

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 23 ноября 2017 г. протокол № 41

О присуждении Щербаню Андрею Борисовичу
ученой степени доктора биологических наук.

Диссертация Щербаня А.Б. «Эволюционные аспекты формирования аллополиплоидных геномов злаков» по специальности 03.02.07 – генетика, принята к защите 28.06.2017 г, протокол №24 , 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). 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: Щербань Андрей Борисович, 1965 года рождения, окончил Новосибирский государственный университет по специальности «Биология» в 1988 году, в 1997 г. защитил кандидатскую диссертацию на тему: «Семейство VARE-ретроэлементов генома ячменя» и получил степень кандидата биологических наук по специальности генетика (диплом КТ № 029603 от 04 апреля 1997г.). Работает в ИЦиГ СО РАН с 1988 года, в настоящее время в должности старшего научного сотрудника лаборатории молекулярной генетики и цитогенетики растений Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный

исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук».

Диссертация. выполнена в лаборатории молекулярной генетики и цитогенетики растений Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук».

Научный консультант: **Салина Елена Артемовна**, доктор биологических наук, профессор, зав. лаборатории молекулярной генетики и цитогенетики растений Федерального государственного бюджетного научного учреждения Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск.

Официальные оппоненты:

1. **Потокина Елена Кирилловна**, доктор биологических наук, главный научный сотрудник, зав. лабораторией мониторинга генетической эрозии растительных ресурсов, ФГБУН «Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И.Вавилова», г. Санкт-Петербург
2. **Константинов Юрий Михайлович**, доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник, зав. лаборатории генетической инженерии растений ФГБУН «Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН», г. Иркутск
3. **Карлов Геннадий Ильич**, член-корреспондент РАН, профессор, доктор биологических наук, Врио директора ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии», г. Москва

Оппоненты дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация: Федеральное государственное учреждение «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии Российской академии наук», г. Москва в своем положительном

заклучении, подписанном академиком РАН, д. б. н. Скрыбиным К. Г., и утвержденном директором Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии Российской академии наук» членом- корреспондентом РАН Поповым В.О., указало, что «Диссертационная работа Щербаня Андрея Борисовича «Эволюционные аспекты формирования аллополиплоидных геномов злаков» является завершенной и оригинальной научно-исследовательской работой, отличается новизной и актуальностью. Она полностью соответствует уровню современных биологических исследований. Достоверность полученных результатов не вызывает сомнений. Выполненные исследования позволили соискателю получить фундаментально значимые результаты, внесшие вклад в современные представления об эволюции и механизмах формирования аллополиплоидных геномов растений, роли отдельных компонентов генома в этих механизмах. Приведенные в работе научные положения, выводы и рекомендации аргументированы, основаны на фундаментальных научных положениях, общепринятых теоретических закономерностях, опираются на экспериментальные данные и являются их логическим следствием. В работе нет взаимно противоречивых выводов. Основные результаты представлены в 23 научных работах, опубликованных в ведущих российских и иностранных журналах. По уровню научной значимости полученных результатов, по их новизне и оригинальности диссертационная работа Щербаня Андрея Борисовича «Эволюционные аспекты формирования аллополиплоидных геномов злаков» полностью соответствует требованиям «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 Щербань А.Б. заслуживает присуждения ему искомой степени доктора биологических наук по специальности 03.02.07 – генетика. Отзыв обсужден и утвержден на

семинаре лаборатории системной биологии растений, протокол № 5 от 12 октября 2017 г.»

Соискатель имеет всего 56 научных трудов из них 45 по теме диссертации, общим объемом 335 страниц, в том числе 23 статьи, опубликованных в научных рецензируемых изданиях (Входят в Scopus и в WoS) и 19 тезисов в материалах всероссийских и международных конференций.

Наиболее значительные статьи Щербаня А. Б. по теме диссертации:

1. **Shcherban A.B.**, Vaughan D.A., Tomooka N. (2000) Isolation of a new retrotransposon-like DNA sequence and its use in analysis of diversity within the *Oryza officinalis* complex. *Genetica*, V.108, P.145-154.
2. **Shcherban A.B.**, E.D. Badaeva, A.V. Amosova, I.G. Adonina & E.A. Salina. (2008) Genetic and epigenetic changes of rDNA in a synthetic allotetraploid *Aegilops sharonensis* x *Ae. umbellulata*. *Genome*. V.51(4), P. 261-271.
3. **Shcherban A.B.**, Efremova T.T., Salina E.A. (2011) Identification of a new *Vrn-B1* allele using two near-isogenic wheat lines with difference in heading time. *Molecular Breeding* 29(3), P. 675–685.
4. **Щербань А.Б.**, И.Г. Адонина, Е.А. Салина. (2012) Вклад *Ty3-gypsy*-ретротранспозона *Lila* в специфичность D-генома мягкой пшеницы *Triticum aestivum* L. Молекулярная биология. том 46, N2, с.1-10.
5. **Shcherban A.B.**, Khlestkina E.K., Efremova T.T., Salina E.A. 2013. The effect of two differentially expressed wheat *VRN-B1* alleles on the heading time is associated with structural variation in the first intron. *Genetica*. 141: 133-141.
6. **Shcherban A.B.**, Borner A., Salina E.A. (2015a) Effect of *VRN-1* and *PPD-D1* genes on heading time in European bread wheat cultivars. *Plant Breeding*. V.134: 49-55.

