

ОТЗЫВ

члена диссертационного совета на диссертацию Кузнецовой Ксении Андреевны на тему:
**«Система WOX-CLAVATA и ее мишени в регуляции развития запасающего
корня и спонтанных опухолей у редиса посевного (*Raphanus sativus* L.)»**,
представленную на соискание ученой степени кандидата наук по научной специальности
1.5.7. Генетика

Актуальность темы диссертационной работы. Диссертационная работа К.А. Кузнецовой посвящена одной из актуальных задач современной генетики развития растений, а именно – изучению процессов деления и дифференцировки клеток высших растений. Несмотря на то, что в настоящее время механизмы генетического контроля развития латеральных меристем у растений интенсивно исследуются в ведущих лабораториях мирового уровня, в этом направлении все еще остается много нерешенных проблем. Одной из таких проблем является поиск генов и их регуляторных элементов, контролирующих развитие запасающего корня у растений, который формируется в результате высокой активности латеральной меристемы – камбия. Так как одним из важнейших регуляторов активности камбия является система WOX-CLAVATA, то именно эта система была выбрана диссертантом для выявления генов и их регуляторных элементов при развитии запасающего корня. Следует подчеркнуть, что широкие возможности для успешного проведения этой работы были открыты благодаря использованию уникальной коллекции высоко инбредных линий редиса, различающихся по способности к формированию опухолей на корнеплодах, созданной и поддерживаемой в настоящее время на кафедре генетики и биотехнологии Санкт-Петербургского университета. Выявление и идентификация генов, принимающих участие в развитии запасающего корня у корнеплодных культур открывают широкие возможности для их модификации и улучшения хозяйственно-ценных признаков с применением современных методов геномной инженерии и геномного редактирования, что еще раз подчеркивает актуальность и значимость темы диссертационного исследования.

Научная новизна и практическая значимость исследования и полученных результатов. Диссертационная работа К.А. Кузнецовой характеризуется высокой степенью новизны представленных научных результатов. Основанием для такого заключения является тот факт, что в основу своего исследования диссертантом положен сравнительный анализ нуклеотидных последовательностей двух высоко инбредных родственных линий редиса, различающихся между собой по способности к образованию спонтанных опухолей на корнеплодах, являющихся результатом нарушений в механизмах регуляции клеток латеральной меристемы. Так как выявление генетических механизмов развития запасающего корня у разных видов растений все еще находится на начальном этапе, в том числе и выявление механизмов возникновения и формирования спонтанных опухолей в силу их редкой встречаемости, то полученные диссертантом научные результаты относятся к категории полученных впервые. По результатам сравнительного анализа состава нуклеотидных последовательностей сборок геномов двух исследуемых линий редиса впервые выявлены однонуклеотидные замены, а также инсерции и делеции, по которым эти линии различались, что давало основание для установления их возможных связей с нарушением генов, участвующих в образовании спонтанных опухолей на корнеплодах. Применение данного подхода позволило выявить ряд генов-кандидатов на роль спонтанного образования опухолей и системного контроля деления клеток. Диссертантом

идентифицированы гены-регуляторы развития меристем, включая гены семейств WOX и CLE, с применением методов биоинформатического анализа выполнены работы по идентификации последовательностей соответствующих белков. Исследование функций представителей этих генных семейств, а также их возможных генов-мишеней имеет фундаментальное значение и вносит вклад в область генетики развития растений. Полученные К.А. Кузнецовой результаты по экспрессии генов-регуляторов развития камбия несомненно могут быть рассмотрены с практической точки зрения как мишени для геномного редактирования редиса с целью улучшения его хозяйственно-ценных признаков.

Обоснованность и достоверность научных положений и выводов. Во Введении диссертантом убедительно обоснована актуальность исследования, чётко сформулированы цели и задачи, а также положения, выносимые на защиту. Основной раздел диссертации содержит описание полученных результатов исследования и их обсуждение. Написан хорошо, представленный материал изложен логично, достаточно иллюстрирован. Обсуждение результатов проведено грамотно. Обоснованность полученных результатов обеспечена применением современной научно-методической базы, с использованием современных методов исследований.

Достоверность результатов работы не вызывает сомнений. Экспериментальные данные получены на большом объёме выборок для *in silico* анализа с последующей верификацией в ходе проведённых лабораторных исследований с применением современных методик. Сделанные выводы строго базируются на полученных результатах исследования и полностью им соответствуют.

По материалам диссертации представлено шесть научных работ, опубликованных в журналах, входящих в список ВАК, большая часть из которых относится к изданиям Q1. Работа прошла апробацию научным сообществом в ходе представления на российских и международных конференциях. Публикации автора полностью отражают основные результаты проведённых исследований. Дополнительно диссертантом представлено две научные публикации, имеющие отношение к теме выполненного диссертационного исследования.

Общая характеристика диссертационной работы.

Диссертационная работа Ксении Андреевны Кузнецовой имеет традиционную структуру и состоит из Введения и четырех разделов, включающих обзор литературы, описание использованных материалов и методов, описание полученных результатов и их обсуждение. Диссертация завершается выводами и списком цитируемой литературы, включающем 585 источников отечественных и зарубежных исследователей. Работа изложена на 202 страницах, содержит 7 таблиц и 40 рисунков, а также Приложение.

