

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ  
Федеральное государственное бюджетное научное учреждение  
Уфимский федеральный исследовательский центр Российской академии наук  
(УФИЦ РАН)

450054, г. Уфа, проспект Октября, 71. Тел./факс: (347) 235-60-22, 284-56-52, e-mail: presidium@ufaras.ru, presid@anrb.ru  
Код организации 81, ОГРН 1030204207582, ИНН 0274064870, КПП 027601001

06.04 2023 № 17101-931.1-471

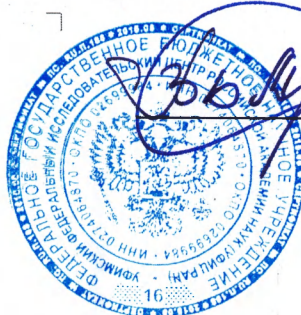
На № \_\_\_\_\_

УТВЕРЖДАЮ:

И.о. руководителя Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, д.б.н.

В.Б.Мартыненко.

«06» апреля 2023 г.



### Отзыв

ведущей организации на диссертационную работу Зорина Евгения Андреевича «Анализ дифференциальной экспрессии генов при образовании азотфиксирующих клубеньков и арбускулярной микоризы у *Pisum sativum* L.», представленную в диссертационный совет 24.1.002.02 при Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Ботаническом институте им. В. Л. Комарова Российской академии на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.21. Физиология и биохимия растений

#### Актуальность избранной темы

Известно, что бобовые растения способны вступать в мутуалистические симбиотические отношения с клубеньковыми бактериями и грибами арбускулярной микоризы. В результате формирование симбиозов повышается как урожайность, так и устойчивость растения-хозяина к различным стрессовым факторам. Повышение эффективности образуемых симбиозов возможно путём изучения их молекулярно-генетических основ. Применение методов геномики и транскриптомики позволило значительно расширить эти знания в последние десятилетия, однако множество вопросов остаются нерешёнными. В частности, на данный момент учёные крайне мало знают о транскриптомных изменениях в азотфиксирующих клубеньках и микоризованных корнях гороха *P. sativum*, поскольку данный объект является немодельным и подобного рода исследования по-прежнему затруднены.

Диссертационная работа Зорина Е. А. посвящена изучению транскриптомных изменений в азотфиксирующих клубеньках и микоризованных корнях *P. sativum* за счёт дифференциальной экспрессии генов, отдельных изоформ мРНК и на уровне семейства генов, кодирующих пептиды NCR. Несмотря на то, что подобные исследования были проведены ранее на модельных объектах (*M. truncatula*, *L. japonicus*), горох посевной, являясь важнейшей сельскохозяйственной культурой, по-прежнему слабоизучен. Этот факт объясняет выбор объекта исследования. Кроме того, механизмы альтернативного сплайсинга и последствия, к которым он приводит, вообще не описаны у гороха и крайне скудно изучены у близкородственных видов.

### **Структура диссертационной работы**

Диссертационная работа Зорина Е. А. состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, результатов и их обсуждения, заключения и выводов. Содержит 9 таблиц, 22 рисунка. Список литературы включает 162 источника.

В «Введении» диссертант обосновывает актуальность исследования, а также включает описание степени разработанности темы. В этом разделе представлены цель и задачи исследования, научные положения, обозначены научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы.

Глава «Обзор литературы» включает четыре раздела. Первый посвящен общим сведениям о симбиозах, образуемых бобовыми растениями. В втором разделе речь идет об особенностях генов нодулинов, микоризинов и симбиозинов. В третьем разделе обзора представлена информация о механизмах регуляции экспрессии генов в симбиотических органах бобовых растений, и в четвертом описаны уникальные пептиды NCR и дана информация о их роли в бобово-ризобиальном симбиозе. Обзор достаточно полный, дает полное представление о тематике работы. Большая часть литературных источников представлена зарубежными публикациями, что подчеркивает важность проведенных исследований для российской науки. Таким образом, информация, представленная диссертантом в разделах обзора литературы, логично обосновывает цель и задачи диссертационной работы.

Глава «Материалы и методы исследования» содержит подробное описание объектов и методов исследования. Описаны используемые методики с ссылками на первоисточники, приведена информация об используемых реактивах и приборах, программах для биоинформационного анализа.

В главе «Результаты и обсуждение» подробно описаны полученные соискателем результаты, которые представлены в 3 разделах. Результаты получены с применением современных молекулярно-биологических, микробиологических, биоинформатических методов, хорошо иллюстрированы.

В «Заключении» подведен общий итог проделанной работы и сформулированы общие

результаты.

В «Выводах» приведено обобщение основных результатов диссертационной работы. Выводы полностью соответствуют поставленным задачам, подтверждены экспериментальными и теоретическими данными.

Тема данной диссертационной работы, основные положения и выводы полностью соответствуют специальности 1.5.21. Физиология и биохимия растений.

Автореферат диссертации полностью соответствует основным положениям диссертации.