7. **Shcherban AB**, Strygina KV, Salina EA (2015b) *VRN-1* gene- associated prerequisites of spring growth habit in wild tetraploid wheat *T. dicoccoides* and the diploid A genome species. BMC Plant Biology, 15:94.
8. **Shcherban A.B.**, Schichkina A.A., Salina E.A. (2016b) The occurrence of spring forms in tetraploid Timopheevi wheat is associated with variation in the first intron of the *VRN-A1* gene. BMC Plant Biology 16 (Suppl 3):236

На автореферат диссертации поступило 15 отзывов, все положительные.

Отзывы прислали:

1. Давоян Р.О., доктор биологических наук, заведующий отделом биотехнологии ФГБНУ «НЦЗ им. П.П. Лукьяненко», г. Краснодар
2. Лапочкина И.Ф., доктор биологических наук, главный научный сотрудник лаборатории генетики и биотехнологии ФГБНУ Московского НИИСХ «Немчиновка», Московская обл.
3. Мироненко Н.В., доктор биологических наук, руководитель сектора ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений», г. Пушкин.
4. Зеленский Г.Л., доктор сельскохозяйственных наук, профессор кафедры генетики, селекции и семеноводства ФГБОУ ВО «Кубанский государственный аграрный университет им. И.П. Трубилина», г. Краснодар.
5. Степочкин П.И., доктор сельскохозяйственных наук, ведущий научный сотрудник СИБНИИРС- филиал ИЦИГ СО РАН, г. Новосибирск.
6. Митрофанова О.П., доктор биологических наук, главный научный сотрудник отдела генетических ресурсов пшеницы ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр «Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова», г. Санкт-Петербург.
7. Лоскутов И.Г., доктор биологических наук, главный научный сотрудник, заведующий отделом генетических ресурсов овса, ржи и ячменя ФГБНУ

«Федеральный исследовательский центр «Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова», г. Санкт-Петербург.

8. Сурин Н.А., академик РАН, доктор сельскохозяйственных наук, главный научный сотрудник отдела селекции Красноярского научно-исследовательского института сельского хозяйства- подразделение ФГБНУ «Красноярский научный центр СО РАН», г. Красноярск.

9. Драгович А.Ю., доктор биологических наук, зав. лабораторией генетических основ идентификации растений ФГБНУ «Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН», г. Москва.

10. Коломиец Т.М., кандидат биологических наук, зав. отделом микологии и иммунитета ФГБНУ ВНИИФ, Московская область.

11. Плотникова Л.Я., доктор биологических наук, профессор кафедры агрономии, селекции и семеноводства ФГБОУ ВО «Омский государственный аграрный университет», г. Омск.

12. Чесноков Ю.В., доктор биологических наук, директор ФГБНУ «Агрофизический научно-исследовательский институт», г. Санкт-Петербург.

13. Беспалова Л.А., академик РАН, доктор сельскохозяйственных наук, зав. отделом селекции и семеноводства пшеницы и тритикале ФГБНУ «НЦЗ им. П.П. Лукьяненко», г. Краснодар.

14. Бадаева Е.Д., доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории генетических основ идентификации растений ФГБНУ «Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН», г. Москва.

15. Долгов С.В., доктор биологических наук, заведующий лабораторией экспрессионных систем и модификации генома растений «Биотрон», филиал Института биоорганической химии РАН, г. Пущино.

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 и биотехнологии.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований **доказано**, что у злаков при переходе от диплоидного состояния к аллополиплоидному происходила реорганизация генома, которая на ранних стадиях сопровождалась количественными изменениями локусов генов, кодирующих 45S и 5S рРНК, и привела к формированию специфической для каждого аллополиплоида структурной организации этих локусов. **Доказано**, что в ходе формирования аллополиплоидных геномов пшеницы происходила дивергенция регуляторных районов гомеологичных локусов *VRN-1* гена, которая привела к замещению набора доминантных аллелей *VRN-1* локусов, характерных для диплоидных предков, новым набором аллелей, обеспечивающим адаптацию аллополиплоидов к широкому диапазону климатических условий. **Доказано** также отсутствие активного участия LTR-ретротранспозонов в формировании аллополиплоидного генома.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что впервые изучена структурная организация и локализация генов, кодирующих рРНК, в составе искусственных аллополиплоидов *Triticum* x *Aegilops*. **Доказано**, что в геномах этих аллополиплоидов, начиная со второго поколения после скрещивания, происходят изменения структурной организации генов рРНК, связанные с делециями супрессированных в ходе аллополиплоидизации отдельных блоков генов 45 S и 5S РНК одного из родительских субгеномов.

