

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу Веры Сергеевны Богдановой «Генетический анализ ядерно-цитоплазматической несовместимости у гороха (*Pisum sativum* L.)», представленную на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.02.07 – генетика.

Для научного сообщества XXI века вполне очевидно существование проблемы генетического разнообразия, создающей серьезные и не всегда преодолимые трудности при улучшении основных возделываемых сельскохозяйственных культур. Классическим путем решения этой острой проблемы является использование генетического материала дикорастущих растений. Однако попытки скрещивания культурных и дикорастущих растительных форм часто заканчиваются неудачей по причине их генетической несовместимости. Установлено, что возникающий при этом геномный конфликт в большинстве случаев обусловлен несовместимостью ядерного и цитоплазматического геномов. Несмотря на достигнутые в последние десятилетия определенные успехи в понимании генетической природы ядерно-цитоплазматического конфликта при скрещивании разных видов энотеры (*Oenothera* L.), а также клеточных гибридов таких представителей пасленовых как красавка (*Atropa belladonna* L.) и табак (*Nicotiana tabacum* L.) в вышеперечисленных и других подобного рода исследованиях остаются неизвестными участники конфликта со стороны ядерного генома. В случае такой важной сельскохозяйственной культуры как пшеница сложилась противоположная ситуация: хотя и установлен ядерный локус, кодирующий фактор несовместимости, но участник(и) конфликта со стороны геномов цитоплазмы остаются неустановленными. В связи с этим **актуальность темы** диссертационной работы В.С. Богдановой, посвященной всестороннему исследованию генетической основы ядерно-цитоплазматического конфликта, наблюдаемого при скрещивании культурного гороха (*P. sativum* L. subsp. *sativum*) с дикими сородичами, принадлежащих тому же виду (*P. sativum* L. subsp. *elatius* (Bieb.) Schmalh.), не вызывает сомнений.

Научная новизна представленной В.С. Богдановой к защите диссертации определяется тем, что в ней путем удачного применения комплексного методологического подхода, включающего гибридологический анализ с использованием гибридов культурного гороха с представителями различных линий дикорастущего гороха, цитологический анализ и секвенирование пластидных геномов впервые получен ряд важных научных результатов, характеризующих генетическую основу ядерно-цитоплазматического конфликта при скрещивании дикой и культурной форм гороха. В работе впервые показано, что ядерно-цитоплазматический конфликт возникает при участии двух несцепленных генов *Scs1* и *Scs2*. При этом наследование аллелей ядерного локуса *Scs1* имеет свои проявления в виде летальности мужских гаметифитов и спорофитов. В то же время аллель *Scs2*,

происходящий от культурного гороха, снижает жизнеспособность мужских гаметофитов, а в гомозиготе приводит к возникновению фенотипа с ярко выраженной ядерно-цитоплазматической несовместимостью. На основании определения нуклеотидных последовательностей пяти пластидных геномов, совместимых и несовместимых с ядерным геном *Scs1*, выдвинуты гены-кандидаты на роль участников ядерно-цитоплазматического конфликта со стороны пластид. В работе впервые представлена модель ядерно-цитоплазматической несовместимости, включающей как ядерные, так и пластидные гены. Несомненная **теоретическая значимость работы** обусловлена и тем, что успешно реализованная попытка изучения генетической природы ядерно-цитоплазматической несовместимости у гороха имеет прямое отношение к выяснению эволюционных механизмов репродуктивной изоляции. Наряду с этим в исследовании В.С. Богдановой впервые продемонстрирована возможность передачи пластид гороха по отцовской линии.

Работа В.С. Богдановой имеет также вполне очевидную **практическую ценность**. В ней впервые охарактеризована модель нарушения белок-белкового взаимодействия между субъединицами ферментного комплекса, кодируемыми в ядре и пластидах. Представленная модель создает возможность исследования генетическими методами функционирования такого важного фермента липидного обмена как пластидная ацетил-коА-карбоксилаза. Очевидно, что выявление генетических систем, контролирующих совместимость или несовместимость в скрещиваниях разных форм гороха, в значительной степени облегчит реализацию селекционных программ, использующих диких сородичей гороха в качестве доноров хозяйственно-ценных признаков. Созданная автором в ходе работы серия рекомбинантных инбредных линий на основе гибридизации культурного и дикого гороха может применяться для генетического картирования.

Характеристика диссертации. Работа Веры Сергеевны Богдановой представляет собой законченное исследование, отвечающее по оформлению всем требованиям, предъявляемым к докторским диссертациям. Она изложена на 198 страницах и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, 3 глав, в которых приведены результаты собственных исследований и их обсуждение, заключения, выводов, и списка цитируемой литературы. Работа иллюстрирована 30 рисунками и 12 таблицами. Список цитированной литературы включает 136 источников (из них 15 отечественных), имеющих прямое отношение к теме диссертации. Имеется также приложение, содержащее 1 таблицу.

Во введении, написанном по общепринятой форме, автор с использованием работ отечественных и иностранных специалистов по проблеме изучения генетической природы ядерно-цитоплазматического конфликта обосновывает актуальность избранной темы исследования, формулирует цель и задачи работы. В этом же разделе в кратком виде приводятся сведения, характеризующие диссертационную работу в целом.

В превосходно написанном **обзоре литературы**, включающем четыре раздела, автором детально рассмотрены современные представления о ядерно-цитоплазматической несовместимости у растений, генетическом анализе феномена и известные сведения о его молекулярно-генетических основах у исследованных к настоящему времени видов растений. В начальном разделе этой главы справедливо отмечается важная эволюционная функция ядерно-цитоплазматического конфликта в создании репродуктивной изоляции, а также особая роль нарушения нормального функционирования митохондрий и хлоропластов в проявлении конфликта ядерного и цитоплазматических геномов. Завершают обзор литературы краткие заключительные замечания, суммирующие современные представления о молекулярной природе нарушения функций органелл при гибридизации.

