

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ



Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова
Российской академии наук
(ИОГен РАН)

ул. Губкина, д. 3, г. Москва, ГСП-1, 119991
Тел.: (499) 135-62-13, (499) 135-20-41
Факс: (499) 132-89-62

E-mail: iogen@vigg.ru
http: www.vigg.ru

24.10.2018 № 92 - 01-25/641

На № _____

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор ФГБУН Института общей генетики
им. Н.И. Вавилова Российской академии наук,
доктор биологических наук
А.М. Кудрявцев

«24» октября 2018 г.

ОТЗЫВ

ведущей организации Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Института общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук» на диссертационную работу **Добровольской Оксаны Борисовны** на тему «Молекулярно-генетические основы морфогенеза соцветия пшеницы», представленную к защите в диссертационном совете Д 003.011.01 на базе ФГБУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук» на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07-генетика

Актуальность исследования

Изучение молекулярно-генетических механизмов, лежащих в основе процессов развития высших растений, определение генетических детерминант развития соцветий – важные проблемы современной биологии и генетики развития, имеющие фундаментальное значение. Исследования генетических основ процессов развития соцветий значимых в хозяйственной деятельности возделываемых растений, к которым относится мягкая пшеница *T. aestivum* L., имеют, кроме того, очевидную практическую значимость. Особенности морфогенеза соцветия пшеницы определяют его строение и напрямую связаны с элементами продуктивности. В связи с этим изучение структурно-функциональной организации генов, контролирующих отдельные этапы морфогенеза соцветия пшеницы, необходимо для решения актуальных научных задач и имеет прикладное значение для селекции новых

высокоурожайных форм. Несмотря на очевидную научную и практическую значимость, изучение генетических основ развития соцветия пшеницы отстает от аналогичных исследований, выполненных на модельном объекте растений – *Arabidopsis thaliana*, а также на экономически важных сельскохозяйственных злаках – рисе *Oryza sativa* и кукурузе *Zea mays*. Прежде всего это связано со сложной структурой генома пшеницы, который характеризуется аллополиплоидной природой, наличием повторяющихся последовательностей ДНК (около 80%) и большим размером. Выполнение подобного рода исследований требует разработки новых научных подходов и использования адекватных генетических моделей.

Таким образом, исследование, проведенное Добровольской Оксаной Борисовной, посвященное изучению генетической регуляции морфогенеза соцветия пшеницы (*Triticum L.*), чрезвычайно актуально как для решения фундаментальных задач, так и для практического применения.

Научная новизна работы

Диссертационная работа Добровольской Оксаны Борисовны посвящена изучению генетического контроля морфогенеза соцветия пшеницы, особое внимание уделено развитию колоска – базовой структуры в составе соцветия злаков. Результаты, полученные Оксаной Борисовной являются **новыми и несут приоритетный характер**. Автором впервые были идентифицированы гены и локусы количественных признаков, определяющие формирование многоколосковых фенотипов мягкой пшеницы, определена их локализация на молекулярно-генетических картах хромосом, установлены функции генов в развитии соцветия. Важным результатом исследований стало выделение с использованием позиционного клонирования гомеологов гена *Wheat FRIZZY PANICE (WFZP)*, являющихся ключевыми регуляторами развития соцветия злаков на стадии формирования колоска – структуры, характерной только для представителей семейства Злаки. Впервые была изучена структурно-функциональная организация этих генов у диплоидных, тетраплоидных и гексаплоидных видов пшеницы, определена их роль в развитии. Автору удалось показать, что именно мутации генов *WFZP* вызывают формирование дополнительных колосков на уступах колосового стержня пшеницы. Проведенные исследования обнаружили, что установление идентичности флоральных меристем базальной части многоцветкового колоска пшеницы находится под контролем генов-гомеологов *WFZP*, а в установлении идентичности флоральных меристем дистальной части колоска участвует ген *SHAM RAMIFICATION 2 (SHR2)*. При этом гены *WFZP* и *SHR2*, действуют независимо и принадлежат разным генетическим путям регуляции развития.

Теоретическая и практическая значимость исследования

Для изучения генетической регуляции морфогенеза соцветий растений со сложными аллополиплоидными геномами автором был разработан комплексный подход, основанный на использовании генетических моделей – коллекции мутантов различного происхождения со сходными нарушениями морфогенеза соцветия, принадлежащих как одному виду, так и различным видам в пределах одного полиплоидного ряда рода *Triticum* L. Полученные при выполнении диссертационной работы знания о генетической регуляции морфогенеза соцветия пшеницы необходимы для проведения дальнейших исследований механизмов генетической регуляции процессов развития растений, идентификации генов и генных сетей, определения возможных генов-мишеней направленного воздействия на программы развития растений с целью получения новых перспективных линий и форм злаков с улучшенными качествами. Созданная автором коллекция линий пшеницы с нарушениями морфогенеза соцветия – является важным генетическим ресурсом для проведения фундаментальных исследований, а охарактеризованные линии могут служить источниками признаков при создании новых перспективных форм пшеницы. Разработанные в ходе выполнения диссертационной работы новые ДНК маркеры могут быть использованы как в фундаментальных, так и прикладных исследованиях. Таким образом, результаты имеют явное практическое значение.