Изучена структура различных регуляторных районов гомеологичных *VRN-1* локусов, их влияние на экспрессию *VRN-1* и детерминацию срока колошения у яровых сортов мягкой пшеницы *T. aestivum* (2n=42; ВВААDD).

Доказано, что уровень транскрипции генов *VRN-1* контролируется регуляторными сайтами, расположенными вблизи старта транскрипции и в 5'-фланкирующей области первого интрона, и влияет на сроки колошения яровых пшениц таким образом, что более высокому уровню транскрипции соответствует более ранний срок колошения.

Изучено распространение различных аллелей *VRN-1* гомеологичных локусов среди аллополиплоидных пшениц разного уровня ploидности (тетра- и гексаплоидных) и их диплоидных предшественников. **Доказано**, что формирование наборов доминантных аллелей *VRN-1*, обуславливающих яровой образ жизни, происходило независимо в линиях тетраплоидов *Emmer* и *Timopheevii* и сопровождалось изменениями в различных регуляторных районах гена *VRN-1*: в промоторном,- в случае *T. dicoccoides* (*Emmer*), и в первом интроне,- в случае *T. timopheevii*.

Изучена корреляция различных гаплотипов *VRN-1* со сроком колошения у сортов яровой мягкой пшеницы. **Доказано** достоверное влияние гаплотипов с двумя доминантными гомеоаллелями *VRN-A1* и *VRN-B1* и гаплотипов с одним доминантным геном (*VRN-B1* или *VRN-D1*) на сроки колошения у сортов умеренной и субтропической климатических зон, соответственно.

Изучены паттерны организации LTR- ретротранспозонов у аллополиплоидов злаков и их диплоидных предшественников. **Доказано**, что характерная для последних хромосомная локализация и структурная организация LTR-ретротранспозонов сохраняются в ходе формирования и эволюции аллополиплоидных геномов злаков.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что получен набор диагностических молекулярных маркеров, который может быть использован для анализа пшениц разного уровня ploидности и происхождения (в том числе дикорастущих форм) с целью выявления и отбора генотипов *VRN-1*, представляющих интерес в плане адаптации к тем или иным климатическим условиям возделывания и в качестве исходного материала для различных

селекционных программ.

Полученные в ходе диссертационной работы результаты представляют интерес для научно-исследовательских организаций биологического профиля, изучающих вопросы происхождения и эволюции полиплоидных форм растений, в том числе, механизмы геномных реорганизаций в процессе аллополиплоидизации, и могут быть использованы в образовательном процессе на биологических факультетах высших учебных заведений.

Применительно к проблематике диссертации результативно использованы методы и подходы молекулярной генетики, цитогенетики и биоинформатики: полимеразная цепная реакция (ПЦР), включая ПЦР в реальном времени, саузерн-блоттинг, рестрикционный анализ, методы клонирования в плазмидных и ВАС- векторах, флуоресцентная микроскопия препаратов метафазных хромосом, секвенирование протяженных фрагментов геномной ДНК и их функциональная аннотация с помощью базы данных NCBI, построение филогенетических деревьев на основе выравнивания и анализа различных последовательностей геномной ДНК и др., что позволило установить особенности реорганизации паттерна генов rРНК и направление дивергенции локусов *VRN-1* в геноме злаков при переходе от диплоидного состояния к аллополиплоидному.

Оценка достоверности результатов исследования показала высокую воспроизводимость полученных данных и наличие всех экспериментальных контролей. Интерпретация результатов о направленности и механизмах реорганизаций генома у аллополиплоидов злаков учитывает данные, полученные ранее другими исследователями по рассматриваемой тематике, в том числе, на других растительных объектах, включая наиболее изученный *Arabidopsis thaliana*.

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.

подготовке публикаций. Основные результаты получены автором самостоятельно.

Полученные соискателем научные результаты соответствуют п. 12 «Структурная, функциональная и эволюционная геномика. Генетическая биоинформатика. Геносистематика» и п. 16. «Генетические основы селекции. Генетика количественных признаков. Гибридизация. Гетерозис. Инбридинг» 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 2 «Положения о присуждении учёных степеней», утвержденным постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842.

На заседании 23 ноября 2017 года диссертационный совет принял решение присудить Щербаню Андрею Борисовичу учёную степень доктора биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 19 человек, из них 7 докторов наук по специальности, участвующих в заседании, из 27 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за – 24, против – нет, недействительных бюллетеней – нет.

Председатель

диссертационного совета,
академик РАН



В.К. Шумный В.К. Шумный

Ученый секретарь

диссертационного совета,
доктор биологических наук

Т.М. Хлебодарова

Т.М. Хлебодарова

28.11.2017 г.