

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 003.011.01

НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО  
НАУЧНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ  
ЦЕНТР ИНСТИТУТ ЦИТОЛОГИИ И ГЕНЕТИКИ СИБИРСКОГО  
ОТДЕЛЕНИЯ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК»

ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ  
ДОКТОРА БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК

Аттестационное дело № \_\_\_\_\_

Дата защиты 21 ноября 2018 г. протокол № 32

О присуждении Добровольской Оксаны Борисовны  
ученой степени доктора биологических наук.

Диссертация Добровольской О.Б. «Молекулярно-генетические основы морфогенеза соцветия пшеницы» по специальности 03.02.07 – генетика, принята к защите 18.07.2018 г, протокол № 19, диссертационным советом Д 003.011.01 на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», (630090, Новосибирск, пр. акад. Лаврентьева, 10). (далее ИЦиГ СО РАН). Диссертационный совет Д 003.011.01 утвержден ВАК 15.01.2010, приказ ВАК № 1-7 и переутвержден Министерством образования и науки РФ 11.04.2012 года, приказ № 105/нк.

**Соискатель:** Добровольская Оксана Борисовна, 1969 года рождения, окончила Новосибирский государственный университет по специальности «Биология» в 1991 году, в 2003 г. защитила кандидатскую диссертацию на тему: «Характеристика пшенично-ржаных замещенных линий с использованием микросателлитных маркеров и изучение влияния отдельных хромосом ржи на показатели андрогенеза *in vitro*» и получила степень кандидата биологических наук по специальности генетика (КТ №116560 от 05.03.2004). Работает в ИЦиГ СО РАН с 1991 года, в настоящее время в

должности старшего научного сотрудника лаборатории молекулярной генетики и цитогенетики растений ИЦиГ СО РАН.

Диссертация выполнена в лаборатории молекулярной генетики и цитогенетики растений ИЦиГ СО РАН, г. Новосибирск.

Научный консультант: **Салина Елена Артемовна**, доктор биологических наук, профессор, зав. лаборатории молекулярной генетики и цитогенетики растений ИЦиГ СО РАН, Новосибирск.

Официальные оппоненты:

1. **Лутова Людмила Алексеевна**, доктор биологических наук, профессор, зам. декана по научной работе Биологического факультета ФГБОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный университет», г. Санкт-Петербург.
2. **Потокина Елена Кирилловна**, доктор биологических наук, и.о. заместителя директора по научной работе, главный научный сотрудник лаборатории мониторинга генетической эрозии растительных ресурсов ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н. И. Вавилова» г. Санкт-Петербург.
3. **Осипова Светлана Владимировна**, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории физиолого-биохимической адаптации растений ФГБУН «Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН», г. Иркутск

Оппоненты дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Института общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук», г. Москва в своем положительном заключении, подписанном д. б. н. Драгович А.Ю., и утвержденном директором д.б.н. Кудрявцевым А.М., указало, что «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 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 О.Б. 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)».

Соискатель имеет всего 98 научных трудов из них 37 по теме диссертации, общим объемом 293 страницы, в том числе 23 статьи, опубликованных в научных рецензируемых изданиях (Входят в Scopus и в WoS) и 16 тезисов в материалах всероссийских и международных конференций.

Наиболее значительные статьи Добровольской О.Б. по теме диссертации:

1. Dobrovolskaya, O. *FRIZZY PANICLE* drives supernumerary spikelets in bread wheat (*T. aestivum* L.) / O. Dobrovolskaya, C. Pont, R. Sibout, P. Martinek, E. Badaeva et al. // *Plant Physiol.* – 2015. – V 167. – P. 189–199.
2. Dobrovolskaya, O. Microsatellite mapping of genes that determine supernumerary spikelets in wheat (*T. aestivum*) and rye (*S. cereale*) / O. Dobrovolskaya, P. Martinek, A.V. Voylokov, V. Korzun, M.S. Röder, A. Börner // *Theor Appl Genet.* – 2009. – V. 119. – P. 867–874.
3. Dobrovolskaya, O.B. Genes *WHEAT FRIZZY PANICLE* and *SHAM RAMIFICATION 2* independently regulate differentiation of floral meristems in wheat / O.B. Dobrovolskaya, Y. Amagai, K.I. Popova, A.E. Dresvyannikova, P. Martinek, A.A. Krasnikov, N. Watanabe // *BMC Plant Biology.* – 2017. – V. 17, Suppl. 2. – Article 252.
4. Добровольская, О.Б. Изучение морфогенеза соцветия и выявление особенностей наследования признака “многоколосковость” у мутантной линии мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) / О.Б. Добровольская, Е.Д. Бадаева, И.Г. Адонина, О.М. Попова, А.А. Красников, Л.И. Лайкова // *Онтогенез.* – 2014. – Т. 45. – С. 434–414.

