

**Отзыв официального оппонента Проворова Николая Александровича
на диссертацию Хафизовой Галины Васильевны
“Особенности организации клеточной Т-ДНК у представителей рода *Nicotiana* L.”,
представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по
специальности 03.02.07 – Генетика**

Актуальность темы

Диссертация Г.В. Хафизовой посвящена актуальной проблеме изучения горизонтального переноса генов между прокариотами и эукариотами. Одной из наиболее эффективных систем ГПГ является агротрансформация, в которой участок бактериального генома (Т-ДНК) переносится в растения, превращаемые таким образом в источники используемых микросимбионтами питательных веществ – опинов. Одним из результатов этого переноса является возникновение природно-трансгенных растений, у которых перенесенные от бактерий гены стали частью собственного генома (клТ-ДНК). Механизмы возникновения таких растений, как и функции, выполняемые клТ-ДНК, остаются неясными. Поэтому работа Г.В. Хафизовой, направленная на изучение структурно-функциональной организации клТ-ДНК у представителей рода *Nicotiana*, является актуальной.

Научная новизна работы не вызывает сомнений, так как автором впервые получены полные последовательности ряда генов, входящих в состав клТ-ДНК *N. noctiflora*. В геноме этого вида выявлены множественные копии клТ-ДНК, изучена их экспрессия в различных частях растений. Впервые охарактеризован межсортовой полиморфизм клТ-ДНК в пределах вида *N. tabacum*.

Значимость работы

Полученные результаты имеют несомненную значимость в области молекулярной генетики и биотехнологии, так как определенные автором полные последовательности геномов коммерчески значимых форм *Nicotiana* могут быть использованы в фарминдустрии и биотехнологии для выяснения механизмов синтеза растениями ценных вторичных метаболитов. Результаты анализа полиморфизма клТ-ДНК, в частности, данные об изменчивости по наличию вставки ТА, могут быть использованы для паспортизации коммерчески значимых линий, а также в генно-инженерных программах для оценки экологических последствий введения чужеродных генов в растения.

Основное содержание

Диссертационная работа изложена 112 стр., состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов и обсуждения, заключения и выводов. Рукопись содержит 4 таблицы и 25 рисунков. Список литературы содержит ссылки на 211 источников, из них только 3 на русском языке, чего явно недостаточно. В частности, в обзоре литературы было бы полезно процитировать статью А.С. Курбидаевой и М.Г. Новокрещёновой “Соматоклональная изменчивость трансгенных растений *Nicotiana tabacum*” (Вестн. МГУ, сер. 16. биол. 2011. № 3), которая непосредственно связана с темой исследований автора. В то же время, знакомство с обзором литературы показывает, что автор подробно ознакомился с работами своих предшественников, способен критически оценивать данные литературы и извлекать из них информацию, полезную для организации собственных исследований.

В обзоре литературы подробно рассмотрены данные о ботаническом и генетическом разнообразии рода *Nicotiana*, а также об организации клТ-ДНК у разных его представителей. На наш взгляд, в этот раздел было бы целесообразно включить данные об особенностях штаммов *Agrobacterium*, инфицирующих *Nicotiana*, об организации у этих штаммов Т-ДНК, а также о влиянии агротрансформации табака на его развитие и физиологию. Это позволило бы конкретизировать обсуждаемые автором гипотезы о происхождении природно-трансгенных форм табака и об их адаптивных свойствах.

Раздел “Результаты” содержит хорошо структурированное изложение экспериментальных данных, которые обработаны с использованием методов вариационной статистики, в связи с чем достоверность делаемых автором выводов не вызывает сомнений. В то же время, по этому разделу у оппонента возник ряд комментариев и вопросов.

