

## Отзыв официального оппонента

на диссертационную работу Анастасии Юрьевны Глаголевой  
«Идентификация и анализ генов биосинтеза меланина в колосе ячменя  
(*Hordeum vulgare* L.)», представленную к защите на соискание ученой  
степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7 – генетика

Вторичные метаболиты, к которым принадлежат фенольные соединения, важны для жизнедеятельности растений, в частности для адаптации к изменяющимся условиям среды. Принимая во внимание этот факт, а также то, что генетический контроль формирования черной окраски сельскохозяйственных растений, в частности ячменя, является малоизученным, несмотря на широкое использование человеком фенольных соединений ячменя, диссертационная работа А.Ю. Глаголевой, посвященная идентификации и анализу генов биосинтеза меланина в ячменном колосе, актуальна и востребована.

**Структура и объем диссертации.** Диссертационная работа изложена на 147 страницах и состоит из перечня условных обозначений (3 стр.), введения (8 стр.), обзора литературы (37 стр.), описания используемых материалов и методов (7 стр.), результатов (22 стр.), обсуждения результатов (11 стр.), заключения (2 стр.), выводов, библиографического списка литературы, в котором 173 источника, и 8 приложений. Текст диссертации иллюстрирован 16 рисунками и 5 таблицами.

**Содержание автореферата** соответствует материалам диссертации. Полученные автором результаты и выводы в автореферате приведены полностью.

**Научная новизна исследований и полученных результатов** в том, что, опираясь на имеющиеся в литературе сведения о локусе *Blp1*,

контролирующем черную окраску зерновки ячменя, и применив метод ассоциативного картирования, автору удалось выделить ген-кандидат и предсказать, что он кодирует сигнальный пептид из семейства CLAVATA3/ESR (CLE). Эта часть работы особенно интересна, так как привносит новизну в познание функций сигнальных пептидов семейства CLE, которые рассматривают как компоненты отдельного пути сигнальной трансдукции и традиционно связывают с регуляцией процессов дифференцировки клеток, развитием растений, а также с реакциями на абиотические сигналы. Была изучена структура кандидатного гена, выявлены его полиморфизмы в образцах культурного и дикого ячменя и определен гаплотип, характерный для образцов с меланином. Эти результаты имеют также важное практическое значение, так как разработанные ПЦР-маркеры к гену *Blp1* можно использовать в селекции на темноокрашенное зерно ячменя.

Второй подход диссертационной работы основан на сравнительном анализе уровня экспрессии генов у двух контрастных по наличию меланиновой окраски генотипов ячменя – сорта Bowman с неокрашенным зерном и почти изогенной линии ячменя i:Bw*Blp1* с доминантным аллелем гена *Blp1*. Показаны значимые различия между генотипами в экспрессии гена *Comt*, кодирующего о-метилтрансферазу кофейной кислоты, одного из ферментов биосинтеза фенилпропаноидов. Этот результат предполагает возможную роль феруловой кислоты в биосинтезе меланина и участие гена *Blp1* в активации транскрипции гена *Comt* на поздних стадиях созревания зерновки. Кроме того, у почти изогенной линии в отличие от неокрашенного сорта на стадии ранней восковой спелости зерна происходила активация транскрипции трех ключевых генов пути биосинтеза фенилпропаноидов (*Pal*, *C4h* и *4Cl*), что также свидетельствует о вовлеченности гена *Blp1* в регуляцию экспрессии этих генов и их участия в меланогенезе.

В заключительной части работы было идентифицировано в геноме ячменя два гена полифенолоксидазы (Ppo), дополнительно к известным двум, и показано, что у почти изогенной линии активируется транскрипция гена

*Ppo2* в отличие от сорта Bowman с неокрашенной зерновкой. Сочетания разных аллелей генов *Blp1*, *Ppo1* и *Ppo2* формируют три фенотипических класса по окраске колоса. В промежуточном сером фенотипе присутствовали рецессивный аллель гена *ppo2* и доминантный аллель *Blp1*.

