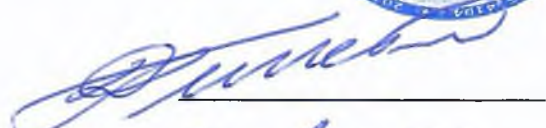


УТВЕРЖДАЮ:

Директор Федерального государственного
бюджетного учреждения науки
Ботанического института им. В.Л. Комарова
Российской академии наук
доктор биологических наук Д. В. Гельтман




«2» августа 2023 года

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Федерального государственного бюджетного учреждения науки
Ботанического института им. В.Л. Комарова Российской академии наук

Диссертация «Молекулярно-генетические аспекты полового размножения и апомиксиса у покрытосеменных растений» выполнена в лаборатории эмбриологии и репродуктивной биологии.

В период подготовки диссертации соискатель Брюхин Владимир Борисович работал в лаборатории эмбриологии и репродуктивной биологии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Ботанического института им. В.Л. Комарова Российской академии наук (БИН РАН), в должности ведущего научного сотрудника.

В 1988 г. В.Б. Брюхин окончил специалитет биолого-почвенного факультета Ленинградского государственного университета им. А. А. Жданова по специальности «агрехимия и почвоведение». В 1993 году окончил очную аспирантуру БИН РАН по специальности 03.00.05 – «Ботаника». В 1993 году защитил диссертацию на тему «Развитие зародыша пиона *in vivo* и *in vitro*» на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.05 – «Ботаника» в этом же учреждении. С 1993 г. по 1997 г. работал в БИН РАН в должности научного сотрудника. В 1996–2013 гг.

являлся приглашенным научным сотрудником ведущих зарубежных лабораторий университетов Польши, Нидерландов, Франции, Швеции, Швейцарии, США и Великобритании, что позволило ему приобрести уникальные навыки работы и сформировало научные интересы в области молекулярной генетики размножения растений. С 2013 по 2020 гг. В.Б. Брюхин работал в Центре геномной биоинформатики им. Ф.Г. Добржанского Санкт-Петербургского государственного университета в должности заместителя директора. Одновременно (с 2015 г.) работал в должности ведущего научного сотрудника лаборатории эмбриологии и репродуктивной биологии БИН РАН, где продолжал работу над диссертацией.

Научный консультант – доктор биологических наук, член-корреспондент РАН Рысков Алексей Петрович, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии генома, лаборатория организации генома, заведующий лабораторией.

По итогам обсуждения было принято следующее заключение:

Личное участие соискателя в получении результатов, изложенных в диссертации. Представленная работа, включая ее планирование, получение материала, результатов и написание текста диссертации, является итогом многолетних (1996–2023 гг.) исследований Брюхина Владимира Борисовича и выполнена непосредственно им, в некоторых случаях работа осуществлялась в рамках совместной деятельности с коллегами. Автор принимал участие во всех этапах работы, ему принадлежит формулировка проблемы, постановка целей и задач, планирование, получены анализируемые мутантные растения, подготовлен материал для полногеномного секвенирования, произведена его обработка и интерпретация. Автором проанализировано большое количество литературы. Изложенные в диссертации материалы были опубликованы в научных статьях и представлены на тематических конференциях. Все сообщения на научных конференциях и доклады на семинарах по теме настоящей диссертации были осуществлены непосредственно самим автором.

Степень достоверности результатов проведенных исследований. Исследование проведено с включением в работу большого объема экспериментальных данных, а также анализом большого объема литературных сведений. Достоверность результатов определяется подбором адекватных методов и подходов молекулярно-генетического анализа, использованием высокотехнологичного оборудования различных зарубежных и отечественных научных центров, а также статистической обработкой данных. Корректность проведенных исследований подтверждена публикацией основных результатов исследования в высокорейтинговых международных и отечественных

рецензируемых журналах. Также материалы диссертации были доложены на отечественных и международных конференциях и совещаниях.

Научная новизна. В работе впервые дан анализ гаметофитных и эмбрио-летальных мутаций *Arabidopsis thaliana*, полученных методом инсерционного мутагенеза в большом скрининге (несколько тысяч линий). Изолировано несколько мутантов, с нарушением половой репродукции, с нокаутом единичного гена. Подтверждено, что убиквитин-протеасомный метаболический путь, выполняющий функцию деградации регуляторных молекул в клетках, является крайне важным для гаметогенеза и эмбриогенеза у арабидопсиса (доказана его роль в регуляции мейоза и митоза с участием генов *RPN1a*, *RPN1b*, *CUL3a*, *CUL3b*, *CUL4*, *DDB1*, а также в функционировании комплекса PRC2, отвечающего за различные процессы развития и размножения растений и др.). Впервые представлены доказательства физической и функциональной связи между лигазой CRL4 E3 и поликомб-репрессивным комплексом (PRC2), что указывает на новую роль убиквитинирования в регуляции экспрессии генов. С помощью генетического, протеомного и полнотранскриптомного анализа представлены доказательства уникальной субфункционализации отдельных коровых субъединиц экзосомы растений и роли экзосомы в размножении и развитии на примере модельного растения *Arabidopsis thaliana*. Полученные результаты указывают на серьезные отличия экзосомного комплекса растений от изученных до сих пор экзосомных комплексов в других системах. Проведен экспрессионный анализ ассоциированных с апомиксисом генов *CENH3* и *APOLLO*, выявлены различия в экспрессии этих генов у половых и апомиктических видов *Boechea*. С помощью молекулярно-филогенетического анализа предложен эволюционный сценарий, согласно которому одна из копий *APOLLO* могла приобрести новую функцию у общего предка видов *Boechea*, что привело к выделению апомиктических линий. Впервые осуществлено полногеномное секвенирование и выполнена безреференсная сборка генома полового вида *B. retrofracta* и поэтапная безреференсная сборка до уровня хромосом высокогетерозиготного генома апомиктического растения *Boechea* (линия M4B), у которого обнаружены дополнительные абберантные хромосомы *Het* и *Del*, являющиеся наиболее вероятными кандидатами, несущими локусы генов, связанных с апомиксисом. Осуществлена аннотация собранных геномов и обнаружены отличия геномов половых и апомиктических видов *Boechea*.