На автореферат диссертации поступило 17 отзывов, все положительные. Отзывы прислали:

1. Войлоков А.В., д.б.н., заведующий лабораторией генетики и биотехнологии растений ФГБУН «Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Санкт-Петербургский филиал», г. Санкт-Петербург.
2. Давоян Р.О., д.б.н. заведующий отделом биотехнологии ФГБНУ «НЦЗ им. П.П. Лукьяненко», г. Краснодар.
3. Ежова Т.А., д.б.н. профессор, профессор кафедры генетики Биологического факультета ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», г. Москва.

4. Карлов Г.И., д.б.н. профессор, член-корреспондент РАН, директор ФГБНУ «ВНИИ сельскохозяйственной биотехнологии», Дивашук М.Г. к.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории диагностики патогенов растений ФГБНУ «ВНИИ сельскохозяйственной биотехнологии», г. Москва.
5. Куркиев К.У., д.б.н. директор Филиала Дагестанская опытная станция ФГБНУ «ФИЦ Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова»; республика Дагестан, Дербентский район, пос. Вавилово.
6. Радченко Е.Е., д.б.н. главный научный сотрудник, руководитель отдела генетики ФГБНУ «ФИЦ Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова», г. Санкт-Петербург.
7. Степочкин П.И., д.с.-х.н., ведущий научный сотрудник СИБНИИРС-филиал ИЦИГ СО РАН, г. Новосибирск.
8. Трифонов В.А., к.б.н., заведующий лабораторией сравнительной геномики ФГБУН «Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН», г. Новосибирск.
9. Тюнин В.А., д.с.-х.н., главный научный сотрудник лаборатории селекции яровой пшеницы и Кушниренко И.Ю., заведующий лабораторией селекции яровой пшеницы ФГБНУ «Челябинский научно-исследовательский институт сельского хозяйства», Челябинская область, Чебаркульский район, п. Тимирязевский.
10. Шаманин В.П., д.с.-х.н., профессор, профессор кафедры агрономии, селекции и семеноводства и Потоцкая И.В., к.с.-х.н., доцент кафедры агрономии, селекции и семеноводства ФГБОУ ВО «Омский ГАУ».
11. Плотникова Л.Я., д.б.н. профессор кафедры агрономии, селекции и семеноводства ФГБОУ ВО «Омский государственный аграрный университет», г. Омск.
12. Сандухадзе Б.И., академик РАН, профессор, д.с.-х.н., главный научный сотрудник лаборатории селекции озимой пшеницы и Лапочкина И.Ф., д.б.н. главный научный сотрудник лаборатории генетики и биотехнологии ФГБНУ Московского НИИСХ «Немчиновка», Московская обл.

13. Сурин Н.А., академик РАН, д.с.-х.н., главный научный сотрудник отдела селекции, и Зобова Н.В. д.с.-х.н., главный научный сотрудник отдела оценки селекционного материала Красноярского научно-исследовательского института сельского хозяйства- подразделение ФГБНУ «Красноярский научный центр СО РАН», г. Красноярск.

14. Вершинин В.Л., д.б.н. профессор, заведующий лабораторией функциональной экологии наземных позвоночных ФГБУН «Института экологии растений и животных Уральского отделения Российской академии наук», г. Екатеринбург.

15. Лоскутов И.Г., д.б.н. главный научный сотрудник, заведующий отделом генетических ресурсов овса, ржи и ячменя, и Ковалева О.Н., к.б.н., ведущий научный сотрудник отдела генетических ресурсов овса, ржи, ячменя ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр «Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова», г. Санкт-Петербург.

16. Логинов Ю.П., д.с.-х.н., профессор кафедры Технологии производства, хранения и переработки продукции растениеводства и Казак А.А. к.с.-х.н., зав. кафедры Технологии производства, хранения и переработки продукции растениеводства ФГБОУ ВО «Государственный аграрный университет Северного Зауралья».

17. Солдатенко А.В., директор ФГБНУ «Федеральный научный центр овощеводства» и Бондарева Л.Л., д.с.-х.н., заведующая лабораторией селекции и семеноводства капустных культур ФГБНУ «Федеральный научный центр овощеводства».

