

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 24.1.235.01, СОЗДАННОГО НА БАЗЕ
ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО НАУЧНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ
«ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР ВСЕРОССИЙСКИЙ ИНСТИТУТ
ГЕНЕТИЧЕСКИХ РЕСУРСОВ РАСТЕНИЙ имени Н.И. ВАВИЛОВА» (ВИР) МИНИСТЕРСТВА
НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ, ПО ДИССЕРТАЦИИ НА
СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 22 мая 2024 г. № 8

о присуждении **Ефремову Глебу Ильичу**, гражданину Российской Федерации, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Анализ структурных и регуляторных генов биосинтеза каротиноидов у культивируемых и дикорастущих видов *Solanum* секции *Lycopersicon*», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности: 1.5.7. Генетика, принята к защите 19 марта 2024 г, протокол № 4, диссертационным советом 24.1.235.01 на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова» (ВИР) Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (190031, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, д. 42,44), приказ о создании №482/нк от 22 марта 2023 г.

Соискатель **Ефремов Глеб Ильич**, 3 июля 1995 года рождения, в 2019 г. освоил с отличием основную образовательную программу высшего образования по направлению подготовки 35.04.04 «Агрономия» в Федеральном Государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева» с присвоением квалификации «Магистр». В 2023 г. окончил аспирантуру в Федеральном государственном учреждении «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук» (ФИЦ Биотехнологии РАН) по направлению подготовки 06.06.01 «Биологические науки» с присвоением квалификации «Исследователь. Преподаватель-исследователь». Справка о сдаче кандидатского экзамена по направлению подготовки 06.06.01 «Биологические науки», профиль 1.5.3. Молекулярная биология выдана 24 января 2024 г., о сдаче кандидатского экзамена по специальности 1.5.7. Генетика выдана 14 августа 2023 г.

Диссертация выполнена в 2019-2023 гг. в лаборатории системной биологии растений Института биоинженерии имени К.Г. Скрябина ФИЦ Биотехнологии РАН. В период подготовки диссертации **Ефремов Г.И.** работал в должности младшего научного сотрудника. Научный руководитель – д.б.н. профессор **Кочиева Елена Зауровна**, зав. лаб. системной биологии института биоинженерии имени К.Г. Скрябина ФИЦ Биотехнологии РАН.

Официальные оппоненты: д.б.н., профессор **Потокина Елена Кирилловна**, профессор кафедры почвоведения и лесных культур института леса и природопользования ФГБУ ВО «Санкт-Петербургский государственный лесотехнический университет имени С.М. Кирова», к.б.н. **Дивашук Михаил Георгиевич**, заведующий лабораторией прикладной геномики и частной селекции сельскохозяйственных растений ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии».

Ведущая организация - Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук» (ИЦиГ СО РАН) в своем положительном отзыве, подписанном д.б.н. **Леоновой Ириной Николаевной**, зав. лабораторией биофортификации пшеницы, в.н.с. ИЦиГ СО РАН, и утвержденном академиком РАН д.б.н. **Кочетовым Алексеем Владимировичем**, директором ИЦиГ СО РАН указала, что работа **Ефремова Г.И.** соответствует требованиям пп. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. №842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, а ее автор **Ефремов Г.И.** заслуживает присуждения ученой степени к.б.н. по специальности 1.5.7. Генетика.

Соискатель имеет 12 опубликованных работ по теме диссертации, общим объемом 6,9 п.л., в том числе 7 статей в журналах, индексируемых Web of Science, Scopus и рекомендованных ВАК РФ. В диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных соискателем ученой степени работах. В публикациях изложены результаты исследований, выполненных при непосредственном участии автора.