Практическая значимость работы. Проведенные исследования имеют большое значение для понимания генетических и молекулярных механизмов регуляции полового воспроизведения и апомиксиса, важнейшего условия улучшения урожая и

контролируемого управления семенной репродукцией растений, в том числе культивируемых и экономически значимых. С этой целью в работе исследовались важные вопросы биологии развития, такие как выявление генов и их функции в регуляции процессов гамето- и эмбриогенеза, исследование значения генов, участвующих в деградации сигнальных белков для репродуктивных процессов, а также поиск генов, ассоциированных с апомиксисом; исследование различий геномов растений, размножающихся половым путем и апомиксисом и др. Практическое значение работы заключается в том, что исследование семенного размножения и гаметофитного апомиксиса у покрытосеменных является важным ресурсом для интенсификации и повышения эффективности сельского хозяйства. Полученные результаты диссертации дополняют знания о молекулярно-генетической регуляции, которые в итоге позволят подойти к целенаправленному управлению этими процессами и будут способствовать интенсивному развитию сельского хозяйства путем фиксации ценных фенотипических признаков, прежде всего полученных путем гетерозиса, в неограниченном ряду поколений культурных растений.

Ценность научных работ соискателя. Вопросы генетических и молекулярных механизмов регуляции семенной репродукции у растений представляют фундаментальную научную проблему биологии развития, решение которой способствует пониманию молекулярно-генетических основ амфимиксиса и апомиксиса растений, что чрезвычайно актуально для модернизации современного сельского хозяйства. Несмотря на многолетние исследования молекулярно-генетических механизмов регуляции размножения растений в различных лабораториях мира, многие ключевые вопросы до сих пор остаются не выясненными. В частности, не до конца было выяснено значение деградации сигнальных белков клеточного цикла и генов убиквитин-протеасомного пути, а также роли экзосомы и ее субъединиц в регуляции процессов развития зародышевого мешка и эмбриогенеза; практически отсутствовали сравнительные полногеномные исследования половых и апомиктических видов цветковых растений. Диссертант существенно восполнил пробелы в этой области и ряде других вопросов, связанных с регуляцией половой и бесполой репродукции растений: с помощью различных современных методов проведены экспрессионный и функциональный анализ генов, фенотипическая оценка мутантов по этим генам; собраны и аннотированы высокогетерозиготные геномы апомиктических видов до уровня хромосом; предсказаны новые гены, ассоциированные с апомиксисом.

Соответствие диссертации научной специальности и полнота изложения материалов диссертации в работах, опубликованных соискателем. Диссертация «Молекулярно-генетические аспекты полового размножения и апомиксиса у покрытосеменных растений» соответствует специальности 1.5.3 Молекулярная биология (биологические науки).

По теме работы опубликовано 30 статей, из них 26 работ в рецензируемых периодических и продолжающихся изданиях, в том числе 23 – в журналах из «Перечня рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук», включая высокорейтинговые рецензируемые журналы (EMBO J., Cell, Plants, Epigenomes, The Plant Cell, The Plant J., Sex Plant Reproduction, Plant Biotechnology, Taxon и др.), 3 статьи в монографиях и 1 учебное пособие. 23 публикации реферируются системой «Web of Science» и одновременно входят в систему «Scopus». Материалы исследования докладывались на 34 научных мероприятиях.

Все научные положения и выводы, сформулированные в работе, обоснованы и подтверждены фактическим материалом, полученном в результате собственных исследований соискателя. Опубликованные материалы отражают основное содержание работы.

Диссертация выполнена в полном объеме, тема и содержание соответствуют научной специальности (1.5.3 Молекулярная биология), оформление работы соответствует требованиям Постановления Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842 «О порядке присуждения ученых степеней» и Приказа Минобрнауки России от 10 ноября 2017 г. № 1093 «Об утверждении Положения о совете по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, ученой степени доктора наук».

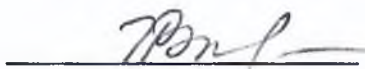
Диссертация «Молекулярно-генетические аспекты полового размножения и апомиксиса у покрытосеменных растений» В.Б. Брюхина рекомендуется к защите на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.3 Молекулярная биология.

Заключение принято на расширенном заседании лаборатории эмбриологии и репродуктивной биологии и лаборатории биосистематики и цитологии БИН РАН, проведенного также в рамках заседаний Русского ботанического общества (РБО) и Всероссийского общества генетиков и селекционеров им. Н. И. Вавилова (ВОГиС) (протокол № 2 от 06.07.2023).

На заседании присутствовало 25 человек, из них докторов биологических наук 5, кандидатов биологических наук 15. Результаты голосования «за» – 25 чел., «против» – 0 чел., «воздержалось» – 0 чел.



Ебдионов Александр Викентьевич,
доктор биологических наук, профессор,
лаборатория биосистематики и цитологии,
главный научный сотрудник с возложением
обязанностей руководителя лаборатории



Виноградова Галина Юрьевна,
кандидат биологических наук, лаборатория
эмбриологии и репродуктивной биологии,
старший научный сотрудник