

ОТЗЫВ официального оппонента

на диссертацию Антонины Андреевны Киселевой «Локализация и взаимодействие генов В-генома мягкой пшеницы, индуцирующих колошение», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – Генетика

Актуальность исследования. Молекулярно-генетические механизмы регуляции онтогенеза относятся к числу центральных фундаментальных проблем генетики. Ключевым этапом развития растений является переход от вегетативной фазы развития к генеративной. Время наступления фазы цветения у растений – важный биологический признак, определяющий продолжительность вегетационного периода. У возделываемых растений время цветения является ценным для селекции признаком, с которым связаны продуктивность, засухоустойчивость, зимо- и морозостойкость, устойчивость к вредным организмам и стрессовым факторам среды. Так, современное разнообразие сортов мягкой пшеницы *Triticum aestivum* связано с хорошими адаптивными возможностями вида, обусловленными, прежде всего, наличием в геноме локусов, аллели которых определяют нечувствительность к длине дня – одного из основных факторов, лимитирующих возделывание однолетних растений в регионах, различающихся по длине светового периода. К настоящему времени доказана роль в контроле признака времени цветения генов отзывчивости на яровизацию (*VRN*) локализованных на хромосомах гомеологичной группы 5, а также генов гомеологичной группы 2 (*PPD*), определяющих фотопериодическую чувствительность, однако механизмы регуляции их экспрессии до сих пор остаются неизвестными. Особый интерес представляют гены, локализованные в геноме В, поскольку с ним ассоциированы нечувствительные к фотопериоду аллели *PPD-V1*. Раскрытие молекулярных механизмов и взаимодействия генов имеют значение как для познания механизмов генетического контроля признака, так и для получения в перспективе новых генотипов пшеницы с различными сочетаниями ценных аллелей, влияющих на время колошения. В этой связи тема диссертации, посвященной идентификации и характеристике локализованных на хромосомах 2В и 5В мягкой пшеницы генов, контролирующих время колошения, а также выяснению их вклада в формирование признака, безусловно, актуальна.

Рукопись диссертационной работы включает оглавление, список использованных сокращений, введение, четыре главы, заключение, выводы, список цитируемой литературы и приложения. Работа изложена на 160 страницах печатного текста, содержит 31 рисунок и 4 таблицы, 6 приложений.

В главе 1 проведен анализ литературы по проблеме молекулярно-генетических механизмов регуляции инициации цветения у растений. Рассмотрены основные

сигнальные пути регуляции у модельного объекта – арабидопсиса. Обсуждается современное состояние исследований основных компонентов пути и механизмов регуляции времени колошения у мягкой пшеницы. Обобщена информация о генетических факторах, ассоциированных с этим признаком. Список цитированных источников включает 308 источников, из которых 299 – на английском языке. Представленный в главе материал свидетельствует о высоком уровне научной эрудиции автора, четком понимании задач исследования и путей их решения.

В главе 2 «Материал и методы» дана краткая характеристика изученного материала, описаны использованные в работе методы. Методы исследования, включавшие SSR- и SNP-генотипирование, анализ с использованием диагностических ПЦР-маркеров, клонирование и секвенирование целевых последовательностей, ПЦР с детекцией в режиме реального времени, биоинформатический анализ, разработку генетической карты и другие, адекватны поставленным задачам и охарактеризованы достаточно полно.

В главе 3 «Результаты» представлены полученные диссертантом экспериментальные данные. Для решения поставленных задач использованы оригинальные генетические модели – различавшиеся по хромосоме 2 почти изогенные сестринские линии мягкой пшеницы, различающиеся по срокам колошения в условиях короткого дня, полученные от скрещивания рано переходящего к колошению сорта Sonora (донор) и линии ФЧЛ2 (реципиент), поздно переходящей к колошению и популяция рекомбинантных инбредных хромосомных линий, полученных от скрещивания сорта Chinese Spring (CS) и переходящей к колошению на две недели позже первого родителя линии сорта Chinese Spring (CS-5Bdic) с замещенной хромосомой 5B, а также анеуплоидные линии сорта Chinese Spring. У почти изогенных линий изучен аллельный состав генов *VRN-1* и *PPD-1*, обнаружена интрогрессия участка хромосомы 2B сорта-донора; установлено, что аллель *PPD-B1a*, детерминирующий нечувствительность к фотопериоду, относится к классу *CNV* аллелей с измененным числом копий гена; изучены особенности его структурного полиморфизма. На основе биоинформатического анализа промоторных областей *PPd-1* генов диссертантом идентифицированы специфичные для гена *PPD-B1* сайты связывания транскрипционных факторов. По результатам SNP-генотипирования рекомбинантных инбредных линий разработана генетическая карта хромосомы 5B, проведен QTL-анализ и идентифицированы гены-кандидаты, ассоциированные со временем колошения. Особый интерес представляют полученные диссертантом оригинальные данные исследования характера суточной экспрессии генов фотопериодической чувствительности, генов восприятия света и генов трансдукции

сигнала, демонстрирующие положительный эффект доминантного аллеля *Ppd-B1a^{env}* на экспрессию гена рецептора красного цвета (*PHYC*) в ночное время.