Наиболее значительные научные работы по теме диссертации:

1. **Efremov, G. I.** Differential regulation of phytoene synthase *PSY1* during fruit carotenogenesis in cultivated and wild tomato species (*Solanum* section *Lycopersicon*) / **G. I. Efremov**, M. A. Slugina, A. V. Shchennikova, E. Z. Kochieva // *Plants*. – 2020. – Т. 9. – № 9. – С. 1-25.
2. **Efremov, G. I.** Characterization of 15-cis- ζ -carotene isomerase z-iso in cultivated and wild tomato species differing in ripe fruit pigmentation / **G. I. Efremov**, A. V. Shchennikova, E. Z. Kochieva // *Plants*. – 2021. – Т. 10. – № 11. 2365.
3. **Efremov, G. I.** Characterization of RIN isoforms and their expression in tomato fruit ripening / M. A. Slugina, **G. I. Efremov**, A. V. Shchennikova, E. Z. Kochieva // *Cells*. – 2021. – Т. 10. – № 7.
4. **Ефремов, Г. И.** Влияние содержания каротиноидов и активности гена каротиноид-цис-транс-изомеразы *crtiso* на окраску плода томата / **Г. И. Ефремов**, Е. А. Джос, А. А. Ашихмин, Е. З. Кочиева, А. В. Щенникова // *Физиология Растений*. – 2022. – Т. 69. – №4. – С. 352-362.
5. **Ефремов, Г. И.** Сравнительная характеристика генов 9-цис-эпоксикаротиноид-диоксигеназ *SLNCED1* и *SLNCED2* в процессе развития и созревания плода томата / **Г. И. Ефремов**, А. А.

Ашихмин, А. В. Щенникова, Е. З. Кочиева // Физиология растений. – 2023 г. – Т. 70. – №2. – С. 171-180.

6. **Ефремов, Г. И.** Функциональная диверсификация каротиноид-цис-транс-изомераз *CRTISO*, *CRTISO-L1* и *CRTISO-L2* у видов томата (*Solanum* секция *Lycopersicon*) / **Г. И. Ефремов, А. В. Щенникова, Е. З. Кочиева** // Доклады Академии Наук. – 2023. – Т. 508. – №1. – С. 9-13.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обоснован их компетентностью в теме исследования и сделан с их согласия.

На диссертацию и автореферат поступило 11 отзывов, их прислали:

к.б.н. **Воронько Ольга Евгеньевна**, в.н.с. лаборатории анализа постгеномных данных ФГБНУ «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича»;

д.б.н. доцент **Голденкова-Павлова Ирина Васильевна**, руководитель лаборатории функциональной геномики, в.н.с. ФГБУН «Институт физиологии растений имени К.А. Тимирязева»;

к.б.н. **Дмитриев Алексей Александрович**, в.н.с. зав. лабораторией сравнительной геномики и транскриптомики ФГБУН «Институт молекулярной биологии имени В.А. Энгельгардта» РАН;

д.с.х.н. **Домблидес Артур Сергеевич**, г.н.с., зав. лабораторией генетики и цитологии ФГБНУ «Федеральный научный центр овощеводства»;

д.б.н. **Калашникова Елена Анатольевна**, проф. кафедры биотехнологии ФГБОУ ВО «РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева» и к.б.н. **Киравосян Рима Нориковна**, доцент кафедры биотехнологии ФГБОУ ВО «РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева»;

д.б.н. **Корниенко Игорь Валерьевич**, г.н.с. лаборатории палеогеографии ФГБУН «Федеральный исследовательский центр Южный научный центр РАН»;

д.б.н., член-корр. РАН **Кудрявцев Александр Михайлович**, зав. лабораторией генетики растений ФГБУН «Институт общей генетики имени Н.И. Вавилова РАН»;

к.б.н. **Мартиросян Юрий Цатурович**, в.н.с. зав. лабораторией биохимической физики и инженерии метаболизма растений ФГБУН «Институт биохимической физики имени Н.М. Эмануэля РАН»;

д.б.н. **Хатефов Эдуард Балилович**, в.н.с. ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР)»

-д.б.н. **Шарипова Маргарита Рашидовна**, профессор каф. микробиологии, научный руководитель научно-исследовательской лаборатории «Агробιοинженерия» Казанского (Приволжского) Федерального университета;

д.б.н. профессор РАН **Шилов Илья Александрович**, зав. лаб. анализа геномов Всероссийского научно-исследовательского института сельскохозяйственной биотехнологии.

