



**МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта
Российской академии наук
(ИМБ РАН)

Вавилова ул., д. 32, ГСП-1, В-334, Москва, 119991; Для телеграмм: Москва ИМБ РАН В-334,
тел. 8-499-135-23-11, 8-499-135-11-60; факс 8-499-135-14-05, E-mail: isinfo@eimb.ru
ОКПО 02699501, ОГРН 1037736018066, ИНН/КПП 7736055393/773601001

27.10 2023 № 12312-2171

На № _____ от _____

УТВЕРЖДАЮ

Заместитель директора Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук доктор биологических наук

Иванов Александр Владимирович

« 27 » октября 2023 г.



ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института молекулярной биологии имени В. А. Энгельгардта Российской академии наук на диссертацию Брюхина Владимира Борисовича «Молекулярно-генетические аспекты полового размножения и апомиксиса у покрытосеменных растений», представленной на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности – 1.5.3. «Молекулярная биология»

Актуальность темы диссертации и новизна. Исследование молекулярных и генетических механизмов регуляции воспроизводства живых организмов, а также молекулярных факторов, влияющих на процессы размножения, представляет собой очень актуальную проблему, поскольку репродукция обеспечивает преемственность жизни, влияет на увеличение или уменьшение особей в популяциях, а типы воспроизводства (половой или бесполой) способствуют генетической изменчивости либо стабильности и фиксации генотипов, что определяет приспособляемость организмов к окружающей среде благодаря пластичности репродуктивных систем и стратегий. Полное представление о молекулярно-генетической регуляции процессов размножения является одним из ключевых вопросов фундаментальной биологии. Кроме того, исследование молекулярной регуляции семенной репродукции растений необходимо для использования

полученных знаний в сельском хозяйстве с целью увеличения урожайности и внедрения современных передовых технологий.

В последние десятилетия ведущие научные лаборатории мира проводят функционально-генетические исследования полового размножения и апомиксиса как на модельных, так и на сельскохозяйственно значимых растениях, в том числе, изучение генетической основы мейоза, апомейоза, гаметогенеза, эмбрио- и эндоспермогенеза. Кроме того, ведутся работы по выяснению молекулярно-генетических основ апомиксиса, поскольку внедрение его свойств в культурные растения сулит революцию в сельском хозяйстве, которая будет сопровождаться значительным удешевлением, а также улучшением качества и уменьшением площадей земельных угодий, необходимых для производства зерна, кормов, волокон, биотоплива, растительного масла и многих других продуктов растительного происхождения. Несмотря на успехи, достигнутые за последние годы, в перечисленных областях все же многие важные вопросы остаются открытыми. В частности, была слабо известна роль, которую играет убиквитин-26S-протеасомный путь, устраняющий сигнальные белки клеточного цикла, в развитии зародышевого мешка и эмбриогенеза. Оставалась неизвестной связь функции растительной экзосомы с процессами репродукции. Далеко не до конца изучены гены, участвующие в формировании женского гаметофита, и их функции. Практически отсутствовали сравнительные полногеномные исследования половых и апомиктических растений. Эти и другие вопросы репродукции были исследованы в диссертации В.Б. Брюхина.

Теоретическая и практическая значимость результатов исследования определяется полученными и проанализированными в диссертации новыми данными по молекулярно-генетической регуляции репродуктивных процессов у исследуемых растений. Результаты диссертации включают производство с помощью меченных транспозонов большой коллекции мутантных растений арабидопсиса и выявление мутантов с нокаутом единичных генов, которые демонстрировали различные фазы нарушения развития зародышевого мешка и эмбриогенеза. Произведен генетический и фенотипический анализ этих мутантов. В работе с молекулярно-генетической точки зрения изучено влияние генов убиквитинового метаболизма *RPN1a*, *RPN1b*, *CUL3a*, *CUL3b* и комплекса лигазы E3 *CUL4-DDB1* на развитие женского гаметофита и эмбриогенез растений, исследовано значение функции экзосом для формирования женского гаметофита, эмбриогенеза и развития проростков арабидопсиса, охарактеризованы и изучены гены, связанные с апомиксисом, впервые осуществлена полногеномная сборка и аннотация, а также проведен сравнительный анализ геномов половых и апомиктических растений из рода *Boechera*, проанализированы данные о роли эпигенетических изменений при размножении и

развитии растений. Полученные результаты и их анализ имеют большое фундаментальное значение для решения ведущих вопросов молекулярной биологии и биологии развития.