Глава 4 посвящена обсуждению полученных результатов. В ней обобщаются полученные автором новые экспериментальные данные: структура аллеля *PPD-B1a^{env}*, впервые обнаруженного у созданных в ВИРе нечувствительных к длине фотопериода линий пшеницы, транскрипционные факторы, предположительно опосредующие экспрессию гена, гены-кандидаты, ассоциированные с различием по времени колошения, и локализованные в прицентромерной области хромосомы 5В, взаимодействие генов времени колошения, вклад локуса, расположенного в прицентромерной области хромосомы 5В, во взаимодействие *PHYC* и *PPD-B1*

Наиболее значимые результаты исследования обобщены в разделе Заключение.

Результаты работы А.А. Киселевой носят фундаментальный характер, характеризуются научной новизной, теоретической и практической значимостью.

Научная новизна полученных результатов заключается в том, что автором на основе комплексного молекулярного-генетического анализа у различающихся по времени колошения почти изогенных линий, созданных в ВИРе на основе нечувствительного к фотопериоду сорта озимой мягкой пшеницы Sonora и чувствительной линии ФПЧЛ2, впервые идентифицирован отличающийся увеличенным числом копий аллель *Ppd-B1a^{env}*, определяющий признак раннего колошения и предложен механизм регуляции его экспрессии посредством специфичных для *PPD-B1* транскрипционных факторов, в частности генов *MADS-box*. Предложены гены – кандидаты *WRKY*, *ERF/AP2*, *FHY3/FAR1* и *ELF4* регуляции времени цветения, локализованные прицентромерной области хромосомы 5В мягкой пшеницы и вовлеченные в контроль признака у модельных объектов. Впервые показано позитивное влияние нечувствительного к фотопериоду аллеля *Ppd-B1a* на экспрессию гена рецептора красного цвета *PHYC* в ночное время, а также возможное участие во взаимодействии этих генов транскрипционного фактора *FHY3/FAR1*.

Теоретическое и практическое значение работы. Полученные диссертантом новые экспериментальные данные о природе транскрипционных факторов, вовлеченных в контроль времени колошения у пшеницы, взаимодействии генов, структурно-функциональной организации ключевого гена *PPD-B1* важны для развития фундаментальных исследований, направленных на изучение генных сетей регуляции времени цветения мягкой пшеницы. Информация о составе нового идентифицированного диссертантом локуса хромосомы 5 может быть использована в направленной селекции

высокоадаптивных сортов мягкой пшеницы, а линии Ppd-m и Ppd-w с доминантным аллелем *Ppd-B1a^{cmv}*, определяющим нечувствительность к фотопериоду, могут служить донорами этого ценного признака при создании отечественных сортов, адаптированных к широкому спектру климатических условий.

Диссертация написана хорошим научным языком, тщательно отредактирована и богато иллюстрирована многочисленными оригинальными и заимствованными из литературы рисунками.

Работа А.А. Киселевой хорошо апробирована. Ее результаты обсуждались в 2012-2017 гг. на многочисленных научных конференциях в России и за рубежом. О высоком уровне квалификации соискателя, научной ценности полученным им результатов свидетельствует список его публикаций: автором опубликованы 4 статьи в отечественном и зарубежном рецензируемых журналах из списка ВАК, входящих в международные базы цитирования Web of Science и Scopus.

Четко и ясно сформулированы выводы диссертации. Они адекватны поставленным задачам, базируются на обширных экспериментальных данных, достоверны и обоснованы.

Вместе с тем работа не лишена некоторых недостатков.

1. Сконцентрировав свое основное внимание на рассмотрении данных о молекулярно-генетических механизмах регуляции времени цветения у пшеницы, а также у модельного растения арабидопсиса, автор не уделил должного внимания состоянию исследований этого признака у других объектов (рапса, ячменя и других).
2. При анализе литературы соискателю следовало хотя бы кратко описать методы и подходы, используемые в настоящее время в исследованиях регуляции цветения.
3. В ряде случаев отсутствуют ссылки на литературные источники, в которых были опубликованы соответствующие методы (например, ссылки на методы выделения ДНК, которые для разных групп генотипов были разными).
4. В работе нет информации, отличались ли изученные соискателем почти изогенные линии по морфологическим признакам от исходных сортов, оценивался ли уровень их гомозиготности, наблюдалась ли внутрилинейная гетерогенность по присутствию диагностических маркеров, отмечалось ли гетерозиготное состояние микросателлитных локусов.

Следует отметить, что указанные замечания не имеют принципиального характера и не влияют на общую высокую оценку работы, которое следует оценить как выполненную на высоком методическом уровне научно-квалификационную работу, а ее автора охарактеризовать как высококвалифицированного специалиста в области генетики, владеющего самыми современными методами исследований и способного к самостоятельному решению актуальных научных задач.

Считаю, что по степени актуальности темы, уровню полученных научных результатов, степени их новизны, теоретической и практической значимости, а также форме и содержанию диссертационная работа «Локализация и взаимодействие генов В-генома мягкой пшеницы, индуцирующих колошение» отвечает всем требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 № 842, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор, Антонина Андреевна Киселева, несомненно, заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – Генетика.

Доктор биологических наук

Анисимова Ирина Николаевна

27 апреля 2018 г.

Ведущий научный сотрудник ФБГНУ Федеральный исследовательский центр
Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова
Адрес: 190000 Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44
Тел. 8-911-295-94-15
e-mail: irina_anisimova@inbox.ru

Подпись Анисимовой И.Н. заверяю:
кандидат сельскохозяйственных наук,
Ученый секретарь ВИР



Поскутова Наталья Павловна

6x 2171/46
03.05.2018