

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу

Мутерко Александра Феликсовича

"Анализ полиморфизма генов *VRN* и *PPD* у тетраплоидных и гексаплоидных видов
рода *Triticum* L.",

представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по
специальности 03.02.07 - генетика

Актуальность темы диссертационной работы. Представленная диссертационная работа проведена в актуальном направлении современных исследований по генетике пшеницы. Полученные результаты имеют как фундаментальный, так и прикладной характер. С одной стороны, они углубляют существующие представления о ключевых биологических процессах, регулирующих развитие пшеницы. В частности, детализируют структуру, функцию и эволюцию генов, контролирующих чувствительность пшеницы к яровизации и фотопериоду, регулирующих тип развития и продолжительность вегетационного периода, определяющих широкую адаптивную способность к произрастанию в различных климатических условиях, и являющихся ключевыми детерминантами времени колошения. В тоже время, идентифицированные в настоящей работе перспективные образцы тетраплоидной и гексаплоидной пшеницы, носители новых аллелей и гаплотипов генов *VRN* и *PPD1* могут найти применение в области практической селекции, в качестве источника агрономически ценных признаков для создания высокопродуктивных и высококачественных сортов.

Тип развития и сроки колошения пшеницы являются одними из важнейших агрономически ценных признаков, определяющих адаптивность культуры к окружающей среде. В этой связи в последние десятилетия ведутся активные исследования генов *VRN* и *PPD* в диплоидной и полиплоидной пшенице из различных эколого-географических регионов, мировых центров культивирования и селекции. При этом дикие и слабо окультуренные виды все чаще привлекают внимание исследователей в качестве природного источника генетического разнообразия, исходного материала для поиска новых мутантных вариантов, аллелей и гаплотипов. Особое внимание в таких исследованиях генов *VRN* и *PPD* уделяется анализу их регуляторных районов, точная локализация и границы которых окончательно не определены, как не выясненными остаются и сами механизмы регуляции. Следовательно, изучение генов *VRN* и *PPD* в широкой выборке ранее не исследованных видов пшеницы, а также анализ аллельного

разнообразия этих генов в культивируемых образцах, имеет большое фундаментальное и практическое значение.

Научная новизна исследования и полученных результатов. Научная новизна работы следует из поставленных задач и в полной мере отражена в ее результатах. Проведено масштабное исследование генов *VRN1* и *PPD*, контролирующих чувствительность пшеницы к яровизации и фотопериоду практически во всех возделываемых видах полиплоидной пшеницы, для большинства из которых данный анализ выполнен впервые. Уточнены границы регуляторных районов, идентифицированы новые аллели и гаплотипы генов *VRN-A1*, *VRN-B1*, *VRN-D1* и *PPD-A1*. Их аннотированные первичные структуры депонированы в публичные базы данных. Показано, что мутации в последовательности VRN-бокса, могут модулировать сроки колошения и потребность пшеницы в яровизации. Охарактеризованы виды гексаплоидной и тетраплоидной пшеницы как перспективные источники новых аллелей и гаплотипов генов VRN и PPD1.

Практическая ценность работы. Идентифицированы наиболее перспективные образцы пшеницы, природные мутанты, носители уникальных аллелей и гаплотипов генов *VRN* и *PPD1*, их специфических комбинаций, которые могут быть использованы в практической селекции пшеницы. Кроме того, полученные результаты вносят существенный вклад в область фундаментальных исследований генов, контролирующих тип развития и время колошения пшеницы, а также во многом определяющих ее адаптивность в изменяющихся условиях окружающей среды.

Обоснованность и достоверность результатов и выводов диссертации. Достоверность и значимость полученных автором диссертации результатов не вызывает сомнений. Научные положения полностью обоснованы с применением комплекса молекулярных, генетических и биоинформационных методов и соответствует уровню аналогичных исследований, проводимых в мире. Это подтверждается публикацией результатов исследований в большом количестве статей. По результатам диссертации опубликовано 6 работ 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 Мутерко А.Ф. имеет стандартную структуру. Она состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, результатов, обсуждения, заключения, выводов, списка литературы и приложения. Материал

диссертации изложен на 249 страницах, иллюстрирован 7 таблицами и 28 рисунками и содержит 15 приложений. Диссертантом детально проанализирована литература по теме исследования, список литературы включает 220 ссылки на работы, опубликованные в ведущих отечественных и зарубежных изданиях.

В первой главе представлен обзор литературы, в котором диссертант дает детальную характеристику области исследования. Обзор прекрасно написан, в нем приводится подробное описание существующих современных представлений о структуре, функции, механизмах регуляции генов *VRN* и *PPD1* пшеницы, их аллельном разнообразии. Подчеркиваются актуальные направления исследований в данной области и нерешенные задачи.

В качестве замечаний к главе можно указать следующие: в диссертации указывается «Гаплотипы V и VI идентифицированы исключительно в геноме синтетической пшеницы и *A. tauschii*», однако, не ясно, о каких синтетических видах идет речь (стр. 28). Также кажется целесообразным сократить до 1 абзаца подглаву 1.2.1.4, тем более, что эпигенетическая регуляция *VRN1* никак не связана с полученными диссертантом данными и нигде не обсуждается. На стр.45 диссертант пишет, что «ССТ-домен содержащие белки, замещающие субъединицу *HAP2* в комплексе *HAP2/3/5*, также способны связываться с ССААТ-боксом, в результате чего возникают альтернативные пути регуляции генов, содержащих ССААТ-бокс». – не совсем понятно о каком ССААТ-боксе идет речь.