**Новизна исследования и полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации.**

В представленной работе впервые были выявлены гены, кодирующие нодулины, микоризины и симбиозины гороха посевного, в том числе гены, экспрессия которых находится под контролем транскрипционных факторов (ТФ) EFD и IPD3. При этом комплексный анализ дифференциальной экспрессии генов показал высокую степень транскриптомной специфичности азотфиксирующих клубеньков. Автором показано, что азотфиксирующие клубеньки и микоризованные корни гороха демонстрируют различия профилей альтернативного сплайсинга по сравнению с интактными корнями. При этом альтернативный сплайсинг явно приводит к транскриптомным изменениям как в азотфиксирующих клубеньках, так и микоризованных корнях. Диссертантом выявлен ряд генов с патерном альтернативного сплайсинга специфичным для образующих арбускулярную микоризу растений. Кроме того, впервые описан полный набор генов, кодирующих пептиды NCR в геноме гороха посевного. Автор продемонстрировал высокую степень вариабельности представителей данного семейства и кластерный характер их геномной организации. С применением методов транскриптомики, автор показал, что экспрессия генов, кодирующих пептиды NCR ассоциирована с мутантным фенотипом клубеньков линий гороха SGEFix-1 и SGEFix-2, что свидетельствует о важности пептидов NCR для формирования и функционирования азотфиксирующих клубеньков *P. sativum*.

**Значимость для науки и практики полученных автором диссертации результатов.**

Выявленные автором гены, кодирующие нодулины, микоризины и симбиозины потенциально представляют из себя маркеры эффективности симбиозов и могут быть использованы в генной инженерии для повышения урожайности. Полученные результаты в области механизмов альтернативного сплайсинга в азотфиксирующих клубеньках и микоризованных корнях гороха обогащают и дополняют знания о транскриптомных изменениях у растения-хозяина в процессе формирования и функционирования мутуалистических симбиозов. Идентифицированные и описанные антимикробные пептиды NCR *P. sativum* не только расширяют и дополняют понимание механизмов дифференцировки

бактероидов и формирования азотфиксирующего клубенька, но могут служить и кандидатами на роль антибиотиков и в будущем иметь применение в медицине.

### **Обоснованность положений, выводов и заключения диссертации**

Положения, выводы и заключение диссертационной работы Зорина Е. А. сделаны на основе полученных результатов с применением методов секвенирования, микробиологии, молекулярной биологии. Все полученные данные были проанализированы современными методами статистики и биоинформатики с элементами программирования. Достоверность полученных результатов и сделанных выводов основывается на повторении экспериментов.

### **Сведения о полноте опубликованных научных трудов**

По теме диссертации опубликовано 11 печатных работ, в том числе 5 статьи в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК РФ. Результаты, полученные в ходе выполнения диссертации, были представлены на научных конференциях разного уровня.

### **Общие вопросы и замечания по работе**

В целом диссертационная работа производит благоприятное впечатление, но есть некоторые замечания:

1. Первое замечание связано с иллюстрациями к работе. Некоторые рисунку, например 4-ый, 20-ый и некоторые другие содержат абсолютно нечитаемые значения, что сильно затрудняет восприятие материала.

2. В тексте диссертации встречаются опечатки, например в главе 2.4.5. dN вместо dS, в подрисуночной надписи к 8-му рисунку 3' вместо 5' и некоторые другие опечатки и орфографические ошибки.

Данные технические замечания не снижают положительную оценку работы.

### **Заключение**

Диссертационная работа Зорина Евгения Андреевича «Анализ дифференциальной экспрессии генов при образовании азотфиксирующих клубеньков и арбускулярной микоризы у *Pisum sativum* L.», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.21. Физиология и биохимия растений, является законченной, самостоятельной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение актуальной задачи, имеющей важное значение для биологической науки. Диссертационная работа соответствует требованиям п. 9-14, установленным «Положением о порядке присуждения ученых степеней», утвержденным постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842 (в редакции с изменениями и дополнениями от 30 июля 2014 г., 21 апреля, 2 августа 2016 г., 29 мая, 28 августа 2017 г., 1 октября 2018 г., 20 марта, 11 сентября 2021 г.), а ее автор – Зорин Евгений Андреевич заслуживает присуждения ученой

степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.21. Физиология и биохимия растений ..

Диссертационная работа Зорина Е.А. и отзыв были обсуждены и одобрены на заседании лаборатории биоинженерии растений и микроорганизмов Института биохимии и генетики – обособленного структурного подразделения Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, протокол № 3, от «06» апреля 2023 года.

Отзыв составлен ведущим научным сотрудником лаборатории биоинженерии растений и микроорганизмов ИБГ УФИЦ РАН, доктором биологических наук (специальность 03.00.03 Молекулярная биология, 03.00.07 Микробиология) Баймиевым Андреем Ханифовичем.

Баймиев Андрей Ханифович

«06» 04 \_\_\_\_\_ 2023 г.

Подпись Баймиева А.Х. заверяю

Заместитель директора ИБГ УФИЦ  
РАН по научной работе д.б.н.



А.С.Карунас

Сведения о составителе отзыва:

Баймиев Андрей Ханифович

доктор биологических наук по специальности 03.00.03 Молекулярная биология, 03.00.07 Микробиология

Должность: ведущий научный сотрудник лаборатории биоинженерии растений и микроорганизмов Института биохимии и генетики – обособленного структурного подразделения Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук.

Адрес организации: 450054, г. Уфа, проспект Октября, 79.

Телефон: +7 (347) 2-356-088

E-mail: baymiiev@anrb.ru