Таким образом, в диссертационной работе выявлен и охарактеризован кандидатный ген локуса *Blp1* и показано его влияние на активацию транскрипции нескольких генов, с большой долей вероятности участвующих в биосинтезе мономеров меланина у ячменя и в окислении фенольных субстратов при синтезе меланина. Разнообразие, количество и качество используемого генетического материала (коллекции ячменя, почти изогенная и мутантные линии ячменя), адекватные методические подходы позволяют считать теоретические выводы диссертационной работы достоверными и обоснованными. Выявлены ПЦР маркеры для использования в практической селекции на темноокрашенное зерно ячменя, которое может быть востребовано, например, в пивоваренной промышленности.

При рассмотрении диссертационной работы возникли некоторые вопросы и замечания, на которые хотелось бы получить ответ:

- в разделе “Материалы и методы” не указано, кем получены две популяции линий  $F_2:1677 \times i:VwBlp1$  и  $U004 \times i:VwBlp1$ ;
- в описании используемых методов отсутствует обоснование использования качественных реакций для фенотипирования, которые, по словам самого автора, “являются недостаточно точными”. В описании биохимических методов отсутствует ссылка на первоисточник;
- неудачные формулировки некоторых предложений в описании результатов исследования. Например, интерпретация анализа экспрессии гена *Blp1* в развивающемся колосе контрастных по меланиновой окраске генотипов ячменя (стр. 68), как представляется, противоречит обсуждаемой роли этого гена в меланогенезе. Возможно, это неправильно построенное предложение, не отражающее мысли автора.

Предложение на стр. 77 “Ни один из генов *Pro* не экспрессируется в развивающемся колосе вне зависимости от генотипа.....”. Двойное отрицание нарушает содержание полученного результата. На рисунке 14 ясно видно, что в развивающемся колосе (стадия 1) экспрессия всех четырех генов *Pro* не зависит от генотипа.

После внимательного ознакомления с диссертационной работой были обнаружены некоторые технические погрешности:

- на стр. 55-56 текста диссертации есть предложение “Характеристики используемых праймеров приведены в Таблице 1” (на самом деле характеристики праймеров приведены в Приложении 2);
- вторичная активация транскрипции гена *C3'h* на стадии ранней восковой спелости зерновки, вероятно, являлась спорным вопросом, поэтому осталось незамеченным несоответствие между текстом диссертации и автореферата и выводами. В тексте речь идет о четырех генах (*Pal*, *C4h*, *4Cl* и *C3'h*) а в выводах – только о трех первых.

В целом, по результатам анализа диссертации можно заключить, что исследование А.Ю. Глаголевой вносит вклад в понимание генетического контроля процессов пигментирования зерновки у ячменя и имеет как фундаментальное, так и прикладное значение. Исследование соответствует уровню современных научных знаний в биологии. Защищаемые положения и выводы диссертационной работы экспериментально обоснованы. По материалам диссертации опубликовано 11 работ, из них 3 статьи в журналах первого квартиля. Работа апробирована на десяти научных конференциях и школах молодых ученых.

Считаю, что объем, качество и актуальность выполненных исследований, личный вклад соискателя соответствуют требованиям “Положения о присуждении ученых степеней”, утвержденного постановлением

Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г., №842 (с изменениями, внесенными постановлениями Правительства РФ от 11.09.2021 г.), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук. Анастасия Юрьевна Глаголева заслуживает ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7. – генетика.

Ведущий научный сотрудник

лаборатории физиолого-биохимической адаптации растений

ФГБУН “Сибирский институт физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук”,

доктор биологических наук

С.В. Осипова

Контактные данные

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки

“Сибирский институт физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук”

664033, Лермонтова 132, а/я 317, г. Иркутск, тел. (3952) 424551

e-mail: osipova@sifibr.irk.ru



Подпись *С.В. Осиповой*  
**ЗАВЕРЯЮ**  
Начальник отдела кадров  
*Александрова М.Д.*  
17.01.2023 г.