Структура и общая характеристика диссертационной работы

Диссертационная работа Добровольской Оксаны Борисовны имеет стандартную структуру и состоит из всех необходимых разделов: введения, обзора литературы, описания материалов и методов, описания результатов и их обсуждение, заключения, выводов, Списка сокращений и условных обозначений, списка цитируемой литературы и приложения. Работа изложена на 293 страницах печатного текста, содержит 16 таблиц и 68 рисунков и приложение. Список цитированной литературы включает 280 ссылок на работы, опубликованные в ведущих отечественных и зарубежных изданиях.

Во Введении соискателем четко обоснована актуальность проведенного исследования, показана степень разработанности темы в мировой науке, сформулирована цель исследований, обоснованы задачи, положения, выносимые на защиту, представлены научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы.

Цель исследования и задачи сформулированы корректно; положения выносимые на защиту базируются на основных результатах диссертационного исследования.

Глава 1. (Обзор литературы) В главе представлена информация об эволюционных аспектах происхождения злаков, рассматриваются особенности организации их геномов. Отдельные разделы главы посвящены обобщению имеющихся в литературе данных об этапах органогенеза растений, особенностях строения соцветий злаков, их развитии и генетической регуляции. Подробно рассмотрены работы, посвященные изучению многоколосковых форм пшеницы и ржи. В разделе «Заключение к Главе 1» обобщены результаты исследований генетической регуляции развития соцветий растений, показано, что соцветия злаков отличаются некоторые характерные особенности функционирования меристем. Отмечена важность проведения исследований не только на модельных объектах, но и на экономически важных культурах, к которым относится мягкая пшеница. Таким образом, автором обоснована актуальность цели и задач исследований. В целом, следует отметить, что в главе отражены основные направления исследования в изучаемой области.

Глава 2 (Материал и методы) В полной мере отражает материалы исследования, включая описание линий пшеницы с нестандартным морфотипом колоса, популяций гибридов мягкой пшеницы *T. aestivum* L. и ржи посевной *S. cereale* L. Методы представлены подробно и четко. В работе использовался комплексный подход, сочетающий методы микроскопии, классической генетики, а также современные подходы молекулярной генетики и геномики.

Результаты исследований изложены в главах 3, 4, 5 и 6

В конце каждой главы дается раздел «Обсуждение и заключение», в котором приведено обсуждение полученных результатов, их обобщение и основные выводы. Таковую структуру работы можно отнести к достоинствам диссертации, так как она существенно упрощает восприятие разнообразных данных, полученных соискателем.

Глава 3 (Результаты) Состоит из семи разделов. Посвящена изучению особенностей развития соцветий у линий пшеницы с нестандартными морфологическими типами колоса с применением методов световой и сканирующей электронной микроскопии. Представлено детальное описание отдельных стадий морфогенеза соцветий изучаемых линий, результаты сравнительного анализа, выполненного с использованием генетических моделей «почти изогенная линия – рекуррентный родитель» и «мутант – исходный сорт». Подробное описание фенотипов соцветий изучаемых линий проиллюстрировано фотографическими изображениями высокого качества и дополнено схемами, что упрощает восприятие материала. Отдельные стадии морфогенеза соцветий задокументированы и показаны в виде панелей изображений световой микроскопии и SEM. Результаты исследований четко сформулированы, полученные данные обобщены, их обсуждение представлено в отдельном

разделе главы. Важным результатом исследований стало выявление закономерностей формирования соцветий нестандартных морфологических типов, на основании чего гетерогенная группа многоколосковых линий, отнесенных к разным морфотипам по результатам визуальной оценки, была разделена на три отдельные подгруппы с различными изменениями морфогенеза соцветия. Автором впервые показано, что в основе формирования колосьев многоколосковых морфотипов с сидячими дополнительными колосками и ветвистостью колоса лежат однотипные изменения морфогенеза соцветия. Охарактеризованные линии являются моделями для изучения генетической регуляции морфогенеза соцветия пшеницы. Они были использованы на последующих этапах работы.

