

**МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И
ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**Федеральное государственное бюджетное
научное учреждение «Всероссийский
научно-исследовательский институт
сельскохозяйственной микробиологии»
(ФГБНУ ВНИИСХМ)**

196608 Санкт-Петербург, Пушкин,
шоссе Подбельского, 3
Телефон 8-812-470-51-00
Факс 470-43-62

9.12.2024 № 274/12

УТВЕРЖДАЮ:

директор
ФГБНУ ВНИИСХМ

д.б.н. В.Е. Цыганов



Отзыв ведущей организации

о диссертационной работе КРЫЛОВОЙ ЕКАТЕРИНЫ АЛЕКСАНДРОВНЫ
«Молекулярно-генетические механизмы, определяющие детерминантный тип роста
стебля *Vigna unguiculata* (L.) Walp. в условиях повышенной влажности воздуха»,
представляемой на соискание ученой степени кандидата биологических наук
по специальности 1.5.7 – Генетика

Актуальность

Диссертационная работа Крыловой Е.А. направлена на изучение генетических особенностей, обеспечивающих толерантность к условиям повышенной влажности, у определенных сортов важной сельскохозяйственной культуры *Vigna unguiculata* (L.) Walp. Актуальность работы связана с определением изменчивости морфологических и фенологических признаков у контрастных по типу роста стебля образцов *V. unguiculata* в разных эколого-географических условиях и в контролируемых искусственных условиях с различной влажностью. Автором исследована структурная организация *TFL1*-подобных генов, которые могут обладать функцией блокаторов перехода растений к цветению. Сравнительный RNA-seq анализ образцов, контрастных по типу роста, позволил выявить дифференциально-экспрессирующиеся гены, вовлеченные в генотип-специфический ответ вигны в разных условиях влажности воздуха.

Научная новизна

Впервые проведена одновременная комплексная оценка образцов вигны в условиях Астраханской области, Приморского и Краснодарского краев. Впервые в геноме вигны выявлены и изучены *TFL1*-подобные гены и охарактеризована их роль в регуляции роста растений в условиях повышенной влажности. Впервые определены генотип-специфические изменения уровня экспрессии генов у вигны под влиянием внешней среды.

Личный вклад автора

Основные результаты, изложенные в диссертации, получены автором самостоятельно в лаборатории постгеномных исследований ВИР.

Диссертация Е.А. Крыловой построена по традиционному плану. Рукопись объёмом 170 страниц состоит из 4 глав и начинается с введения в проблему, которой посвящено исследование, с логичной формулировкой целей и задач исследования. Обзор литературы (**Глава 1**) охватывает современные представления об особенностях роста и развития растений в зависимости от условий произрастания (влияния влажности воздуха на изменчивость морфологических признаков и уровень фитогормонов), а также генетическом контроле роста модельных растений и зернобобовых культур. В **Главе 2** описаны методические подходы, использованные в работе. Далее следует представление полученных результатов (**Глава 3**) и их обсуждение (**Глава 4**). Диссертацию завершают **Заключение, Выводы** и список использованной в диссертации литературы, содержащий 170 публикаций, которые включают как более ранние классические работы, так и публикации последних лет.

Обзор литературы (30 страниц, 4 рисунка) включает 4 раздела, посвященных описанию имеющихся данных о:

1) особенностях роста и развития растений вигны, которая является культурой многоцелевого использования; 2) влиянии условий произрастания на рост и развитие растений, а также гормональные перестройки; 3) генетическом контроле роста культур с индетерминантным (незаконченным) и детерминантным (законченным) типом роста для модельных и хозяйственно-значимых культур; 4) особенностях использования транскриптомного анализа для изучения влияния на растения стрессовых факторов.

В заключительной части анализа литературы автор обосновывает необходимость детального изучения молекулярно-генетических механизмов реакции растения на сигналы окружающей среды, которые будут решаться в ходе выполнения диссертационной работы.

В качестве небольшого комментария по этому разделу, следует отметить, что вместо термина «сигналинг» (прямой перевод с английского), следует использовать сочетание «передача сигнала».

Для выяснения этих вопросов автором применен ряд методических приемов, которые весьма подробно представлены в Главе 2 (**«Материалы и методы»**). Следует отметить удачный выбор автором контрастных сортов вигны с индетерминантным и детерминантным типом роста стебля для проведения исследования. В работе применялись как стандартные методы молекулярной биологии, так и современные методы, включающие RNA-seq, с подробным описанием методик проведения и анализа в этом разделе.

Результаты изложены на 72 страницах и проиллюстрированы 42 рисунками и 14 таблицами. Следует подчеркнуть, что экспериментальное исследование, составляющее основу диссертации, выполнено на высоком уровне, а его результаты, безусловно, оригинальны и приоритетны. Этот раздел содержит 2 основные части, каждая из которых представляет законченный блок работ, объединенных общими выводами, целью и смыслом.