Глава "Материалы и методы" содержит описание используемого генетического материала, оборудования, экспериментальных подходов и методов компьютерной обработки данных. Следует особо подчеркнуть, что большинство лабораторных методик были оптимизированы автором лично. Автор также применяет оригинальные алгоритмы для моделирования пространственных структур молекул ДНК, иерархического кластерного анализа, вывода филогении гаплотипов, подробная характеристика которых вынесена в соответствующие Приложения к диссертации. Однако не совсем ясно, зачем нужно было для проведения кластерного анализа сортов твердой пшеницы в соответствии с аллельным составом генов *VRN*, разрабатывать новый алгоритм, а не использовать уже имеющиеся программы.

Глава «Результаты и обсуждение». Описание результатов исследования и их обсуждение объединено в одну главу, состоящую из шести крупных подглав. Подразделы 3.1 и 3.2 посвящены анализу полиморфизма области промотора генов *PPD-A1* и *PPD-B1*, соответственно. Гены *VRN2*, *VRN3* и *VRN4*, характеризующиеся низким аллельным разнообразием или редко встречающиеся в полиплоидной пшенице обсуждаются в

разделе 3.3. В подразделе 3.4 изложены результаты исследования регуляторных районов генов *VRN1*. Анализ полиморфизма транскрибируемого участка *VRN-A1*, ассоциированный с вариабельностью числа копий этого гена на геном, а также разработка особого типа ДНК-маркеров для детекции гаплотипов по данному участку *VRN-A1* вынесены в подраздел 3.5. Отдельным подразделом 3.6 обсуждаются результаты исследования генов *VRN* в сортах твердой пшеницы *T. durum*. В заключении автор обсудил итоги проведенных исследований и раскрыл перспективу возможного применения полученных результатов. Сформулированные выводы полностью согласуются с поставленными задачами и результатами исследования.

В качестве замечаний к главе можно указать, что на рис. 4б в не указаны виды, для которых характерен гаплотип Нар 4 *Ppd-A1b*. Не ясно, зачем так пространно писать про недостатки пары праймеров TaPpd-B1proF1–TaPpd-B1int1R1, если диссертантом разработаны праймеры TaPpd-B1proinF1–206bp_del_25_R1, которые этих недостатков лишены (стр. 90-91). Говоря о регуляторных участках в промоторе и интроне гена *Vrn-A1* можно было вместо «оказывающие влияния на яровизацию» написать менее категорично-«которые **могут оказывать** влияние на яровизацию», так как впрямую пока не было показано, что аллельные варианты в этих областях влияют на яровизацию.

Выводы, сделанные диссертантом, хорошо аргументированы и соответствуют полученным данным, а также сформулированным целям и задачам работы. Текст автореферата соответствует содержанию диссертации. Единственное замечание к выводу 1 «Показано, что анализ кривизны молекулы ДНК является эффективным инструментом исследования полиморфизма интересующих участков генома при скрининге больших коллекций генетического материала». Так как эффективность этого метода показано на только пшенице, корректнее говорить о том, что анализ кривизны ДНК **может быть** эффективным методом при скрининге.

Общие замечания по работе: Диссертация написана несколько «тяжелым» языком. Она несколько объемна - включает 249 стр с приложениями, из них 171 стр. собственно текста диссертации (без списка литературы). В ряде случаев текст избыточен и излишне детализирован: можно написать много короче без потери научного смысла.

Следует также отметить присутствие в тексте орфографических и стилистических ошибок, встречаются неудачные фразы.

Однако все приведенные замечания, не касаются основных результатов диссертационной работы, определяющих ее новизну и научную значимость, в большинстве случаев носят уточнительный и рекомендательный характер и никоим образом не снижают общей высокой положительной оценки диссертационной работы.

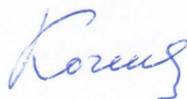
Заключение:

Диссертация Мутерко Александра Феликсовича "Анализ полиморфизма генов *VRN* и *PPD* у тетраплоидных и гексаплоидных видов рода *Triticum* L." является завершенной, 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, Мутерко Александр Феликсович заслуживает присуждения ему 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,



Кочиева Е.З.

Адрес:

Россия, 117312, г. Москва, пр-т 60-летия Октября д. 7, корп.1

тел: +7 (495) 308-99-96, доб. 234

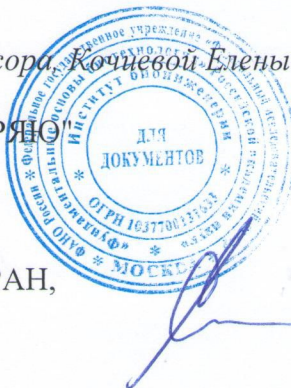
E-mail: kochieva@biengi.ac.ru

Подпись доктора биологических наук, профессора Кочиевой Елены Зауровны

"ЗАВЕРЯЮ"

Зам. ученого секретаря:

Федеральное государственное учреждение
«Федеральный исследовательский центр
«Фундаментальные основы биотехнологии» РАН,
к.б.н.



Степанова Н.Г.