Глава 4 (Результаты) Состоит из шести разделов. Посвящена изучению генетической регуляции признака многоколосковости мягкой пшеницы *T. aestivum* L. и признака *monstrosum* ржи посевной *S. cereale* L. Для выявления генов, регулирующих развитие соцветий с измененной морфологией (формированием дополнительных колосков на уступах колосового стержня) и установления их точной локализации на картах хромосом были применены методы классической генетики и современные подходы анализа генома растений, включая молекулярно-генетическое картирование. Автором впервые определена локализация генов *Mrs1/qSS-D*, отвечающих за формирование многоколосковых соцветий пшеницы различных морфологических типов, на молекулярно-генетической карте хромосомы 2DS мягкой пшеницы. Обнаружено, что признак *monstrosum* ржи посевной *S. cereale* находится под контролем рецессивного аллеля гена *Mol*, локализованного в коротком плече хромосомы 2R в области консервативной синтении с районами хромосом мягкой пшеницы 2DS и 2AS, содержащими локусы *Mrs1/qSS-D* и *qSS-A*. Показано, что перестройки хромосомы 2D могут приводить к многоколосковости и компактности колоса.

Глава 5 (Результаты) Состоит из семи разделов. Посвящена определению структурно-функциональной организации гена *mrs1*, контролирующего многоколосковый фенотип мягкой пшеницы. Для установления гена-кандидата на роль *mrs1*, дальнейшего выделения ортолога гена в геноме мягкой пшеницы автором были использованы современные подходы молекулярной генетики и сравнительной геномики растений. С помощью COS-SSCP подхода были определены области консервативной синтении хромосомы 2DS пшеницы, хромосом риса, сорго и *B. dictashyon* и найден наиболее вероятный ген-кандидат на роль *mrs1* – ортолог гена риса *FRIZZY PANICLE (FZP)*. Добровольской О. Б. получены результаты мирового уровня: впервые в геноме мягкой пшеницы выделен ключевой регулятор развития соцветия, контролирующий установление идентичности цветковых меристем – ген *wheat FRIZZY PANICLE (WFZP)*. Использование генетической модели – детально

охарактеризованных в ходе выполнения диссертационной работы многоколосковых линий мягкой пшеницы разного происхождения - позволило определить ключевую роль гена *WFZP* в определении архитектуры колоса злаков и установить функциональную значимость домена AP2/ERF этого гена. Изучение особенностей экспрессии гомеологов *WFZP-A*, *-B* и *-D* данного гена обнаружило различный уровень транскриптов, с преобладанием *WFZP-D*. Такая “асимметричная” экспрессия генов гомеологов привела к неодинаковому вкладу отдельных гомеологических копий гена в формирование фенотипа колоса, и результаты однотипных мутаций в таких генах имели разную степень фенотипического проявления. Обнаруженный автором феномен отражает процесс ко-адаптации субгеномов в составе единого аллополиплоидного генома в процессе эволюции.

Важное практическое значение имеют разработанные соискателем молекулярные ДНК маркеры (COS и SSR), которые могут быть использованы как в фундаментальных, так и в прикладных исследованиях.

Глава 6 (Результаты). Состоит из пяти разделов. Посвящена изучению структурно-функциональной организации гена *WFZP* диплоидных и тетраплоидных видов пшеницы. Среди основных результатов, представленных автором в этой главе, следует отметить установление консервативности функций гена *WFZP* в контроле морфогенеза соцветия в пределах рода *Triticum*. Кроме того, была уточнена функциональная роль *WFZP*: в процессе развития многоцветкового колоска пшеницы ген *WFZP* контролирует переход к установлению идентичности флоральных меристем базальной части колоска. Автором впервые было показано, что в формировании многоцветкового колоска пшеницы на стадии закладки и дифференцировки цветковых меристем его дистальной части принимает участие ген *Sham Ramification 2 (SHR2)*. Впервые показано, что установление идентичности цветковых меристем базальной и дистальной частей многоцветкового колоска пшеницы находятся под контролем генов *WFZP* и *SHR2*, действующих независимо на разных этапах развития колоска. Автором была выдвинута гипотеза о том, что установление идентичности флоральных меристем базальной и дистальной частей многоцветкового колоска пшеницы находятся под управлением разных генетических путей регуляции развития.

Результаты работы тщательно документированы рисунками, таблицами и приложением.

Заключение

В данном разделе суммированы и обобщены результаты исследований. Подчеркнуто, что полученные результаты внесли существенный вклад в понимание молекулярно-генетических механизмов, управляющих развитием соцветия пшеницы на стадии формирования колоска.

Выводы. По результатам проведенных исследований сформулированы выводы, которые логически вытекают из результатов выполненного исследования. Выводы хорошо аргументированы и полностью соответствуют полученным результатам, целям и задачам работы. Обоснованность выводов и результатов не вызывает сомнений.

