

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

ведущего научного сотрудника, доктора биологических наук

Агафонова Александра Викторовича

на диссертационную работу Гордеевой Елены Ивановны

«ГЕНЕТИЧЕСКАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ФИОЛЕТОВОЙ ОКРАСКИ ПЕРИКАРПА

ЗЕРНА МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ (*TRITICUM AESTIVUM* L.)»,

выполненную на соискание ученой степени кандидата биологических наук

по специальности 03.02.07 – “Генетика”

Актуальность тематики, связанной с генетическим контролем флавоноидных пигментов в растительных объектах объясняется поиском новых источников антиоксидантных соединений, которые в последние годы рассматривают как один из факторов продления жизни при регулярном употреблении в пищу.

В своей работе автор Гордеева Елена Ивановна подробно исследовала одну из генетических систем, контролирующих синтез флавоноидных пигментов, а именно — антоциановой группы пигментов, придающих фиолетовую окраску перикарпу зерна пшеницы.

Можно в полной мере согласиться с аргументацией автора относительно актуальности темы. В целом, работа производит весьма благоприятное впечатление. Поставлена достаточно четкая цель – подробно изучить функциональную роль одной из групп генов, контролирующих синтез антоцианов в зерновках пшеницы, а именно, проявление признака «фиолетовый перикарп». Для достижения цели были применены вполне адекватные методы, положенные в основу решения пяти конкретных задач.

Общая характеристика работы.

Следует отметить, что все замечания, сделанные мною на этапе подготовки к межлабораторному семинару, в той или иной степени учтены в окончательном варианте диссертации. Работа построена в традиционной композиции и оформлена в соответствии с требованиями ВАК. Соблюдены все правила построения рукописи по всем необходимым разделам. Работа изложена на 121 страницах машинописного текста и включает следующие разделы:

Введение (5 стр.), Обзор литературы (32 стр.), Материалы и методы (10 стр.), Результаты (18 стр.), Обсуждение (13 стр.), Заключение (4 стр.), Выводы (6 пунктов), Список литературы (240 наименований, из них 214 на иностранных

языках) и Приложение (3 рисунка и 8 таблиц).

Цель исследования сформулирована четко и конкретно – выявление особенностей генетической регуляции фиолетовой окраски перикарпа зерна пшеницы путем создания и анализа изогенных линий. Но ни в одной из 5 задач нет упоминания о создании изогенных линий на основе ярового сорта Саратовская 29. Это пояснение сделано только на стр. 43 в подглаве 2.1. Растительный материал главы 2 Материалы и методы.

Положения, выносимые на защиту, отредактированы до предельно возможной краткости. На мой взгляд, можно было несколько подробнее изложить защищаемое **положение 2**: Между генами *Pp* существует взаимная регуляция: ген *Pp-D1* может вызывать частичную супрессию *Pp3*. А может и не вызывать? На стр. 67–68 находим подтверждение тому, что *Pp-D1* именно супрессирует *Pp3*, хотя и частично.

Раздел Литобзор. Таблица 2 на стр. 26 несколько перегружена, возможно, ее следовало бы разделить на две, поскольку в них приводятся разные характеристики.

Несколько странным видится термин «почти изогенные линии» (стр. 35). Здесь проявляется смешение языковых стилей. Так, в ботанике известен вид с русским названием Пырейник почтиволокнистый, но в латинском звучании это *Elymus subfibrosus*. Может, и здесь такие «почти изогенные линии» правильнее называть «субъизогенными линиями»? Тем более что термин «субгеном» достаточно хорошо прижился.

Все подразделы главы **Материалы и Методы** демонстрируют обширный набор взаимосвязанных методов и методик, примененных авторов, без заметных неточностей. В целом, этот раздел описан достаточно лаконичным, концентрированным и поэтому сложным в грамматическом отношении стилем. Очевидно, что в данном случае этот стиль обусловлен большим числом спецтерминов, индексов и обозначений, необходимых для краткого изложения сути многочисленных методов. Но при этом можно отметить только отдельные недочеты редакционного характера.

Глава 3. Результаты.

Подраздел 3.1. с названием **Маркер-контролируемое получение изогенных линий пшеницы с различными комбинациями аллелей в локусах**

Pp-A1, *Pp-D1* и *Pp3* демонстрирует множественные процедуры, в результате которых были получены гомозиготные растения с различными комбинациями аллелей.

Подраздел 3.2. Раскрывает процедуры по проведению анализирующих скрещиваний, необходимых для установления факта, что линия *i:S29Ra* имеет доминантный аллель *Pp-1*, который тесно сцеплен с двумя другими генами (*Rc-D1* и *Ra-D1*) в хромосоме 7D.

В подразделе 3.3. показаны краткие результаты изучения относительного содержания антоцианов в целом зерне изогенных линий пшеницы. Приведенный рисунок подтверждает вывод о том, что в линиях с интенсивной окраской перикарпа, то есть, с доминантными аллелями в двух комплементарных локусах *Pp-D1* и *Pp3*, содержание антоцианов в 53-75 раз превышает их содержание в остальных линиях, где отсутствует хотя бы один доминантный аллель. А статистическая значимость указанных различий подтверждается результатами теста Манна-Уитни, приведенными в таблицах 1-2 Приложения.

