

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

о диссертационной работе Игоря Ивановича Турнаева,
представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук
по специальности 1.5.7 – генетика
«Исследование эволюции белков триптофан-зависимого пути биосинтеза ауксина
у растений»

Актуальность темы исследования. Широкое, чтобы не сказать повсеместное, участие ауксина в разнообразных процессах роста и развития растений, равно как и роль ауксина в ответе растений на вызовы окружающей среды делают актуальными поиски нового знания об этом гормоне, включая пути его синтеза и распада в растениях и эволюцию этих путей от водорослей к эмбриофитам.

Научная новизна исследования. Результатом диссертационного исследования И.И. Турнаева стала ранее неизвестная информация о путях синтеза триптофана и индолилуксусной кислоты (ауксина) у систематически и функционально разнообразных форм водорослей и наземных растений. Автор получил новые сведения о полиморфизме и эволюции нескольких ферментов биосинтеза триптофана и ауксина. Важнейший вывод автора: если путь биосинтеза триптофана возник в результате вертикальной эволюции от зелёных водорослей к наземным растениям, то путь биосинтеза ауксина у наземных растений ведет свое начало от нерастительных организмов.

Практическая значимость основных положений, вынесенных на защиту. Диссертационное исследование И.И. Турнаева носит фундаментальный характер. Однако результаты этого исследования, несомненно, окажутся полезными для подготовки будущих исследователей агрономических специальностей, включая специалистов по марикультуре.

Рекомендации по использованию результатов диссертационной работы. Эти результаты могут быть использованы в университетских курсах физиологии и биохимии растений и эволюционной биологии. В образовательном аспекте, особый интерес представляет развернутое в диссертации обсуждение путей биосинтеза ауксина и методологии анализа сведений о строении белков,

Структура и содержание диссертационной работы. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, результатов и обсуждений, заключения, выводов, списка литературы (382 источника), списка терминов и сокращений. Работа изложена на 195 страницах (включая Приложение), содержит 27 рисунков и 10 таблиц.

В главе 1 диссертации автор подробно описывает пути синтеза триптофана и ауксина и эволюцию этих путей от простых к сложным растениям, в том числе в связи с дупликацией рассматриваемых генов в процессе эволюции, включая появление наземных растений. Обзор несколько перегружен, при том что, к сожалению, в нем преобладают работы, уже попавшие в сводки и не «работающие» в диссертации: после первого упоминания они далее не используются. Напротив, работы последнего десятилетия представлены совершенно недостаточно, будь то обзоры о строении и эволюции геномов и пангеномов (Bock D.G. et al., 2023, <https://doi.org/10.1016/j.xplc.2023.100599>; Heslop-

Harrison J.S. et al., 2023, doi.org/10.1093/aob/mcac132), флавин-монооксидазах (Paul C.E. et al., 2021, <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2021.107712>) и путях биосинтеза ауксина (Luo, P et al., 2023, <https://doi.org/10.3390/>) или об эволюции наземных растений (Bowman J.L, 2022, <https://doi.org/10.1038/s41477-022-01283-y>; Carrillo-Carrasco V.P. et al., 2023 DOI 10.15252/emj.2022113018)..

В главе 2 описаны материалы исследования и методы, использованные для филогенетического анализа выборок, составленных из аминокислотных последовательностей ферментов синтеза триптофана и ауксина. Что касается использованных в диссертации методов биоинформатики, они перечислены полно и корректно. Мои замечания относятся преимущественно к объектам исследования. В центре внимания диссертанта оказалась зеленая филаментная харовая водоросль *Klebsormidium nitens*. Структурные гомологи ферментов синтеза триптофана и ауксина у этой водоросли сравниваются с ортологами или структурными гомологами с неизвестными функциями, которые принадлежат различным группам водорослей и наземных растений, представляющих разнообразные проявления роста и развития. Однако все ли эти последовательности получены секвенированием ферментных белков – или это отчасти результаты трансляции? В каких случаях аминокислотные последовательности принадлежат структурам, функции которых экспериментально доказаны? Как мне представляется, критичным для изучения полиморфизма ферментов синтеза триптофана и ауксина и их структурных гомологов является время последних обращений к базам последовательностей, позволяющее приблизительно определить период формирования базы исследованных последовательностей. Известно, что в период с 2000 по 2020 были секвенированы 1144 генома 782 видов растений, а на протяжении всего трех недавних лет (2021–2023) к ним прибавились еще 2373 генома 1031 вида, среди которых 793 впервые секвенированных генома. Благодаря впечатляющим технологическим достижениям последнего десятилетия, резко улучшилось «качество» секвенированных последовательностей, включая сборки «от теломеры до теломеры» Стали доступными последовательности пангеномов, представляющих важнейшие филогенетические клады (Xie L. et al., 2024, (<https://doi.org/10.1038/s41477-024-01655-6>). Весьма существенно, что количественный взрыв секвенирования в последнее десятилетие сопровождался расширением доли геномов, значительно более сложных, чем геном арабидопсиса, который поначалу служил универсальным референсом. При этом, по мере совершенствования методов геномики, среди секвенируемых геномов быстро возрастает и доля полиплоидных геномов (Marks R.A. et al., 2021 <https://doi.org/10.1038/s41477-021-01031-8>; Sun Y. et al., 2022, DOI: 10.1016/j.tplants.2021.10.006; Shi J. et al., 2023, <https://doi.org/10.1016/j.molp.2022.12.009>).