В главе «**Материалы и методы**» приводится подробное описание использованных в работе линий культурного и дикорастущего гороха, процедур их выращивания и скрещивания, характеристики видимых и молекулярных маркеров. Важно, что все образцы гороха, использованные в исследовании, представляли собой высокоинбредные линии и прошли не менее 7-8 поколений самоопыления. Можно подчеркнуть большую значимость для решения основных задач исследования получения популяции рекомбинантных инбредных линий, без которой было бы невозможно картирование генов несовместимости. В данной главе автором детально описаны также методические подходы, использованные при выделении ДНК и РНК, проведении ПЦР, синтезе кДНК и определении нуклеотидных последовательностей. Важную часть главы составляет описание процедур выделения пластидной ДНК, высокопроизводительного секвенирования на платформе Ion Torrent PGM и сборки пластидных геномов.

Центральной частью работы являются три главы с изложением **результатов собственных исследований** и их обсуждения. В первой из этих глав дается фенотипическое описание ядерно-цитоплазматической несовместимости у гороха. Автору удалось убедительно доказать связь ядерно-цитоплазматического конфликта у растений этого вида с наследованием пластид, но не митохондрий. В числе важных проявлений конфликта продемонстрированы существенные изменения ультраструктуры хлоропластов и нарушения мейоза. Следующая глава посвящена изложению результатов генетического анализа ядерно-цитоплазматической несовместимости у гороха. В процессе выявления ядерных генетических факторов, участвующих в конфликте ядра и пластид, были успешно идентифицированы гены *Scs1* и *Scs2*, исследованы особенности их наследования, фенотипическое проявление, а также влияние аллельного состояния этих генов на жизнеспособность мужских гаметофитов и спорофитов. Важным результатом этой части работы было картирование этих генов. К числу безусловных достижений работы следует отнести выявление автором генов-кандидатов на роль участников ядерно-цитоплазматического конфликта у гороха. Для решения этой весьма сложной

задачи была успешно проведена работа по реконструкции пяти пластидных геномов, поиску вовлеченных в ядерно-цитоплазматический конфликт как пластидных генов-кандидатов, так и ядерных генов, функционально связанных с пластидными генами-кандидатами. Как следует из полученных автором результатов, наиболее вероятным участником конфликта со стороны пластидного генома является ген *accD*, кодирующий субъединицу ацетил-коА-карбоксилазы, а со стороны ядерного генома - ген *Vscp3*, идентичный локусу *Scs1*. В целом, можно заключить, что автору удалось вполне успешно решить все поставленные в работе задачи: определить и корректно охарактеризовать с использованием современных методов молекулярной генетики гены-кандидаты на роль участников ядерно-цитоплазматического конфликта, возникающего при скрещивании представителей вида *Pisum sativum*.

Материалы автореферата и 15 опубликованных в журналах из Перечня ВАК РФ работ полностью отражают содержание диссертации. Работа В.С. Богдановой прошла успешную апробацию на всероссийских и международных конференциях.

Выводы диссертации, в целом, удачно отражают ее содержание. Степень обоснованности выводов, научных положений и рекомендаций не вызывает сомнений.

При знакомстве с диссертационной работой не возникло каких-либо замечаний, относящихся к ее оформлению, изложению и анализу полученных научных результатов. Можно отметить наличие очень незначительного количества практически неизбежных в такой большой по объему работе небольших неточностей и погрешностей, относящихся исключительно к ее оформлению. В качестве примера можно привести следующие:

1. В табл.1 на стр. 52 приводится неудачное описание молекулярного маркера *trnK*. Однако в тексте его описание корректно.
2. На стр. 145 текста автор использует неудачное выражение «неправильное взаимодействие субъединиц структурных белков», хотя речь на самом деле идет о «неправильном взаимодействии субъединиц мультибелкового ферментного комплекса». Но и в этом случае далее по тексту используется корректное описание фермента.

В целом, эти замечания ни в коей мере не снижают несомненной научной ценности проделанного В. С. Богдановой исследования, которое по своей теме полностью соответствует специальности "генетика". С основными положениями, выносимыми на защиту, оппонент согласен.

Заключение

Диссертация Веры Сергеевны Богдановой «Генетический анализ ядерно-цитоплазматической несовместимости у гороха (*Pisum sativum* L.)», представленная на соискание ученой степени доктора биологических наук является законченной научно-исследовательской работой, в которой автором получен ряд оригинальных фактов и выводов по проблеме ядерно-цитоплазматической несовместимости у высших растений. По актуальности,

новизне, теоретической и практической значимости, методическому уровню работа соответствует п.9 "Положения о порядке присуждения учёных степеней", утверждённого Постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013г., предъявляемым ВАК Минобразования и науки РФ к диссертациям на соискание учёной степени доктора наук, а ее автор безусловно достоин присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.02.07 – генетика.

Заведующий лабораторией генетической инженерии ФГБУН Сибирский институт физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук, д.б.н., проф.


/Константинов
Юрий Михайлович/

28.10.2017

Данные об авторе отзыва

Константинов Юрий Михайлович, доктор биологических наук, профессор, заведующий лабораторией генетической инженерии растений СИФИБР СО РАН

664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 132, а/я 317.

Тел.+7 (3952) 42-67-21

Факс +7 (3952)51-07-54

Сайт: <http://sifibr.irk.ru>

E-mail: matmod@sifibr.irk.ru



Подпись *Константинова Ю.М.*
ЗАВЕРЯЮ
Начальник отдела кадров
Александрова М.Г.

28.10.2017