Подраздел 3.4. Изучение функциональной роли отдельных генов *Pp* в регуляции транскрипции генов биосинтеза антоцианов в перикарпе зерна пшеницы. Здесь приводятся результаты изучения транскрипционной активности двух генов *Chi* и *F3h*, ответственных за биосинтез антоцианов в перикарпе, подкрепленные результатами статистического анализа, изложенными в таблицах 3-6 Приложения. Показано различия между регуляцией гена *Chi* и гена *F3h*. Экспрессия этого гена наблюдается даже у растений, рецессивных по всем трем регуляторным генам *Pp*. Приведенный рисунок демонстрирует гораздо большую экспрессию при добавлении доминантных аллелей. А вот для гена *F3h* критичным является одновременное присутствие доминантных аллелей *Pp-D1* и *Pp3*. В этой же главе приводятся результаты изучения транскрипционной активности регуляторного гена *TaMycl* в перикарпе линий с различными комбинациями аллелей *Pp-D1* и *Pp3*. Соответствующий рисунок демонстрирует существенное преобладание мРНК *TaMycl* в линиях с доминантным *Pp3*. При этом в парах сестринских линий, отличающихся только по *Pp-D1*, наблюдается некоторое снижение уровня мРНК *TaMycl* в присутствии доминантного аллеля *Pp-D1*.

В конце главы 3 дано промежуточное заключение, где кратко во взаимосвязанном виде приводятся результаты по отдельным подразделам. Это

заключение построено достаточно логично и демонстрирует целостность проведенной работы, как законченного исследования.

Глава 4. Обсуждение. По сути, это не является повтором локальных обсуждений в подразделах, поскольку в процессе изложения результатов их обсуждение было, скажем так, минимальным. Весьма важным видится тезис о том, что благодаря использованию микросателлитных маркеров процесс создания линий удалось ускорить вдвое, а объем исследуемого растительного материала сократить в 70 раз. Поясняется значение уточнений номенклатуры по гену *Pp-A1* не только вновь полученных линий, но и линий, используемых в скрещиваниях в качестве родительских. Так, мы теперь знаем, что исходный сорт Саратовская 29 может быть охарактеризован, как линия *i:S29Pp-A1pp-D1pp*.

Кроме того, приводятся примеры использования новых изогенных линий для изучения регуляции биосинтеза антоцианов у пшеницы, а также для экспериментов, направленных на выявление взаимосвязи между синтезом антоцианов в перикарпе зерна пшеницы и устойчивостью к различным факторам биотического и абиотического стресса.

Заключение. В принципе, этот раздел очень уместен при подведении общих итогов работы.

Раздел Выводы. Их число не соответствует числу и последовательности поставленных задач, возможно, потому, что выявление гена *Pp-A1* (вывод 2) изначально не ставилось, как задача. Этот ген был выявлен при решении задачи 1. Можно было бы вписать его в вывод 1, но автор решил все-таки вынести в отдельный вывод. Таким образом, нумерация сдвинулась, и задаче 2 уже соответствует вывод 3. Однако в целом по своему содержанию выводы, сделанные в работе, безусловно, соответствуют поставленным задачам.

Список литературы составлен в соответствии с новыми требованиями 2014 года.

В целом, работа выполнена на очень высоком уровне, как по постановке проблемы и методическому исполнению, так и по глубине обсуждения результатов. Некоторая трудность в восприятии работы обусловлена большим числом спец. обозначений, которые очень непросто отследить в процессе чтения. В грамматическом отношении общим для всех работ недостатком можно назвать ошибки с расстановкой запятых, чаще всего стоят лишние, но иногда и

пропущены. В тексте очень редко встречаются опечатки, а в списке литературы, кроме этого, не всегда выделены курсивом латинские названия видов и обозначения генов.

Что касается реферата, то он оформлен по всем правилам и отражает основные положения представленной работы.

Название полностью отражает комплекс выполненных исследований.

Заключение. Диссертационная работа Гордеевой Елены Ивановны «Генетическая регуляция фиолетовой окраски перикарпа зерна мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.)», выполненная под руководством доктора биологических наук Хлесткиной Елены Константиновны и представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – «генетика», является законченным научно-квалификационным исследованием. По оригинальности, новизне, достоверности материалов и сформулированным выводам работа соответствует требованиям пункта 9 «Положения о присуждения ученых степеней», предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а её автор Елена Ивановна Гордеева заслуживает присуждения искомой учёной степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – «генетика».

Доктор биологических наук,
Ведущий научный сотрудник

Агафонов Александр Викторович

Лаборатория интродукции редких и исчезающих видов растений

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки

Центральный сибирский ботанический сад

Сибирского отделения Российской академии наук

<http://www.csbgnsc.ru>

634090, г. Новосибирск,

ул. Золотодолинская, д. 101

Телефон: +7 (383) 339-97-91

E-mail: agalex@mail.ru

16.01.15.