В главах 3 и 4 диссертации приведены результаты филогенетического анализа ферментов синтеза триптофана и ауксина и их структурных гомологов у многочисленных групп водорослей и высших растений. Анализ генов пути биосинтеза триптофана обнаружил их у общих предков красных и зелёных водорослей в ходе вертикальной эволюции от предков - цианобактерий. Напротив, ферменты синтеза ауксина, принадлежащие к семейству флавин-монооксидаз FMO типа IIb и YUCCA не являются близкородственными, что поддерживает гипотезу Юэ и др. (Yue et al., 2014, DOI: 10.1016/j.tplants.2014.07.004) о происхождении YUCCA у ранних наземных растений.

В главе 5 диссертант сопоставил число копий гомологов ферментов пути биосинтеза триптофана со сложностью организации растений, включенных в исследуемую выборку. Для четырех из семи ферментов пути биосинтеза триптофана два параметра значимо коррелируют, Однако для ферментов синтеза ауксина такая связь не отмечена. Как мне кажется, этот вывод может проистекать из недостаточно представительной выборки исследованных видов растений. Повышение копийности генов и расширение их структурного полиморфизма и аллельного разнообразия - хорошо засвидетельствованные результаты дубликации и последующей рекомбинации генов, особенно у полиплоидных видов растений (Heslop-Harrison J.S. et al., 2023, doi.org/10.1093/aob/mcac132).

Оценка оформления работы. Диссертация написана и оформлена в соответствии с общепринятыми стандартами и хорошо читается. К сожалению, диссертант не избежал погрешностей по части орфографии и особенно синтаксиса. Не всегда корректно оформлена библиография. Некоторые рисунки (скриншоты?) трудно читать. В сокращенных названиях белков на рисунках иногда одновременно используются латиница и кириллица. Автор злоупотребляет сокращениями названий процессов: в результате возникают такие неудобочитаемые конструкции, как «о приобретении ТАА ранними наземными растениями в результате ГПГ от бактерий к НПОП наземных растений» (с. 143) Не всегда удачны кальки англоязычных терминов: «гены...развились до эволюции наземных растений» на с. 35, «широкий спектр выходов ауксиновой сигнализации» на с. 37 или «эксперименты по методу задержки в геле» на с. 40. «Цветы» арабидопсиса и кувшинки (с. 29 и 33) тоже не красят диссертацию о генах роста и развития.

По материалам диссертации опубликованы три статьи в журналах, включенных в Перечень ВАК (все они индексируются в РИНЦ, Scopus и Web of Science), а также многочисленные тезисы научных конференций. Все эти публикации подготовлены в соавторстве с коллегами.

Автореферат и публикации полностью отражают содержание диссертации.

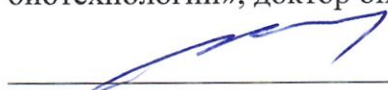
Общая оценка диссертационной работы. Сделанные замечания не снижают научной ценности работы. Оставляя в стороне огрехи, неизбежные при подготовке большой рукописи, можно сказать, что И.И. Турнаев выполнил обширное и трудоемкое исследование эволюции генов синтеза триптофана и ауксина и смог провести интересное обсуждение полученных результатов в контексте привлеченной им литературы. Результаты этого исследования уже включены в контекст мировой литературы, Большая часть моих замечаний по сути проделанной работы связана со стремительным развитием геномики, за которым не всегда могут угнаться экспериментаторы. Все это поправимо, если, как я надеюсь, работа будет продолжена.

Заключение. Содержание диссертации И.И. Турнаева и уровень методического исполнения его исследования полностью соответствуют требованиям, предъявляемым к кандидатской диссертации по специальности 1.5.7 - генетика. Я прихожу к выводу, что диссертация И.И. Турнаева «Исследование эволюции белков триптофан-зависимого пути биосинтеза ауксина у растений» является законченной научно-квалификационной работой, которая по критериям актуальности, научной новизны, равно как

обоснованности и достоверности выводов полностью соответствует требованиям пунктов 9-14 «Положения ВАК о присуждении ученых степеней». Без сомнения, Игорь Иванович Турнаев заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7 – генетика.

Официальный оппонент

главный научный сотрудник, лаборатория ДНК маркеров растений,
ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии», доктор биол. наук, профессор



Эмиль Ефимович Хавкин

23 января 2025 г.

Подпись Э.Е. Хавкина удостоверяю:

Ученый секретарь ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии», к.б.н.



Федина Екатерина Игоревна

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии» (ФГБНУ ВНИИСБ)
ул. Тимирязевская 42, Москва, Россия, 127550. Сайт: www.vniisb.ru/ru/
e-mail: iab@iab.ac.ru Тел.: +7 (499) 976-65-44, факс: +7 (499) 977-09-47