В части 3.1 раздела «Результаты» автор на основе полевых исследований проводит анализ влияния таких факторов как генотип и условия выращивания на изменчивость морфологических и фенологических признаков разных сортов вигны, который показал достоверное совместное влияние комплекса этих факторов на варьирование большинства

изученных признаков, за исключением продолжительности межфазных периодов. Изменения таких показателей растения как длина растения, толщина стебля, число узлов и ветвей первого порядка, а также продуктивность (число бобов, их длина и ширина) в большей степени зависели от генотипа, но на эти показатели влияли и условия выращивания растений. Полученные результаты анализа также свидетельствовали, что на изменчивость изученных признаков достоверно влияли и погодные условия (сумма активных температур, количество выпавших осадков, а также показатели относительной влажности воздуха). Эксперименты с выбранными генотипами растений были проведены и в контролируемых условиях различной влажности, результаты которых согласуются с полученными при полевой оценке. *По этому разделу есть небольшие комментарии к оформлению Рисунков 8 Б и 8 В (на осях ординат отсутствует описание параметров, которые измерял автор, что несколько затрудняет восприятие данных), хотя понятно, что они совпадают с теми, которые указаны на Рисунке 8 А.*

По результатам изучения в 2019-2022 гг. образцов вигны в условиях Астраханской области (Астраханской опытной станции, АОС), Дальнего Востока (Дальневосточной опытной станции, ДАОС) и в Адлере, Краснодарского края (Адлерской опытной станции, АдОС), а также по результатам исследования в искусственных условиях, контрастных по влажности воздуха, было установлено, что реакция генотипов на изменение условий выращивания была различной. В связи с этим, автор делает обоснованный вывод о том, что выявление молекулярно-генетических механизмов, обеспечивающих стабильность типа роста стебля вне зависимости от условий выращивания, позволит разработать подходы к направленной селекции вигны для расширения ареала ее возделывания. Проверке данного предположения посвящена следующая часть раздела «Результаты».

В части 3.2 раздела «Результаты» автор идентифицировала и подробно изучила структурную организацию *TFL1*-подобных генов вигны, которые могут оказывать негативное влияние на экспрессию генов, играющих ключевую роль в формировании флоральных меристем. Для анализа филогенетического сходства *TFL1*-подобных генов (кодирующих последовательностей) помимо вигны были использованы последовательности арабидопсиса, *Caianus cajan*, *Phaseolus vulgaris*, *Glycine max*, что позволило найти наиболее близкие гомологи гена *TFL1* у всех видов, а также *TFL1*-подобные гены *ATC* и *BFT*. Автором был проведен анализ промоторных областей выявленных генов, который позволил найти регуляторные цис-элементы для связывания разнообразных транскрипционных факторов и сайтов регуляции транскрипции, индуцированных светом и гормонами. Кроме того, автором проведен детальный анализ присутствия консервативных аминокислот в составе функциональных доменов *TFL1*-подобных белков.

По данному разделу возникает вопрос, почему автор для анализа промоторов использовала область размером около 1000 п.н. от старт-кодона, а не более протяженную область?

У рецензента также возник вопрос о том, связывает ли автор снижение экспрессии генов, контролирующих метаболизм и передачу сигнала жасмоновой кислоты у адаптированного к условиям избыточного увлажнения сорта к-2056 (Лянчихе) с более поздним переходом к цветению или повышенной устойчивостью к стрессу?

Итоги экспериментальной части диссертационной работы подведены в **Заключении**, где суммированы полученные в работе данные, раскрывающие роль выявленных автором *TFL1*-подобных генов, а также дифференциально-экспрессирующихся генов, связанных с метаболизмом жасмоновой кислоты и передачей сигнала, которые влияют на поддержание стабильности роста вигны в условиях повышенной влажности.

Завершают диссертацию 3 вывода, в которых отражена значимость представленных исследований. Выводы сформулированы чётко и ясно; они вполне согласуются с задачами, стоявшими перед соискателем, и основаны на результатах большого числа проведённых экспериментов. Полученная в ходе исследования база данных, на которую получено свидетельство о государственной регистрации, включает список генов, уровень экспрессии которых изменился в условиях избыточного увлажнения, что является важным практическим результатом работы.

Заключение.

Оценивая диссертацию Е.А. Крыловой в целом, надо подчеркнуть, что это оригинальное законченное научно-квалификационное исследование, в котором получены приоритетные данные о молекулярных механизмах роста и развития вигны в условиях повышенной влажности. Поставленная диссертантом цель, несомненно, актуальна, а полученные результаты обладают высокой степенью научной новизны. Работа выполнена на высоком методическом уровне, достоверность результатов не вызывает сомнения, а выводы автора полностью соответствуют результатам, полученным в ходе экспериментов. Результаты работы в достаточной степени представлены в автореферате. Основные результаты диссертационного исследования, полученные лично соискателем, опубликованы в отечественных и международных журналах, а также представлены на нескольких научных конференциях. Это свидетельствует о высоком уровне квалификации соискателя.

Таким образом, представленная диссертационная работа по теоретическому уровню, объёму проведенных исследований, научной новизне и практической значимости полностью отвечает требованиям «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842, предъявляемых к кандидатским диссертационным работам, а ее автор, Крылова Екатерина Александровна, несомненно заслуживает присуждения ей ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7 – Генетика.

Отзыв заслушан и утвержден на расширенном заседании лаборатории сигнальной регуляции «6_» декабря 2024 г., протокол № 3.

Доктор биологических наук (1.5.21 Физиология и биохимия растений, 1.5.11 Микробиология),

Должность – Главный научный сотрудник

Долгих Елена Анатольевна

Телефон 8-812-476-24-96, Эл. почта: ea.dolgikh@arriam.ru