

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

на диссертационную работу Крыловой Екатерины Александровны «Молекулярно-генетические механизмы, определяющие детерминантный тип роста стебля *Vigna unguiculata* (L.) Walp. в условиях повышенной влажности воздуха», представленную на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7. –

Генетика

Представленная диссертационная работа сфокусирована на изучении молекулярно-генетических механизмов, определяющих детерминантный тип роста стебля *Vigna unguiculata* — одной из важнейших зернобобовых культур. Эта культура адаптирована к экстремальным условиям произрастания, таким как высокая температура, недостаток осадков и бедные почвы. Интерес к вигне в России растёт благодаря ее высокой урожайности и устойчивости, при этом основное внимание уделяется сортам с кустовой формой и коротким вегетационным периодом. Изменение архитектоники растений в условиях муссонного климата, приводит к индетерминантному типу роста. Сорт 'Лянчixe', адаптированный к югу Приморского края, стал единственным, включенным в Государственный реестр, однако генетические особенности, обеспечивающие его толерантность к повышенной влажности, еще не установлены. Таким образом, **актуальность** проводимого исследования не вызывает сомнений.

Крыловой Е.А. впервые проведена комплексная оценка образцов вигны в Астраханской области, Приморском и Краснодарском краях. Установлена положительная корреляция между длиной растения, количеством осадков и относительной влажностью воздуха, при этом реакция генотипов на изменение условий произрастания различна. В геноме вигны обнаружена высокогомологичная копия гена TFL1 и идентифицированы гены ATC и BFT, проведено секвенирование нуклеотидных последовательностей TFL1-подобных генов. Также на основе проведённого высокопроизводительного секвенирования РНК образцов с различными типами роста стебля в разных условиях влажности, выявлены изменения уровня экспрессии генов при избыточном увлажнении. У индетерминантных образцов наблюдается снижение экспрессии гена Vigun05g252100 (TOE1), ингибитора цветения, а у детерминантного образца наблюдается снижение экспрессии генов, связанных с метаболизмом и сигналингом жасмоновой кислоты, что, возможно, способствует компактности растений в условиях повышенной влажности. Таким образом, **научная новизна** исследования

также не вызывает сомнений. Результаты исследований Крыловой Е.А. могут быть полезны в работах по созданию нового исходного селекционного материала, что определяет ее **практическую значимость**.

Научные положения и выводы в представленной диссертации являются **обоснованными и достоверными**, так как согласуются с результатами других исследований в данной области, включая постулат, что особенности метаболизма и сигналинга жасмоновой кислоты влияют на поддержание компактности растений вигны при повышенной влажности.

Структура диссертации логична и включает последовательно расположенные введение, обзор литературы, методическую часть, результаты и их обсуждение, заключение, выводы, список литературы и приложения. Содержание работы изложено в четкой, понятной манере на 170 страницах, хорошо проиллюстрировано рисунками, снабжено необходимыми таблицами и находится в полном соответствии с направлением исследования. Список литературы включает 170 литературных источников, в том числе 132 иностранных.

Во **Введении** даны краткое описание темы и структуры работы, аргументация актуальности и значимости, цель, задачи и методология исследования, обоснование достоверности результатов и защищаемые соискателем положения.

Обзор литературы (на 20 стр.) дает представление о разрабатываемой диссертантом теме. Первая часть обзора посвящена описанию Вигны *Vigna unguiculata*, принадлежащей к трибе Phaseoleae семейства Fabaceae. Вигна однолетняя теплолюбивая культура короткого дня, при этом важная продовольственная бобовая культура, возделываемая в 45 странах, а Западная Африка является основным центром разнообразия культурных форм. Следующая часть посвящена описанию влияния условий произрастания на рост и развитие растений, в частности влиянию влажности воздуха на морфологические признаки и на уровень фитогормонов. Третий раздел посвящён генетическому контролю детерминантного характера роста зернобобовых культур, в котором автор с исчерпывающей полнотой описывает гены и молекулярные механизмы, контролирующие детерминантный тип роста стебля растений. В заключительном разделе Крылова Е.А. описывает использование транскриптомного

анализа для изучения воздействия на растения стрессовых факторов. В целом, обзор литературы информативен, показывает хорошую теоретическую подготовку автора и является достойным обоснованием экспериментальной части исследования.

Глава **Материалы и методы** (на 10 стр.) описывает как использованные в работе материалы - растения *V. unguiculata* из коллекции вигны ВИР, так и протоколы анализа изменчивости морфологических и фенологических признаков растений вигны, а также протоколы применения современных молекулярно-генетических методов от выделения ДНК и РНК, до транскриптомного анализа и его биоинформатической обработки. Перечислены также основные программы и базы данных, с помощью которых соискатель проводил поиск и биоинформатическую обработку данных. Методическая часть полностью соответствует поставленным в диссертации задачам.

Разделы **Результаты и обсуждение** занимает основную часть диссертации и изложены на 80 стр., куда вынесены все табличные данные. Глава содержит детальное описание результатов, полученных автором в процессе реализации цели и задач.

