

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ  
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ  
«ФЕДЕРАЛЬНЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР БИОРАЗНООБРАЗИЯ  
НАЗЕМНОЙ БИОТЫ ВОСТОЧНОЙ АЗИИ»  
ДАЛЬНЕВОСТОЧНОГО ОТДЕЛЕНИЯ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК  
(ФНЦ БИОРАЗНООБРАЗИЯ ДВО РАН)

690022, г. Владивосток, проспект 100-летия Владивостока, 159  
тел.: (423) 231-04-10, факс: 231-01-93, e-mail: info@biosoil.ru

\*\*\*\*\*

16147/233 от 14.05.2024

«УТВЕРЖДАЮ»  
Директор ФНЦ Биоразнообразия ДВО РАН  
чл.-корр. РАН

Гончаров Андрей Анатольевич

14 мая 2024 года

**Отзыв ведущей организации на диссертационную работу**

Бережневой Зои Александровны

«Роль генов экспансинов и ксилоглюканэндогликозилаз в регуляции роста корней при абиотическом стрессе», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по научной специальности 1.5.21. Физиология и биохимия растений.

**Актуальность темы выполненной работы**

Растениеводство является основной отраслью в экономической деятельности человека, поскольку производит основные базовые продукты питания и материалы для других секторов экономики. Важной особенностью растениеводства является то, что из-за прикрепленного образа жизни, возрастающего антропогенного влияния и изменчивости климатических условий, растения постоянно подвергаются губительным воздействиям химической и физической природы (абиотическим факторам). Под действием абиотических факторов ослабленные растения легче подвергаются заражению различными патогенами бактериальной, грибной или вирусной природы. Все это приводит к колоссальным убыткам в сельском хозяйстве.

Классическим способом борьбы с засухой, засолением, высокими или низкими температурами в растениеводстве является отбор устойчивых сортов, основанный на многолетнем наблюдении за ростовыми и продуктивными особенностями имеющихся сортов растений, дальнейшее скрещивание сортов между собой или с дикими исходными сортами.

При детальном изучении защитных механизмов растений появляется возможность более быстрого способа получения сортов с интересующими свойствами. Ввиду прикрепленного образа жизни растения развили огромное многообразие молекулярно-биологических защитных реакций на неблагоприятные условия роста и развития изучением которых занимаются тысячи ученых по всему миру. Реакции многообразны и затрагивают разные уровни, молекулы и органеллы. В том числе клеточная стенка растений подвергается укреплению и защите, например, в результате накопления целлюлозы. Но это приводит к тому, что замедляет рост и развитие растений. Поэтому у растений существуют белки (экспансины или EXP, ксилоглюканэндотрансгликозилазы или XET), которые разрыхляют клеточную стенку и способствуют быстрому росту и развитию различных органов растений, в том числе и корневой системы.

Таким образом, работа актуальна в области изучения одного из вида защитных реакций растений, что может помочь получению новых более устойчивых к засолению, загрязнению тяжелыми металлами, низким температурам сортов растений.

### **Новизна исследования, полученных результатов, выводов, сформулированных в диссертации**

Научная новизна диссертационной работы заключается в исследовании влияния сверхэкспрессии нескольких генов экспансинов (*EXP*) и ксилоглюканэндотрансгликозилаз (*XET*) на рост и развитие корневой системы у растений табака *Nicotiana tabacum* (сорт Petit Havana). Впервые показано, что сверхэкспрессия генов EXP (*NtEXPA1*, *NtEXPA5*, *PnEXPA3*,



*AtEXPA10*) и ХЕТ (*PrtXTH1*) увеличивает размер корневой системы проростков табака при солевом стрессе, ацетате кадмия и в меньшей степени при гипотермии. При условии, что корневая система является важным органом растений и что обычно существует корреляция между ее размером и размером наземной части, то определенные результаты имеют прикладное значение в отношении поиска методов улучшения роста и продуктивности растений при неблагоприятных условиях выращивания.

Представленные результаты и выводы являются уникальными и несут существенное научное значение, доказательством данных слов могут служить публикации в высокорейтинговых рецензируемых изданиях.

### **Достоверность результатов исследования**

Полученные научные результаты и выводы Бережной Зои Александровны являются обоснованными и достоверными. Это обусловлено адекватностью выбранных методических подходов, правильностью использования этих методов, хорошей выборкой экспериментальных данных, детальным описанием полученных данных.

Работа выполнена на хорошем методическом уровне. Основные результаты диссертации опубликованы в иностранных и отечественных реферируемых высокорейтинговых изданиях и доложены на многих конференциях.

Содержание автореферата соответствует основным положениям диссертационной работы. Все использованные в работе данные получены самим автором или при непосредственном участии автора на всех этапах выполнения представленной работы.

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

Диссертационная работа Бережной Зои Александровны содержит уникальные фундаментальные результаты по физиологии и биохимии

растений. Более того, некоторые результаты по устойчивости к засолению или загрязнению почвы тяжелыми металлами представляют практический интерес для получения более устойчивых сортов растений.

Полученные соискателем результаты важны для развития фундаментальных представлений о росте и развитии корневой системы растений, участия в этих процессах разных генов *EXP* и *XET*.

### **Общая характеристика работы**

Рукопись диссертации изложена на 167 страницах, состоит из Введения, глав Обзора литературы, Материалов и методов исследования, Результатов исследования и их обсуждения и Заключения. В диссертационной работе так же имеются выводы, перечень сокращений и список литературы. Иллюстративный материал содержит 4 таблицы и 33 рисунка. Обзор литературы написан подробно и четко.

Содержание автореферата отражает защищаемые положения диссертации. По теме диссертации опубликовано 21 работа, в том числе 5 статей в рецензируемых журналах из базы данных Web of Science, рекомендованных ВАК Министерства науки и высшего образования Российской Федерации.