1. На стр. 12 автореферата говорится о том, что гены, входящие в состав клТ-ДНК *N. noctiflora*, имеют гомологов у *Agrobacterium rhizogenes* и *A. tumefaciens*, тогда как в таблице 1 (табл. 4 диссертации) представлены только гомологи *A. rhizogenes*.
2. На стр. 13 автореферата высказывается предположение о том, что природно-трансгенные растения могут синтезировать опиины, которые препятствуют повторной трансформации растений агробактериями, тогда как выше (стр. 12) приводятся данные о том, что двойные вставки клТ-ДНК возникали в результате коинфекций растений различными штаммами агробактерий.
3. Утверждение о том, что у видов *N. noctiflora* и *N. glauca* вставки клТ-ДНК возникли в результате независимых актов трансформации (стр. 11 автореферата), является, на наш взгляд, недостаточно обоснованным, т.к. независимая трансформация двух

разных видов растений одним и тем же (или очень сходными) штаммами агробактерий маловероятна.

Выводы полностью отражают экспериментальные данные и результаты их статистического анализа, в связи с чем корректность выводов не вызывает сомнений. О высокой достоверности представленных данных говорит использование автором широкого арсенала современных молекулярно-генетических методов, а также высокотехнологичного оборудования.

В то же время, необходимо отметить, что выводы излишне краткие и недостаточно полно отражают существенные аспекты работы. Так, в выводах было бы целесообразно отметить разные уровни экспрессии генов, входящих в состав клТ-ДНК, в частности активную экспрессию гена *asc* в надземных органах. Также важно отметить, что делеция ТА не коррелирует с внутривидовой классификацией табака.

Обсуждая диссертацию в целом, необходимо отметить, что важным ее достоинством является то, что представленная автором работа открывает широкие перспективы для дальнейших исследований, направленных на изучение ГПГ между про- и эукариотами. Например, изучение структуры клТ-ДНК создает возможность для получения мутантных форм растений, у которых эта ДНК утрачена или инактивированы отдельные гены, входящие в ее состав.

Изучение экспрессии генов клТ-ДНК в различных частях растений предполагает возможность выявления белковых продуктов этих генов и анализа их участия в ростовых и метаболических процессах.

Изучение полиморфизма (выявление низкого полиморфизма) клТ-ДНК у разных сортов табака говорит о возможности выявления эколого-генетических факторов, которые сдерживают диверсификацию, например, стабилизирующего отбора.

Хотелось бы узнать мнение диссертанта о возможности проведения на основании результатов диссертации дальнейших исследований, которые позволят продвинуться в понимании природы генетической интеграции растений и бактерий в процессе их тесного симбиотического взаимодействия.

Заключение


Представленное в диссертации Г.В. Хафизовой исследование выполнено на высоком научно-методическом уровне и соответствует современным мировым стандартам в области молекулярной генетики. Обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций,

сформулированных в диссертации, не вызывает сомнений. Сделанные замечания носят редакционный и рекомендательный характер, они касаются главным образом формы представления результатов, не затрагивая сути основных положений диссертации. Полученные автором экспериментальные данные представлены в виде научных статей в рецензируемых журналах перечня ВАК, в том числе подготовлены 3 публикации в журналах, индексируемых в Web of Science и Scopus, что говорит о возможности поддержки исследований автора отечественными и международными научными фондами.

Автореферат полностью отражает содержание диссертации.

Таким образом, диссертационная работа Хафизовой Галины Васильевны “Особенности организации клеточной Т-ДНК у представителей рода *Nicotiana* L.” соответствует критериям пп. 9-14 “Положения о порядке присуждения ученых степеней”, утвержденного постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842 (ред. от 01.10.2018 г.) и представляет собой завершённую научно-квалификационную работу, а ее автор Г.В. Хафизова заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – Генетика.

Директор Федерального государственного бюджетного научного учреждения
Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной
микробиологии, доктор биологических наук по специальности 03.00.15 – Генетика

Николай Александрович Проворов 
196608, С.-Петербург, Пушкин, ш. Подбельского, д. 3,
+7-812-470-51-00, provorovnik@yandex.ru

Подпись Н.А. Проворова верна. Нач. отдела кадров ФГБНУ ВНИИ
сельскохозяйственной микробиологии М.А. Ковалевская
11 июля 2022 г.