Практическое значение работы заключается в том, что исследование молекулярно-генетических аспектов развития женского гаметофита, эмбрио- и эндоспермогенеза, а также гаметофитного апомиксиса, являющихся ключевыми процессами семенной репродукции, необходимо для улучшения процессов генетической селекции, управления процессами формирования семян и повышения эффективности растениеводства. Помимо этого, результаты исследования в дальнейшем могут быть использованы для разработки технологий биоинженерии апомиксиса хозяйственно ценных растений, что позволит закрепить сложные генотипы в последующих поколениях растений, включая гетерозиготные генотипы и полиплоидию, которые являются атрибутами гибридной силы при гетерозисе.

Личное участие автора определяется формулировкой целей и задач диссертации, осуществлением планирования и проведением экспериментов, получением мутантных и экспериментальных растений, обработкой и анализом результатов и написанием текста диссертации. Все эти этапы осуществлены непосредственно диссертантом, иногда с помощью коллег.

Апробация работы очевидна, не вызывает сомнений количество и качество тематических мероприятий, на которых были сделаны сообщения по теме диссертации. Большинство конференций, на которых автором были сделаны устные доклады по результатам диссертации, были международными и проводились в различных странах Европы, Азии и США, а также в России. Количество участников некоторых конференций превышало 3000 человек (Plant and Animal Genome 2017; 2018; 2019). В целом, материалы исследования докладывались на 34-х научных мероприятиях, не считая семинаров и лекций, куда диссертант был приглашен в качестве гостевого докладчика. Также впечатляет количество опубликованных научных работ по теме диссертации, большая часть которых опубликована в высокорейтинговых журналах, входящих в системы Web of Science и Scopus таких как Cell, Plant Cell, Plant Journal, EMBO Journal, Frontiers in Plant Science, J. Cell Science, Sexual Plant Reproduction, Генетика и др. Всего по материалам диссертации было опубликовано 30 работ, из них 26 статей в рецензируемых периодических и продолжающихся изданиях, из них 23 публикации реферируются системами Web of Science и Scopus, 3 статьи в монографиях и 1 учебное пособие.

Структура и характеристика работы. Диссертация построена в соответствии с требованиями руководящих документов по оформлению диссертационного исследования и состоит из введения, семи глав с выводами, описания методических процедур, заключения, общих

выводов, списка сокращений и списка литературы, включающего 714 наименований. Работа изложена на 441 странице машинописного текста и включает 82 рисунка и 38 таблиц.

Литературный обзор, сфокусированный на общей теме исследования представлен во введении, а обсуждение литературы по конкретным темам содержится в начале каждой главы. В общей сложности обзор литературы занимает меньше четверти объема диссертации, он изложен четким и ясным научным языком и логично подводит к дальнейшим исследованиям, описанным в диссертации. Список использованной литературы полностью отражает тематику исследований и включает как первичные публикации, так и работы, опубликованные за последние пять лет.

В разделе «Методология и методы исследования» четко определены объект и предмет исследования. Для исследований использованы соответствующие поставленным задачам методы молекулярной биологии, генетики, цито-морфологии, микроскопии, высокотехнологичного секвенирования нового поколения и другие, описанные в разделе «Экспериментальные процедуры».

Первая глава исследует роль и типы семенного размножения. Вторая глава посвящена изучению молекулярно-генетической регуляции развития женского гаметофита и анализу полученных мутантов арабидопсиса с нарушением развития последнего. Третья глава посвящена молекулярно-генетической регуляции эмбриогенеза. В четвертой главе исследуются мутанты с нарушением функции генов, отвечающих за убиквитин-26S-протеасомный метаболический путь и роль этого пути в развитии гаметофитов и зародышей. В пятой главе исследуется молекулярная функция растительных экзосом при формировании женского гаметофита, эмбриогенезе и развитии растений. В шестой главе представлены сравнительные исследования апомиксиса и половой репродукции у видов из рода *Boechera*, а также сборка и аннотация геномов этих видов, и поиск генов, ассоциированных с апомиксисом. Седьмая глава анализирует эпигенетические изменения, возникающие при репродукции растений.

Результаты исследования, их обсуждение и интерпретация изложены понятным и корректным профессиональным языком, а полученные данные сопровождаются соответствующими рисунками и таблицами, наглядно иллюстрирующими наблюдения и подтверждающими их достоверность. Где необходимо осуществлена статистическая обработка результатов, предшествующая окончательным выводам. Каждая глава заканчивается заключением с выводами.

В итоговом «Заключении» автором подробно проанализированы и систематизированы полученные результаты и обсуждены дальнейшие перспективы исследований в области молекулярной генетики и регуляции размножения растений.