Все отзывы положительные. В них указано, что автореферат диссертации отвечает требованиям ВАК, а ее автор достоин присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7. «Генетика». Есть ряд вопросов, замечаний и пожеланий.

В отзыве д.б.н. **Голденковой-Павловой И. В.** два вопроса:

1. Вся ли коллекция томатов (48 образцов) была использована для решения задач проведенного исследования? Поскольку, исходя из данных автореферата, биохимическая характеристика состава каротиноидов в листьях проведена для 9, в плодах – для 11 образцов; определение генов-гомологов фитоинсинтазы *PSY1* проведено на 9 образцах; идентификация и структурно-филогенетическая характеристика генов-гомологов 15 цис-зета каротинизомеразы *Z-ISO* - на 9 дикорастущих видах и 12 сортах томата, для идентификации и структурно-филогенетической характеристики генов-гомологов каротин-*cis-trans*-изомераз *CrtISO* и 9-*цис*-эпоксикаротиноид-диоксигеназ *NCED1* и *NCED2* использовано 5 образцов; экспрессия регуляторного гена *RIN* и его генов-мишеней исследована на 4 образцах. Не ясно на основании каких соображений соискатель выбирает те или иные образцы для решения каждой из поставленных задач?

2. Соискатель в заключительной части пятого вывода указывает «Предложен возможный сценарий эволюционных преобразований, способствовавший возникновению красноплодных видов томата». Тем не менее, в тексте автореферата суть эволюционных преобразований не описана. Известно ли какие эволюционные изменения произошли, которые и приводят к активации (а может репрессии) транскрипции генов в плодах красноплодных или зеленоплодных образцов?

И замечание о частой подмене термина «транскрипция» на термин «экспрессия», как в тексте работы, так и в подписях к рисункам: «Транскрипция – важный этап экспрессии генов, но не единственный биологический процесс, определяющий преобразование наследственной информации от гена в функциональный продукт, прежде всего белок. Экспериментально доказано, что регуляция экспрессии проходит и на уровне трансляции, и корреляция между уровнем транскрипции и трансляции не высокая. Хотелось бы знать мнение диссертанта по этим вопросам?».

В отзыве к.б.н. **Дмитриева А.А.** сделаны замечания по качеству некоторых рисунков, сложности прочтения представленного на них текста.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

- расширены и дополнены представления о биосинтезе каротиноидов в сортах и видах *Solanum L.* секции *Lycopersicon* с различной окраской плодов, вариабельности и экспрессии ключевых генов каротиногенеза;

- впервые оценен качественный и количественный состав каротиноидов в листьях и в плодах в процессе созревания у дикорастущих зелено-, желто- и красноплодных видов томата;
- впервые секвенированы и охарактеризованы кодирующие и регуляторные последовательности ключевых генов биосинтеза каротиноидов (*PSY1*, *Z-ISO*, *CrtISO*, *CrtISO-L1*, *CrtISO-L2*, *NCED1*, *NCED2*) у сортов и образцов дикорастущих видов томата;
- впервые проведен сравнительный межвидовой анализ транскрипции ключевых генов биосинтеза каротиноидов (*PSY1*, *Z-ISO*, *CrtISO*, *CrtISO-L1*, *CrtISO-L2*, *NCED1*, *NCED2*) в листьях, бутонах, цветках и плодах в процессе созревания у красно- и зеленоплодных видов томата;
- впервые охарактеризованы *cis*-регуляторные элементы промоторных последовательностей ключевых генов каротиногенеза у красноплодных и зеленоплодных видов томата и проведен их сравнительный анализ;
- впервые показано совместное участие генов *NCED1* и *NCED2* в процессе развития/созревания плода томата и ключевая роль гена *NCED1*, наибольшая активность которого приходится на стадию смены окраски плода;
- впервые показана прямая корреляция между уровнями экспрессии гена транскрипционного фактора *RIN* и экспрессии его генов-мишеней в динамике созревания плода у красно- и зеленоплодных видов томата.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

