

## ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу  
Киселёвой Антонины Андреевны  
"Локализация и взаимодействие генов В-генома мягкой пшеницы, индуцирующих  
колошение",  
представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по  
специальности 03.02.07 - генетика

**Актуальность темы диссертационной работы.** Диссертационная работа Киселёвой А. А. посвящена актуальной теме генетики злаковых – изучению механизмов регуляции времени колошения. Продолжительность вегетационного периода пшеницы является важным признаком растений, который влияет на их продуктивность и устойчивость к стрессам. Хотя ключевые системы генов, контролирующих время колошения пшеницы, известны, многие аспекты формирования данного признака до сих пор остаются малоизученными.

Гены семейства *PPD-1* являются важными модуляторами времени колошения, в связи с этим изучение их структуры, функций и регуляции крайне актуально как для генетики пшеницы, так и для селекции новых сортов. В диссертационной работе приводится всестороннее изучение доминантного аллеля *Ppd-B1a* с увеличенным числом копий, включая уточнения локализации и детальный биоинформатический анализ промотора.

Не смотря на то, что к настоящему моменту выявлено значительное количество локусов контролирующих время колошения, конкретные гены, определяющие признак, часто остаются неизученными. В данной диссертационной работе не только выявлен новый локус, определяющий время колошения, но и проведен тщательный анализ генов, ассоциированных с SNP маркерами, для определения наиболее вероятных кандидатов.

Также в работе приводятся новые данные о регуляции и взаимодействии генов времени колошения, что имеет большое значение для понимания механизмов формирования признака и дополняет современные представления в этой области.

Результаты, полученные в ходе данной работы, имеют как фундаментальный, так и прикладной характер. Полученные данные углубляют существующие представления о регуляции перехода от вегетативного к генеративному развитию пшеницы, детализируют структуру и функцию генов, контролирующих фотопериодическую чувствительность.

В то же время, изученные линии мягкой пшеницы предлагаются в качестве доноров аллеля *Ppd-B1a<sup>cnv</sup>*, который может быть использован для ускорения колошения при создании высокоадаптированных сортов.

**Научная новизна исследования и полученных результатов.** Научная новизна диссертационной работы следует из поставленных задач и в полной мере отражена в ее результатах. Осуществлено глубокое исследование генов В-генома мягкой пшеницы: проведен структурно-функциональный анализ одного из основных генов определяющих время колошения – *Ppd-B1*, и впервые предложен механизм регуляции аллеля данного гена, характеризующегося увеличенным числом копий; выявлен новый локус, контролирующий время колошение и локализованный в прицентромерной области 5В хромосомы, проведенный анализ маркеров из состава данного локуса позволил выявить новые гены-кандидаты, которые могут оказывать влияние на время колошения. Показано, что транскрипционный фактор FHY3/FAR1 может быть вовлечен во взаимодействие генов *PPD-B1* и *PHYC* мягкой пшеницы. Впервые сделано предположение о взаимодействии генов *Ppd-1a* и *PhyC* по типу обратной положительной связи.

**Практическая ценность работы.** Практическая ценность результатов работы заключается в выявлении новых генетических локусов и аллелей, которые могут быть вовлечены в селекционный процесс для отбора форм мягкой пшеницы, наиболее адаптированных по сроку колошения к различным климатическим условиям. Кроме того, линии, изученные в данной работе, могут использоваться в селекционной работе в качестве донора нечувствительного к фотопериоду аллеля *Ppd-B1a<sup>cmv</sup>*.

**Обоснованность и достоверность результатов и выводов диссертации.** Достоверность и значимость полученных автором диссертации результатов не вызывает сомнений. Научные положения прекрасно обоснованы и подкреплены результатами, полученными с использованием молекулярно-генетических и биоинформационных методов. Полученные результаты полностью соответствуют уровню аналогичных исследований, проводимых в мире. Это подтверждается публикацией результатов исследований в рецензируемых журналах. По результатам диссертации опубликовано 4 статьи в отечественных и иностранных журналах. Выводы оформлены в соответствии с поставленными задачами и полностью согласуются с полученными результатами.

**Структура и общая характеристика диссертации.** Диссертационная работа Киселёвой А.А. имеет стандартную структуру, состоящую из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, результатов, обсуждения, заключения, выводов, списка литературы и приложения. Материал диссертации изложен на 160 страницах, иллюстрирован 4 таблицами и 31 рисунками и содержит 6 приложений. Диссертантом детально проанализирована литература по теме исследования, список литературы включает 308 ссылок на работы, опубликованные в ведущих отечественных и зарубежных изданиях.

**Первая глава** включает обзор литературы по теме работы. Первая часть обзора посвящена обобщению данных о механизмах инициации цветения у модельного растения – арабидопсиса. Во второй части обзора диссертант подробно рассматривает регуляцию времени колошения у объекта исследования, мягкой пшеницы. В главе детально проанализированы известные к настоящему моменту системы, контролирующие время колошения, их взаимодействие и регуляцию.

**Глава "Материалы и методы"** содержит подробное описание растительного материала и методов, использованных в работе. Особо необходимо отметить широкий спектр применяемых современных молекулярно-генетических и биоинформативных подходов.