Достоверность результатов исследований

Оксаной Борисовной Добровольской выполнены исследования на уникальном материале – линиях пшеницы с нестандартными морфологическими типами соцветий, на основе которых ею были получены генетические модели – группы линий независимого происхождения с однотипными нарушениями морфогенеза соцветия. Линии были детально охарактеризованы с применением методов микроскопии, молекулярной генетики и цитогенетики. Использование адекватных моделей и комплекса современных подходов анализа генома растений позволило получить полную информацию о локализации и структурной организации генов, управляющих морфогенезом соцветия пшеницы, точно интерпретировать полученные результаты. Материалы диссертации были представлены на многочисленных всероссийских и международных конференциях, опубликованы в журналах списка ВАК, отечественных и международных журналах, в том числе высокорейтинговых журналах, относящихся к Q1-квартилю. Таким образом, результаты исследований и выводы высоко достоверны и не вызывают сомнений.

Автореферат диссертационной работы О.Б. Добровольской и опубликованные ею работы полностью отражают содержанию диссертации.

Несмотря на большое теоретическое и практическое значение полученных результатов, считаем целесообразным высказать несколько замечаний:

- 1) В целом текст работы проиллюстрирован фотографиями очень высокого качества, однако микрофотографии на рис. 3.14 стр. 111 не содержит шкалы.
- 2) Допущена ошибка в названии эволюционной линии Timorpheevi на страницах 200 и 201 (обозначено Timorpheevii).

Замечания, однако, не снижают высокой оценки диссертационной работы.

Рекомендации по использованию результатов диссертационной работы

Разработанный автором комплексный подход для изучения морфогенеза соцветий со сложными аллополиплоидными геномами может быть использован в научно-исследовательских лабораториях Института молекулярной биологии им. Энгельгардта РАН (Москва), Института общей генетики им. Вавилова РАН (Москва) и других институтах и лабораториях, специализирующихся в области генетики растений. Результаты исследований

могут быть рекомендованы для включения в лекционные курсы «Генетика развития растений», «Генетика и селекция растений» высших учебных заведений – биологических факультетов университетов и институтов России.

Заключение

Диссертационная работа ДОБРОВОЛЬСКОЙ Оксаны Борисовны «Молекулярно-генетические основы морфогенеза соцветия пшеницы» является завершенной и оригинальной научно-исследовательской работой в области генетики развития растений, отличается новизной и актуальностью. Она полностью соответствует уровню современных биологических исследований. Достоверность полученных результатов не вызывает сомнений. Выполненные исследования позволили получить значимые результаты, которые внесли вклад в современные представления о генетической регуляции морфогенеза соцветия пшеницы и злаков в целом. Приведенные в работе научные положения и выводы логично аргументированы, опираются на экспериментальные данные и основаны на научных положениях и теоретических закономерностях.

По уровню научной значимости полученных результатов, по их новизне и оригинальности диссертационная работа ДОБРОВОЛЬСКОЙ Оксаны Борисовны «Молекулярно-генетические основы морфогенеза соцветия пшеницы» полностью соответствует критериям пп. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842 (в редакции с изменениями, утвержденными постановлением Правительства РФ от 21 апреля 2016 г. №335), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора биологических наук, а ее автор ДОБРОВОЛЬСКАЯ Оксана Борисовна заслуживает присуждения ей искомой степени доктора биологических наук по специальности 03.02.07 – генетика.

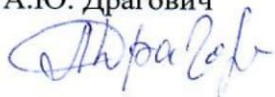
Отзыв ведущей организации о научно-практической ценности диссертации Добровольской Оксаны Борисовны на тему «Молекулярно-генетические основы морфогенеза соцветия пшеницы» обсужден на заседании научного семинара отдела генетики растений ФГБУН Института общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук 22 октября 2018 г. (протокол №14 от 22 октября 2018 г.)

Данные об организации

Федеральное государственное учреждение науки Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, адрес: Москва, ГСП-1, ул. Губкина, д. 3; телефон: (499) 135-62-13, электронный адрес: iogen@vigg.ru; сайт: www.vigg.ru

Отзыв составлен:
зав. лабораторией генетических основ идентификации растений
Федерального государственного бюджетного учреждения науки
Института общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук
доктором биологических наук

А.Ю. Драгович



Подпись д.б.н. А.Ю. Драгович удостоверяю
Ученый секретарь ФГБУН ИОГен РАН
Доктор биологических наук
О.А. Огаркова



Сведения о составителе отзыва:
Драгович Александра Юрьевна, доктор биологических наук, зав. лабораторией
генетических основ идентификации растений Федерального государственного бюджетного
учреждения науки Института общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук
(ИОГен РАН)

Адрес: РФ, 119991, ГСП-1, Москва, ул. Губкина, д. 3

Раб. тел.: 8(499)135-5362; e-mail: dragovich@vigg.ru; dragova@mail.ru