- определены регуляторные и кодирующие последовательности и охарактеризован уровень полиморфизма ключевых генов биосинтеза каротиноидов, особенности их экспрессии и регуляции у дикорастущих видов томата (видов *Solanum* секции *Lycopersicon*);
- предложен возможный сценарий эволюционных преобразований, способствовавший возникновению красноплодных видов томата, а именно - возникновение изменений (замен) в промоторах структурных и регуляторных генов биосинтеза каротиноидов, которые активировали транскрипционные факторы и гены биосинтеза каротиноидов.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что выявлены сорта томата- доноры мутации *tangerine 3181* (с оранжевой окраской плода), и разработаны маркеры для идентификации данных мутаций.

Применительно к проблематике диссертации результативно (эффективно, то есть с получением обладающих новизной результатов) использован комплекс базовых современных молекулярно-генетических (выделение ДНК, РНК\кДНК, ПЦР, РВ-ПЦР, клонирование, секвенирование) и биохимических (спектрофотометрия и HPLC) методов, а также методов биоинформатического анализа.

Оценка достоверности результатов исследования выявила, что достоверность результатов обеспечена достаточным количеством исследованного материала, использованием современных методов анализа и адекватной статистической обработкой.

Идея работы базируется на обобщении данных зарубежных и отечественных исследований механизма биосинтеза основных вторичных метаболитов — каротиноидов. Авторские результаты по содержанию общих каротиноидов и экспрессии генов биосинтеза каротиноидов у видов *Solanum* секции *Lycopersicon* сравнивались с ранее опубликованными данными.

Установлено подтверждение результатов, полученных автором, ранее полученным данным из независимых источников по содержанию общих каротиноидов в спелых плодах сортов *S. lycopersicum* из которых следует, что высокое содержание общих каротиноидов у всех сортов томата напрямую коррелирует с экспрессией генов *SIPSY1*;

Личный вклад соискателя состоит в личном участии в планировании и обсуждении экспериментов, в проведении биохимического анализа качественного и количественного состава каротиноидов в плодах в динамике созревания методом спектрофотометрии и в пробоподготовке для HPLC метода; в идентификации (амплификации, клонировании и секвенировании) генов биосинтеза каротиноидов; в проведении сравнительного межвидового анализа профиля экспрессии генов биосинтеза каротиноидов; в структурном и филогенетическом анализе генов и белков и статистической обработке результатов РВ-ПЦР.

Уникальность текста автореферата 100% (AntiPlagiarism.NET).

В ходе защиты диссертации были высказаны критические замечания. Соискатель **Ефремов Г.И.** ответил на задаваемые в ходе заседания вопросы и дал аргументированные ответы.

На заседании 22 мая 2024 года диссертационный совет принял решение за исследование структурно-функциональной характеристики генов метаболизма каротиноидов в различных органах и в процессе созревания плода у культивируемых и дикорастущих видов томата (видов *Solanum* секции *Lycopersicon*) присудить **Ефремову Глебу Ильичу** ученую степень кандидата биологических наук по специальности 1.5.7. Генетика.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 13 человек, из них 6 докторов наук по специальности 1.5.7. Генетика (биологические науки) участвовавших в заседании, из 18 человек, входящих в состав совета, проголосовали: «за» 13 человек, «против» 0, недействительных бюллетеней нет.

Председатель диссертационного совета, д.б.н.

Ученый секретарь диссертационного совета, д.б.н.

Директор института, д.б.н., профессор РАН

Лоскутов Игорь Градиславович

Рогозина Елена Вячеславовна

Хлесткина Елена Константиновна

23.05.2024

