свойство мутантов по гену *lykX* инициировать больше инфекционных событий (рисунок 20)? В тексте это остаётся без явного объяснения.

5. Как можно объяснить тот факт, что гибриды F<sub>1</sub> от скрещиваний 1645 × 3821 и 1645 × 2150 всё же сформировали в эксперименте клубеньки?

6. Можно ли отсутствие разнообразия среди «афганских» аллелей интерпретировать не как признак эволюционной древности этого варианта (как это сделано на с. 98), а, напротив, как результат сравнительно недавнего однократного мутационного события?

7. Как соотносятся друг с другом таблицы 1 и 6 приложения? Почему для отбора носителей нового аллеля и его молекулярной характеристики использованы разные коллекционные образцы?

Немногочисленные замечания касаются преимущественно стилистической стороны текста.

1. Концентрация ссылок на источники материала в некоторых местах обзора кажется недостаточно высокой. Так, на с. 29 содержится информация о киназе CERK1 у *Arabidopsis thaliana*, не подкреплённая ссылкой напрямую. Аналогично на с. 30 остаётся неизвестным источник тезиса о том, что «геномы бобовых могут содержать более 10 генов *LysM-RLK*». Вероятно, материал рисунков 1 и 2 не является оригинальным результатом работы. Уместно процитировать источники, из которых были получены изображения (или указать редактор, с помощью которого они были созданы самостоятельно).

2. Не очень просто воспринимается значительная часть обзора литературы, посвящённая молекулярным механизмам взаимодействия бактерий и растений (с. 31-33).

Было бы логично перенести рисунок 4 непосредственно в это обсуждение или хотя бы дать больше отсылок к нему.

3. Необычно – особенно в контексте защиты диссертации в стенах ВПР, – что тезис о центрах доместикации, истории окультуривания гороха и его значении для древних цивилизаций Ближнего Востока и Средиземноморья подкреплён ссылкой на работу Petr Smýkal с соавторами 2011 года.

4. Некоторые предложения не очень просты для чтения. В большинстве случаев авторскую точку с запятой хочется заменить на точку.

5. Рисунок 12 в основном тексте и рисунок 1 в приложении практически не читаются; следовало отобразить синтенные районы отрезками сходной длины. Однотипные рисунки оформлены по-разному – например, различается стиль представления выравниваний на рисунках 6 и 13.

6. В тексте есть небольшое количество опечаток (в том числе искажающих смысл – например, на с. 50 автор почти наверняка имел в виду сорт Рамонский 77, а не Раменский 77) и стилистически неудачных решений (например, возвратный постфикс в главе «Материалы и методы»). Некоторые формулировки представляют собой кальку с английского – например, «ген интереса» (с. 83) и особенно «фрагмент интереса» (с. 58). При цитировании англоязычных статей с несколькими авторами употреблено и «и др.», и «et al.».

Разумеется, перечисленные недочёты не умаляют общей – весьма высокой – ценности представленной диссертационной работы, которая представляет собой законченное исследование, выполненное на высоком методическом уровне. Заданные соискателю вопросы носят характер дискуссии.

Можно резюмировать, что работа А.С. Сулимы «Характеристика гена *LykX*, определяющего специфичность взаимодействия гороха посевного (*Pisum sativum* L.) с клубеньковыми бактериями *Rhizobium leguminosarum*» представляет собой завершённую работу высокого уровня, которая целиком удовлетворяет требованиям «Положения о порядке присуждения учёных степеней», утверждённого Постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24.09.2013 г. Автор работы, Сулима Антон Сергеевич, заслуживает присуждения искомой учёной степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – генетика.

Официальный оппонент

канд. биол. наук по специальности 03.02.07 – генетика, без учёного звания,  
доцент кафедры генетики, Федеральное государственное бюджетное  
образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный  
университет имени М.В.Ломоносова», биологический факультет  
119234 Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12  
E-mail: asinjushin@mail.ru  
Телефон: +79037412842

02.09.2020

Синюшин Андрей Андреевич

подпись руки к.б.н. А.С. Синюшина  
д.б.н. Виноградского  
академии А.М. Куришнев



неб