В конце диссертации четко сформулированы девять выводов, которые полностью

отражают все этапы диссертационного исследования и полученные результаты.

Общее впечатление от работы. Работа оставляет приятное впечатление, легко читается, поскольку логически структурирована, содержательна и написана хорошим, грамотным научным языком.

Замечания. В диссертационной работе обнаружены отдельные опечатки и ошибки форматирования. Так, на стр. 37, 135, 173 и 283 отсутствует скобка после ссылки, а на стр. 308 ссылку закрывают две скобки вместо одной. На стр. 183 название таблицы 16 начинается со строчной буквы вместо прописной. На стр. 53 в 4 строке снизу в названии среды Мурасиге-Скуга буква «ш» вместо буквы «с», на стр. 285 в 7 строке снизу в слове «генетических» пропущена буква «е». В главе 1 на стр. 34 в подписи к рис. 3 обозначения А-С прописными буквами, а на рисунке *a, b, c* – строчными. На стр. 57, 100, 283 нет отступа для нового абзаца. В начале стр. 40 потеряно начало предложения. На стр. 59 и 240 имеется перенос на новую строку с середины предложения. В разделе 6.7 рисунок 76 очень маленький и результат GISH не очевиден и сложно определить хромосомные реорганизации, демонстрируемые автором. Это сильно снижает информативность рисунка. Кроме того, в этом рисунке объединены данные из статей других авторов и собственные данные, что делает его еще более запутанным. Автору следовало бы четко отделить свои данные и представить их в более доступном виде. Также, следует уточнить формулировку предложения на стр. 285: « Мы выяснили структуру хромосом линии M4B и расположение в них предковых геномных блоков крестоцветных – ACK (Ancestral Crucifer Karyotype) (Schranz et al., 2006b; Mandáková et al., 2015).», поскольку из него также неясен вклад автора.

Заключение о работе в соответствии с критериями по Положению ВАК. Диссертационная работа Брюхина В. Б. на тему «Молекулярно-генетические аспекты полового размножения и апомиксиса у покрытосеменных растений», представленная на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.3. Молекулярная биология (биологические науки), является законченной, самостоятельной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение актуальной задачи изучения молекулярно-генетических аспектов регуляции полового и апомиктического размножения покрытосеменных растений, имеющей важное значение для молекулярной биологии развития растений и биологической науки в целом. В частности, получены новые сведения о гаметофитных и эмбрио-летальных мутациях арабидопсиса и особенностях генетики гаметофитов, о роли генов убиквитин-26S-протеасомного метаболического пути и экзосомы в репродукции растений; исследованы некоторые гены,

связанные с апомиксисом и впервые осуществлена сборка высоко гетерозиготного генома апомиктического растения до хромосомного уровня. Полученные результаты предполагают новые подходы к пониманию молекулярно-генетической регуляции репродуктивных процессов растений, таких как новое понимание роли убиквитинирования в регуляции экспрессии генов при репродукции, роли экзосомы в семенном размножении, значении гетерозиготности и наличия добавочных хромосом при возникновении апомиксиса и др.

Диссертационная работа соответствует требованиям п. 9-11, 13,14, установленным «Положением о порядке присуждения ученых степеней», утвержденным постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09. 2013 г. № 842, а ее автор Брюхин Владимир Борисович заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.3. Молекулярная биология (биологические науки).

Отзыв обсужден и одобрен на семинаре лаборатории молекулярной кариологии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук протокол № 10-23 от 25.10. 2023.

Доктор биологических наук,
профессор

Муравенко Ольга Викторовна

27.10.2023

Подпись Муравенко О.В. удостоверяю
Ученый секретарь ИМБ РАН
кандидат ветеринарных наук

Бочаров Александр Анатольевич

Сведения о составителе отзыва:

Муравенко Ольга Викторовна, доктор биологических наук по специальностям 03.01.03 – «Молекулярная биология» и 03.02.07 – «Генетика», профессор, главный научный сотрудник лаборатории молекулярной кариологии ИМБ РАН
Электронная почта: omur@eimb.ru

Сведения об организации:

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук (ИМБ РАН)
Почтовый адрес: ГСП-1, 119991, Российская Федерация, г. Москва, ул. Вавилова, д. 32. ИМБ РАН.
Тел. : +7(499) 135-23-11, +7(499) 135-11-60
Адрес официального сайта: <https://www.eimb.ru/>
Электронная почта: isinfo@eimb.ru

Ученый секретарь ИМБ РАН
кандидат ветеринарных наук

Бочаров Александр Анатольевич

27.10.2023