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается тем, что официальные оппоненты являются компетентными специалистами в области генетики и цитогенетики, имеют публикации в ведущих биологических журналах и дали свое письменное согласие быть оппонентами. Ведущая организация является одним из ведущих Институтов в нашей стране в области генетики.

**Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных** соискателем исследований разработан комплексный подход к анализу механизмов регуляции морфогенеза соцветий растений со сложными аллополиплоидными геномами, применение которого позволило выявить новые закономерности генетической регуляции развития колоса пшеницы *Triticum L.* на стадии формирования колоска – базовой структуры соцветия злаков. В процессе реализации этого подхода созданы новые генетические модели, включающие серии линий разного происхождения с однотипными нарушениями морфогенеза соцветия диплоидных, тетраплоидных и гексаплоидных видов пшеницы, принадлежащих к одной эволюционной линии. **Предложена гипотеза**, согласно которой установление идентичности флоральных меристем базальной и дистальной частей многоцветкового колоска пшеницы находится под управлением разных генетических путей регуляции развития.

**Теоретическая значимость исследования обоснована тем**, что впервые выделены гомеологичные копии гена *Wheat FRIZZY PANICLE* из субгеномов А, В и D аллогексаплоидного генома мягкой пшеницы *T. aestivum L.* ( $2n=42$ ; ВВААDD) и определена их функциональная роль. **Показано**, что гомеологичные копии гена *WFZP* кодируют транскрипционные факторы семейства AP2/ERF, функции которых в пределах эволюционной линии Emmer рода *Triticum L.* консервативны.

Впервые **изучена** структурная организация гомеологичных копий гена *WFZP* у линий пшеницы видов *T. aestivum* (ВВААDD), *T. turgidum* (ВВАА), *T. durum* (ВВАА) и *T. monococcum* (АА), имеющих нарушения морфогенеза соцветия, которые приводят к формированию дополнительных колосков или «веточек» на уступах колосового стержня. **Доказано**, что формирование многоколосковых и ветвистоколосых фенотипов колоса обусловлено мутациями в функциональном домене AP2/ERF генов-гомеологов *WFZP-D* и/или *WFZP-A*.

**Проведен** сравнительный анализ отдельных этапов развития соцветий линий мягкой пшеницы *T. aestivum* L. со стандартным фенотипом колоса и *wfzp*-мутантов. **Доказано**, что ген *WFZP* играет ключевую роль в установлении идентичности флоральных меристем колоска пшеницы.

**Изучена** транскрипционная активность генов-гомеологов *WFZP* в различных органах пшеницы, включая соцветия на различных этапах развития. **Показано**, что экспрессия гомеологичных копий генов *WFZP* субгеномов А, В и D характеризуется органо- и стадиейспецифичностью. **Доказано**, что вклад гомеологичных копий гена *WFZP* в контроль формирования соцветий нестандартных морфологических типов аллополиплоидных видов пшеницы эволюционной линии Emmer не одинаков и зависит от принадлежности к геному А, В или D.

**Изучены** кариотипы многоколосковых и ветвистоколосых линий мягкой пшеницы. **Доказано**, что замещение хромосомы 2D и делеции в коротком плече хромосомы 2D мягкой пшеницы могут оказывать влияние на морфологию колоса, вызывая развитие дополнительных колосков и эктопических «веточек» на уступах колосового стержня.

**Изучены** особенности развития соцветия у линии пшеницы вида *T. turgidum* морфотипа «ложно-истинное ветвление колоса», формирование которого находится под контролем рецессивного аллеля гена *SHAM RAMIFICATION 2* (*SHR2*). **Доказано**, что ген *SHR2* контролирует установление идентичности флоральных меристем дистальной части многоцветкового колоска пшеницы и определяет детерминированность колосковой меристемы.

**Проведен** анализ фенотипов гибридов F<sub>1</sub> и F<sub>2</sub> от скрещивания мутантов *wfzp-A/TtBH-A1 T. durum* и *shr2 T. turgidum*. **Доказано**, что гены *WFZP* и *SHR2* контролируют установление идентичности цветковых меристем на разных стадиях развития многоцветкового колоска пшеницы и действуют независимо.



**Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что сформирована и детально охарактеризована коллекция линий пшеницы с нарушениями морфогенеза соцветия. Коллекция содержит ценный генетический материал – модели для исследований генетических основ морфогенеза соцветия пшеницы, идентификации новых генов, управляющих развитием соцветия, установления их структурно-функциональной организации. Линии коллекции используются в качестве исходного материала для получения новых сортов пшеницы д-ром П. Мартинекком (Agrotest Fyto Ltd, Кромержиж, Чешская республика).**

В ходе выполнения диссертационной работы разработаны новые молекулярные ДНК маркеры (COS, SSR), которые могут быть использованы в фундаментальных и прикладных исследованиях генетики пшеницы.

Полученные теоретические знания могут быть использованы в научно-исследовательских учреждениях биологического и сельскохозяйственного направления, связанных с изучением генетики и селекции злаков, а также в образовательном процессе при чтении курсов по генетике развития, селекции и биотехнологии растений. Результаты диссертационной работы используются при чтении курса лекций «Генетика развития растений» в Новосибирском государственном аграрном университете.

**Применительно к проблематике диссертации результативно использован комплексный подход, основанный на применении широкого спектра современных методов молекулярной биологии, микроскопии и методологии генетического анализа. Оценка фенотипов коллекции линий с нарушениями морфогенеза соцветий проведена с использованием световой и сканирующей электронной микроскопии. Картирование генов, построение молекулярно-генетических карт и изучение генетических факторов, определяющих нестандартные морфотипы колоса пшеницы, проведено с использованием классического генетического анализа. Структурно-функциональная организация генов, управляющих развитием соцветия**

пшеницы, изучена с помощью современных подходов молекулярной генетики растений, включая методы сравнительной геномики, позиционное клонирование, анализ экспрессионной активности генов (количественная ОТ-ПЦР). Функциональная роль генов, управляющих развитием соцветия пшеницы, установлена на основе анализа особенностей развития соцветий детально охарактеризованных моделей – линий пшеницы независимого происхождения с однотипными изменениями морфогенеза соцветия.

**Оценка достоверности результатов исследования выявила** их высокую надежность и воспроизводимость, которая подтверждается использованием для их получения различного набора методов анализа – молекулярно-генетических, цитогенетических, световой и электронной микроскопии, а также адекватных генетических моделей, включающих широкий спектр линий пшеницы – изогенные, делеционные, мутантные линии, несущие гены общего происхождения в разной генотипической среде. Методы установления геномного состава линий и форм пшеницы, методы и подходы картирования генов и геномов были апробированы и адаптированы для решения задач диссертационной работы. Достоверность локализации генетических локусов на молекулярно-генетических картах хромосом пшеницы подтверждается использованием нескольких картирующих популяций растений. Интерпретация результатов о локализации, структурной организации и функциональной роли генов, контролирующих морфогенез соцветия мягкой пшеницы и близкородственных видов, учитывает данные, полученные ранее другими исследователями по рассматриваемой тематике, в том числе, на других растительных объектах, включая наиболее изученный вид злаков – *Oryza sativa*. Результаты получены на сертифицированном оборудовании и могут быть использованы другими исследователями.

**Личный вклад автора** состоит в непосредственном участии автора в планировании, проведении и обсуждении всех экспериментов, по результатам которых написана диссертация, представлении материалов и подготовке

публикаций. Основные результаты получены автором самостоятельно. В большинстве опубликованных работ имя автора находится на первом месте, что отражает его роль в планировании и проведении экспериментов, входящих в диссертационную работу.

Полученные соискателем научные результаты соответствуют п. 1. «Молекулярные и цитологические основы наследственности», п. 5 «Методы генетического анализа у прокариот и эукариот. Генетическое картирование. Генетика пола. Внехромосомная наследственность», п. 8 «Генетика индивидуального развития. Аппоптоз. Иммуногенетика» и п. 13 «Частная генетика микроорганизмов, растений и животных. Генетика соматических клеток. Симбиогенетика» паспорта специальности 03.02.07 – генетика (биологические науки).

Диссертационным советом сделан вывод о том, что диссертация представляет собой законченную научно-квалификационную работу, соответствует критериям пункта 9, абзац 1 «Положения о присуждении учёных степеней», утвержденным постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842.

На заседании 21 ноября 2018 года диссертационный совет принял решение присудить Добровольской Оксане Борисовне учёную степень доктора биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 23 человек, из них 7 докторов наук по специальности, участвующих в заседании, из 27 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за – 23, против – нет, недействительных бюллетеней – нет.

Председатель диссертационного совета,

академик РАН

Ученый секретарь диссертационного совета,

доктор биологических наук



*[Handwritten signature]*

В.К. Шумный

Т.М. Хлебодарова

21.11.2018 г.