

**Отзыв официального оппонента
на диссертацию Азарахш Махбубех**

«Изучение роли транскрипционного фактора KNOX3 в процессе органогенеза клубеньков бобовых растений», представленную на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – генетика

Актуальность тематики, связанной с исследованием одного из ключевых факторов органогенеза азотфиксирующих клубеньков бобовых растений, объясняется, с одной стороны, важным практическим значением ввиду роли симбиотических клубеньков в накоплении растением азотсодержащих органических соединений. С другой стороны, исследование на генетическом уровне процесса клубенькообразования, как модельной системы, позволяет лучше понять процессы пролиферации и дедифференциации растительных клеток. В своей работе автор использовала широкий спектр генетических, молекулярно-биологических и биохимических методов для изучения роли генов семейства KNOX в клубенькообразовании у люцерны *Medicago truncatula*, а также выяснения роли данных генов в регуляции биосинтеза цитокинина. Грамотная постановка задач, подбор адекватных подходов для их решения и четкое планирование работы позволили автору получить **оригинальные приоритетные** результаты, а именно **впервые** установить роль транскрипционных факторов семейства KNOX в развитии симбиотических клубеньков у люцерны, предположить механизм их действия в данном процессе (через активацию цитокининового ответа); **впервые** показать возможное участие фактора KNOX3 в авторегуляции клубенькообразования путем влияния на экспрессию генов, кодирующих CLE-пептиды; сделать заключение о сходных механизмах активации биосинтеза цитокинина в побеговой апикальной меристеме и клубеньках, а также при авторегуляции клубенькообразования.

Постановка задач в настоящей диссертационной работе логично вытекает из результатов тщательного анализа относящихся к исследуемой проблеме данных, опубликованных в отечественных и зарубежных научных изданиях. **Обзор литературы**, занимающий 44 страницы текста диссертационной работы, содержит известные сведения о транскрипционных факторах семейства KNOX и их роли в развитии растений и, в частности, в развитии симбиотических клубеньков, а также о роли различных транскрипционных факторов и гормонов в этих процессах, о молекулярных основах бобово-ризобиальных взаимодействий. По стилю изложения обзор носит не просто описательный, но аналитический характер, что

делает его весьма ценным. Завершается данный раздел заключением, в котором кратко суммировано состояние дел в мировой науке по изучению транскрипционных факторов семейства KNOX в развитии растений, обозначены нерешенные вопросы по данному направлению исследований, и обосновано использование *M. truncatula* в качестве модели для решения поставленных задач.

В своей работе автор использовала широкий спектр **современных методов** генетики, генетической инженерии, биохимии и молекулярной биологии. Эксперименты, основанные на количественной сравнительной оценке, выполнены с учетом необходимого числа биологических и технических повторностей, применены подходящие методы статистического анализа. Используемые материалы и методы описаны подробно, в той степени детализации, которая достаточна для воспроизведения экспериментов.

Полученные автором **результаты** очень хорошо задокументированы, в разделе Результаты и обсуждение представлены более 40 качественных информативных иллюстраций. Через данный раздел четко прослеживается логика работы. Исследование имеет завершённый характер, а последние его этапы являются настоящим украшением работы. Автор не просто показала взаимосвязь фактора KNOX3 с экспрессией генов метаболизма цитокинина, но и осуществила изучение связывания данного фактора с промоторами предполагаемых генов-мишеней при использовании двух независимых экспериментальных подходов (анализа сдвига электрофоретической подвижности и метода поверхностного плазмонного резонанса), а также доказала роль KNOX3 в активации пути биосинтеза цитокинина путем сравнительной оценки уровня цитокининов в корнях трансгенных растений, отличающихся по уровню экспрессии KNOX3.

Важное достижение – установление роли транскрипционных факторов семейства KNOX в развитии симбиотических клубеньков у люцерны и установление механизма действия этих ТФ в данном процессе. **Доказано** участие фактора KNOX3 в активации генов биосинтеза цитокинина (*MtIPT3/5*, *MtLOG2*), и **выявлено** взаимодействие гомеодомена ТФ KNOX3 с регуляторными последовательностями генов *MtIPT3*, *MtIPT5*, *MtLOG1*, *MtLOG2*.

В разделе «Заключение» автором обобщены полученные результаты и сделано предположение о том, что регуляторный модуль KNOX-IPT/LOG может функционировать помимо ПАМ и в других случаях: при развитии

симбиотических клубеньков, а также в листьях при активации системы авторегуляции клубенькообразования.

Наряду с этими приоритетными результатами и важным теоретическим обобщением, имеющими высокую **теоретическую значимость**, следует отметить и практическую ценность работы, так как понимание механизмов клубенькообразования у люцерны дает основу для управления данным процессом путем направленных изменений в геноме.

Обоснованность и достоверность заключений и выводов, сделанных в работе, не вызывает никаких сомнений. Стоит отметить, что результаты работы прошли хорошую **апробацию** на отечественных и международных научных конференциях и были **опубликованы** в виде пяти статей в рецензируемых научных журналах из списка ВАК, в том числе трех в высокорейтинговых журналах, индексируемых Web of Science, и двух в Scopus.

В целом работа выполнена на очень высоком уровне как по постановке проблемы и методическому исполнению, так и по глубине обсуждения результатов. Для написания диссертационной работы автором проанализировано 234 литературных источника.

Автореферат оформлен по всем правилам и отражает основные положения представленной работы.

Название полностью отражает комплекс выполненных исследований.

Заключение. Диссертационная работа Азарахш Махбубех «Изучение роли транскрипционного фактора KNOX3 в процессе органогенеза клубеньков бобовых растений», представленная на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – генетика, является законченным научно-квалификационным исследованием. По оригинальности, новизне, достоверности материалов и сформулированным выводам работа соответствует критериям пп. 9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842, предъявляемым к диссертациям на соискание учёной степени кандидата наук, а её автор Азарахш

Махбубех заслуживает присуждения искомой учёной степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – генетика.

Хлесткина Елена Константиновна

д.б.н., профессор РАН,
Врио директора
Федерального государственного
бюджетного научного учреждения
«Федеральный исследовательский центр
Всероссийский институт генетических
ресурсов растений имени Н.И. Вавилова»,
ул. Большая морская, 42-44,
Санкт-Петербург, 190000
тел.: +7(812)3125161
e-mail: director@vir.nw.ru
Санкт-Петербург, 11 мая 2018 г.



Специальность 03.02.07-ГЕНЕТИКА