На первом этапе работы проведен анализ влияния условий выращивания на изменчивость морфологических и фенологических признаков *V. unguiculata*. Изучено варьирование значений морфологических и фенологических признаков в условиях географических посевов, влияние на них климатических и погодных показателей, влажности воздуха, изучены закономерности изменчивости структуры взаимосвязей морфологических и фенологических признаков вигны.

На втором этапе работы проведена идентификация и исследование структурной организации TFL1-подобных генов вигны. Для этого проведен поиск и филогенетический анализ TFL1-подобных генов у представителей трибы Phaseoleae, осуществлен анализ промоторных областей TFL1-подобных генов *V. unguiculata*, аннотация функциональных доменов и предсказание трехмерных структур TFL1-подобных белков и проведено секвенирование аллелей TFL1-подобных генов у разных образцов *V. unguiculata*. Сравнительный анализ TFL1-подобных генов у контрастных по типу роста образцов вигны показал, что эти гены не связаны с различиями в архитектонике между сортом 'Лянчихе' и другими образцами.

В заключении диссертант провел сравнительный транскриптомный анализ образцов *V. unguiculata*, контрастных по типу роста и выращиваемых в контролируемых условиях, отличающихся по насыщенности воздуха влагой. В результате этого исследования были изменения в уровнях экспрессии генов, участвующих в процессах фитогормонального сигналинга, в частности сигналинга жасмоновой кислоты, который

вносит выраженный вклад в поддержание стабильности типа роста у вигны в условиях повышенной влажности.

В разделе **Заключение** автор суммирует полученные результаты об изменчивости морфологических и фенологических признаков и их генетическом контроле у образцов вигны в различных условиях окружающей среды.

Изложенные далее **Выводы** хорошо аргументированы и соответствуют поставленным в работе задачам.

Замечаний по работе немного, и они не принципиальны:

1. При проведении транскриптомного анализа осталось не до конца понятным, сколько образцов растений было использовано в каждой биологической повторности.

2. «Количественную оценку уровней экспрессии генов проводили с помощью метода ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ), который позволяет оценить относительный уровень экспрессии изучаемого гена по отношению к уровню экспрессии референсного гена. В качестве референсного гена использовали ген, кодирующий убиквитин». Была ли осуществлена проверка отсутствия изменения экспрессии самого гена убиквитина? В будущем целесообразно проводить нормализацию экспрессии на среднегеометрическое трех референсных генов.

3. Было бы хорошо и подписях под рисунками располагать ссылку на использованную для них программу, а не только в «материалах и методах». Например, рисунок 24 – Локализация промоторных мотивов...

Общее заключение. Диссертация представляет собой **законченное исследование** в области изучения молекулярно-генетических механизмов, определяющие детерминантный тип роста стебля вигны. Уровень решаемых соискателем задач соответствует критериям оценки диссертаций на соискание ученой степени кандидата биологических наук. Достоверность, значимость и научная новизна полученных Крыловой Е.А. результатов не вызывает сомнений. Результаты нашли достаточно полное отражение в 8 публикациях в рецензируемых научных журналах и в докладах на множестве конференций. Основное содержание диссертации в краткой форме и корректно изложено в автореферате.

Несмотря на высказанные замечания, считаю, что по актуальности, новизне, теоретической и практической значимости, достоверности полученных результатов диссертация Крыловой Е.А. **«МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ, ОПРЕДЕЛЯЮЩИЕ ДЕТЕРМИНАНТНЫЙ ТИП РОСТА СТЕБЛЯ VIGNA UNGUICULATA**

(L.) WALP. В УСЛОВИЯХ ПОВЫШЕННОЙ ВЛАЖНОСТИ ВОЗДУХА», соответствует требованиям пп. 9 - 14 Постановления Правительства РФ «О порядке присуждения ученых степеней» от 24.09.2013 г. №842 в редакции с изменениями от 28.08.2017 г. №1024, 01.10.2018 №1168 и от 11.09.2021 №1539 предъявляемым к диссертациям, представленным на соискание ученой степени кандидата биологических наук, а сам автор заслуживает присвоения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7 – «Генетика».

Отзыв подготовил:

заведующий лабораторией функциональной геномики
Федерального государственного бюджетного учреждения науки
Института общей генетики им. Н.И. Вавилова
Российской академии наук,
кандидат биологических наук по специальности
03.01.03 – молекулярная биология, доцент

Сергей Александрович Брускин
06 декабря 2024 г.

Подпись Брускина С.А. заверяю:

Ученый секретарь Федерального государственного бюджетного учреждения науки
Института общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук,
доктор биологических наук



Ирина Игоревна Горячева

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт общей генетики
им. Н.И. Вавилова Российской академии наук
119991, ГСП-1 Москва, ул. Губкина, д.3
Сайт www.vigg.ru
Тел.: (499) 135-62-13, Факс: (499) 132-89-62
Email: iogen@vigg.ru