**Глава «Результаты»** содержит описание результатов работы и включает восемь подразделов. Подглавы 3.1 – 3.3 посвящены выявлению генов, определяющих различия по чувствительности к фотопериоду у почти изогенных линий *Ppd-m* и *Ppd-w*, а также анализу структурной организации гена *Ppd-B1*, идентифицированного в качестве детерминанты данного признака у исследуемых линий. Крайне интересными являются результаты проведенного биоинформатического анализа промоторов генов *PPD-1* с целью выявления вероятных причин нарушения экспрессии *Ppd-B1a*. Было показано, что вероятной причиной усиления экспрессии *Ppd-B1a* является дисбаланс между увеличенным числом копий гена и количеством специфичного для *PPD-B1* репрессора, которое остается неизменным. Наиболее вероятными кандидатами на роль репрессоров являются MADS-бок транскрипционные факторы, сайты связывания которых были обнаружены в области промотора *PPD-B1*.

В подглавах 3.4 – 3.7 диссертант описывает данные фенотипического анализа популяции RICL от скрещивания CS x CS-5Bdic и идентификацию в прицентромерной области 5В хромосоме локуса, индуцирующего переход к колошению. Проведенное диссертантом высокопроизводительное генотипирование SNP-маркерами линий данной популяции позволило выявить ассоциированные с SNP из данного локуса последовательности транскрипционных факторов WRKY, ERF/AP2, ELF4 и FHY3/FAR1, которые являются известными регуляторами времени колошения у многих растений. С целью изучения взаимодействий генов колошения были опровержены сравнения суточных паттернов экспрессии этих генов. Было предположено, что нечувствительный к фотопериоду *Ppd-B1a* может оказывать положительное влияние на экспрессию гена рецептора красного света, *PHYC*. Кроме того, полученные данные позволили предположить возможное участие во взаимодействии *PHYC* и *PpdB1a*

транскрипционного фактора FHY3/FAR1, локализованного в прицентромерной области хромосомы 5В.

**В главе «Обсуждение»** диссертантом приводится детальное и всестороннее обсуждение полученных результатов в соответствии с поставленными задачами. Подробно рассматриваются выявленные локусы и идентифицированные гены в рамках имеющихся данных. Далее, по результатам оценки суточной экспрессии генов, определяющих время колошения пшеницы, диссертантом обсуждаются возможные механизмы взаимодействия этих генов, а также описывается место показанных в данной работе генных взаимодействий в рамках существующей схемы взаимодействия генов колошения, тем самым дополняя её. Автор делает аргументированные выводы, основанные на синтезе полученных результатов с имеющимися в литературе данными.

**Выводы**, сформулированные диссертантом, полностью отражают её содержание и соответствуют поставленным целям и задачам работы. Текст автореферата соответствует содержанию диссертации.

Замечания к работе

1. Излишне подробно описание достаточно стандартной методики выделения ДНК (стр. 55) и приготовления компетентных клеток (стр. 59). Также не ясно, почему ДНК выделяли двумя различными методами (стр. 63);
2. В табл.1 можно было бы вставить значения  $T_{пл}$  разработанных праймеров (стр.57);
3. Не ясно в скольких биологических повторностях проводился экспрессионный анализ (стр.61);
4. Из рис.15 не совсем ясно, почему исследуемые образцы не содержат ранее опубликованных аллелей (и каких аллелей?);
5. Из текста не ясно, был ли разработан молекулярный маркер *Ppd-B1a* на базе полученных SNP для дифференциации чувствительных\нечувствительных к фотопериоду линий пшеницы (стр.73-74);
6. Достаточно труден для понимания рис.21. Может быть надо было обозначить сайты связывания цветными кружками (свой цвет для каждого из анализируемых TF), как это сделано для рис.22.
7. На рис.23 не обозначен доверительный интервал

Однако все приведенные замечания, не касаются основных результатов диссертационной работы, определяющих ее новизну и научную значимость, в большинстве случаев носят сугубо уточнительный и рекомендательный характер и

никоем образом не снижают общей высокой положительной оценки диссертационной работы.

**Заключение:**

Диссертация Киселёвой Антонины Андреевны "Локализация и взаимодействие генов В-генома мягкой пшеницы, индуцирующих колошение" является завершённой, оригинальной и самостоятельной научно-исследовательской работой, отличается новизной и актуальностью. Диссертация соответствует критериям, предъявляемым к диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук, утвержденным постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 N 842 (ред. от 28.08.2017) "О присуждении ученых степеней". Считаю, что соответственно проявленному уровню научной подготовки, содержанию и квалификационным характеристикам диссертации, Киселёва Антонина Андреевна заслуживает присуждения ей ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – генетика.

**Официальный оппонент:**

Ведущий научный сотрудник лаборатории системной биологии растений, руководитель группы молекулярных методов анализа генома, Федеральное государственное учреждение «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук»,

д.б.н., профессор,

Адрес: 117312, г. Москва,  
пр-т 60-летия Октября д. 7, корп.1  
тел: +7 (495) 308-99-96, доб. 234  
E-mail: kochieva@biengi.ac.ru



Кочиева Е.З.

*Подпись доктора биологических наук, профессора Кочиевой Елены Зауровны*



З.А.М. НАЧАЛЬНИКА  
ОТДЕЛА КАДРОВ  
И. ШИЯН