В разделе Обзор литературы диссертантом дан глубокий анализ состояния исследований по выявлению механизмов формирования запасующих корней у высших растений, подчеркивая значимость этих работ для генетики развития растений. Автором рассматриваются особенности формирования латеральных меристем у растений с акцентом на развитие латеральных меристем корня и, в частности, корнеплода у редиса. Этот вид растения рассматривается как перспективный объект для изучения генетики развития запасующего корня по двум важным критериям. С одной стороны, редис относится к ранним корнеплодным культурам с коротким вегетационным периодом (около 30-ти дней), что представляется удобным при его использовании в качестве модели для изучения механизмов формирования латеральных меристем. С другой стороны, на кафедре генетики и биотехнологии СПбУ в распоряжении исследователей имеется уникальная коллекция

глубоко инбредных линий редиса, различающихся между собой по способности к образованию опухолей. Диссертантом приведена характеристика опухолей, формирующихся на различных частях у растений, в том числе на корнях. Особый акцент сделан на описании особенностей формирования спонтанных опухолей, представляющих собой очаги с повышенной интенсивностью клеточной пролиферации и характеризующихся максимумами ауксинового ответа, что может быть обусловлено мутациями по некоторым регуляторным генам. Учитывая особенности формирования опухолей в имеющейся в распоряжении исследователей коллекции инбредных линий редиса диссертантом логично сформулирована цель и задачи исследования по выявлению механизмов формирования латеральных меристем корнеплода с использованием двух близкородственных линий редиса, контрастно различающихся по способности к формированию опухоли. В обзоре литературы приведена вся необходимая информация об особенностях формирования спонтанных опухолей у редиса на примере имеющейся коллекции.

Во второй главе диссертационной работы описаны материалы – две линии редиса, контрастно различающиеся по способности к образованию опухолей – опухолеобразующая и безопухолевая, а также приведены условия их выращивания. Приведены описания методов анализа данных секвенирования геномов двух исследуемых линий редиса, выявление генов системы WOX-CLAVATA в формировании латеральных меристем корнеплода редиса, а также методы выявления регуляторных элементов, координирующих экспрессию этих генов.

В главе Результаты диссертантом представлены результаты собственных исследований, где последовательно описываются проведенные эксперименты. Эта часть диссертационной работы разделена на четыре раздела, первый из которых посвящен анализу геномов двух контрастных по способности к образованию опухолей линий редиса. Приведены данные оценки качества сборки геномов двух исследуемых линий, данные по выявлению генов с однонуклеотидными заменами (SNP), инсерциями и делециями в геноме опухолеобразующей линии редиса с последующей их верификацией с помощью секвенирования ампликонов. Во втором разделе автором приведены результаты идентификации и хромосомной локализации генов WOX и CLE с анализом структуры кодируемых ими белков. Третий раздел включает полученные экспериментальные данные о влиянии отдельных генов семейства WOX и CLE на формирование корнеплода и экспрессию генов редиса с применением растений со сверхэкспрессией этих генов в качестве моделей. Последний раздел этой главы посвящен выявлению транскрипционных факторов с применением различных методов и подходов молекулярного анализа, а также методов *in silico*. Представленные экспериментальные результаты логично описываются в общем виде в заключении, которым завершается эта часть диссертационной работы.

Последняя глава диссертационной работы посвящена обсуждению полученных результатов в соответствии с имеющимися к данному моменту времени результатами других исследовательских групп. Положительной стороной данной части работы является анализ дальнейшего развития исследований в направлении выявления механизмов формирования запасяющего корня у высших растений, а также выявление генов, которые могут послужить в качестве мишеней для геномного редактирования в селекционно-генетических программах по улучшению хозяйственно-ценных характеристик сортов редиса. Выводы диссертационной работы соответствуют цели и поставленным для ее достижения задачам.

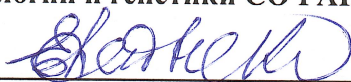
С учетом всего вышесказанного полагаю, что содержание диссертационной работы Кузнецовой Ксении Андреевны на тему: «Система **WOX-CLAVATA** и ее мишени в регуляции развития запасяющего корня и спонтанных опухолей у редиса посевного (*Raphanus sativus* L.)» соответствует специальности 1.5.7. Генетика.

Диссертация является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение научной задачи, имеющей значение для развития отрасли знаний, связанной с генетикой развития растений, а также представлены гены-мишени для последующих работ по геномному редактированию с целью улучшения хозяйственно-ценных признаков у корнеплодных культур, в частности, редиса.

Нарушений пунктов 9, 11 Порядка присуждения Санкт-Петербургским государственным университетом ученой степени кандидата наук, ученой степени доктора наук соискателем ученой степени мною не установлено.

Диссертация соответствует критериям, которым должны отвечать диссертации на соискание ученой степени кандидата наук, установленным приказом от 19.11.2021 № 11181/1 «О порядке присуждения ученых степеней в Санкт-Петербургском государственном университете» и рекомендована к защите в СПбГУ.

**Член диссертационного совета,
доктор биологических наук по специальности 03.02.07 - Генетика,
профессор, главный научный сотрудник,
зав.лабораторией биоинженерии растений
Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный
исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН»**



Е.В. Дейнеко

20 января 2025 года

Подпись д.б.н., проф. Дейнеко Е.В. заверяю:

Ученый секретарь
ФГБНУ «ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН»
кандидат биологических наук
Орлова Галина Владимировна



/Орлова Г.В./