Для реализации поставленных задач использован большой объем экспериментального материала, проведено множество экспериментов по анализу роста и развития корневой системы в трансгенных растениях табака, сверхэкспрессирующих гены *EXP* и *XET* под абиотическими стрессовыми воздействиями (засоление, загрязнение тяжелыми металлами, гипотермия). Более того, авторами сделаны гистологические исследования трансгенных корней, показана их антиоксидантная способность.

В целом диссертационное исследование Бережневой З.А. заслуживает положительной оценки, так как выполнена большая по объему, трудоемкая, грамотно построенная работа, завершенная важными в научном и практическом отношении результатами.



## Вопросы к работе и замечания

В ходе знакомства с диссертационной работы возник ряд вопросов, замечаний и предложений, которые представлены ниже:

1) При знакомстве с диссертацией и списком опубликованных работ становится понятно, что авторы первоначально исследовали экспрессию генов *EXP* и *XET* в табаке под действием абиотических стрессов и фитогормонов. На мой взгляд, нужно было представить эти результаты, потому что они улучшили бы логичность и понимание выбора данных генов.

2) Авторам следовало бы более подробно описать процедуру получения трансгенных растений, особенности их отбора и хранения.

3) Известно, что при трансформации генетическими конструкциями, содержащими трансгены, которые схожи с генами трансформируемого растения, может происходить ослабление функционирования трансгена и схожего гена растений (сайлисинг трансгенов). Исследовали ли экспрессию эндогенных генов *EXP* и *XET* в трансгенных растениях табака?

4) Хотелось бы отметить, что, на мой взгляд, сочетание буквенного обозначения и «звездочек» не понятно, например, как в Рис. 3.31. Тогда желательно указывать под какой буквой рисунка использовано какое представление статистических данных. Более того, в случае «звездочек» всегда нужно указывать с чем сравниваются пробы.

5) На странице 61 подробно описано использование маркеров длины ДНК, но на Рис. 3.1 они отсутствуют. Более того, нет дорожек, в которых были бы представлены результаты амплификации «отрицательных контролей» – пробы ПЦР в которые не добавлены исследуемые кДНК.

### Небольшие замечания:

6) Стр. 56: «20 мг ЭДТА на 10 мл  $H_2O$  для получения 5 мМ ЭДТА». ЭДТА имеет молярную массу 292.2 г/М, значит на 10 мл растворителя что бы получить 5 мМ раствор нужно взять около 15 мг (точнее 14.5 мг) ЭДТА, а не 20 мг.

7) Стр. 59: «кДНК строили с использованием», лучше заменить на «кДНК синтезировали с использованием».

8) Стр. 61: «инкубировали при 55-65 °С», желательно указать более точно используемый температурный режим.

9) Стр. 62: «Далее центрифугировали при 14.5 тыс. об/мин» - необходимо указать марку центрифуги и используемого ротора.

10) Стр. 63: «добавляли 2-3 мкл РНК» - необходимо указать концентрацию и общий объем реакции.

11) Стр. 63: «по методу  $2^{-\Delta\Delta C_T}$  (Livak et al. 2001)», заменить на «по методу  $2^{-\Delta\Delta C_T}$  (Livak and Schmittgen, 2001)».

### **Заключение**

Диссертационная работа Бережневой Зои Александровны «Роль генов экспансинов и ксилоглюканэндотрансгликозилаз в регуляции роста корней при абиотическом стрессе», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по научной специальности 1.5.21. Физиология и биохимия растений, является законченной научно-квалификационной работой, в которой исследована работа белков, участвующих в функционировании клеточной стенки растений. По актуальности темы, научному уровню, теоретической и практической значимости результатов диссертация отвечает требованиям п. 9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 23.09.2013 г. № 842, а ее автор Бережнева Зоя Александровна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по научной специальности 1.5.21. Физиология и биохимия растений.

Диссертационная работа Бережневой З.А. и отзыв были обсуждены и одобрены единогласно на заседании лаборатории биотехнологии, протокол № 03 от 02 мая 2024 года.



Отзыв составлен руководителем лаборатории биотехнологии, ведущим научным сотрудником, кандидатом биологических наук по специальности 03.01.06 – Биотехнология (в том числе бионанотехнологии), Киселевым Константином Вадимовичем.

Председательствующий заседания  
кандидат биологических наук,  
руководитель лаборатории  
биотехнологии, ведущий научный  
сотрудник Федерального  
государственного бюджетного  
учреждения науки «Федеральный  
научный центр биоразнообразия  
наземной биоты Восточной Азии»  
Дальневосточного отделения  
Российской академии наук

  
Киселев К.В.

14 мая 2024 г.

Сведения о составителе отзыва:

Киселев Константин Вадимович,

кандидат биологических наук по специальности 03.01.06 – Биотехнология (в том числе бионанотехнологии),

Должность: руководитель лаборатории биотехнологии, ведущий научный сотрудник Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии» Дальневосточного отделения Российской академии наук (ФНЦ Биоразнообразия ДВО РАН),

Адрес организации: 690022, г. Владивосток, проспект 100-летия Владивостока, 159.

Тел.: (423) 231-04-10, факс: 231-01-93, e-mail: info@biosoil.ru, сайт организации: <https://biosoil.ru>

E-mail: kiselev@biosoil.ru; Тел.: +79243204604

Подпись К.В. Киселева заверяю.



Я, Киселев Константин Вадимович, даю согласие на включение своих персональных данных в документы, связанные с защитой диссертации Бережневой Зои Александровны, и их дальнейшую обработку.

«14» 05 2024 г.  Константин Вадимович Киселев