

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 24.1.239.01,  
СОЗДАННОГО 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  
КАНДИДАТА БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК

аттестационное дело № \_\_\_\_\_

решение диссертационного совета от 15 февраля 2023 г. № 5

О присуждении Глаголевой Анастасии Юрьевне  
(гражданка РФ)

ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация Глаголевой А.Ю. «Идентификация и анализ генов биосинтеза меланина в колосе ячменя (*Hordeum vulgare* L.)», по специальности 1.5.7. – генетика, принята к защите 27.09.2022 г, протокол № 22, Диссертационным советом 24.1.239.01 (Д 003.011.01), созданным 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 24.1.239.01 (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:** Глаголева Анастасия Юрьевна, 29 августа 1994 года рождения, в 2018 году окончила Факультет естественных наук Новосибирского государственного университета с присуждением степени

магистра по направлению подготовки «06.04.01 Биология». В 2022 году окончила очную аспирантуру ИЦиГ СО РАН по направлению подготовки «06.06.01 Биологические науки». В настоящее время работает младшим научным сотрудником в лаборатории молекулярной фитопатологии ИЦиГ СО РАН.

Диссертация выполнена в секторе функциональной генетики злаков ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук».

Научный руководитель – кандидат биологических наук Шоева Олеся Юрьевна, старший научный сотрудник, заведующая сектором функциональной генетики злаков ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», г. Новосибирск.

Официальные оппоненты:

1. **Лутова Людмила Алексеевна**, доктор биологических наук, профессор кафедры генетики и биотехнологии Санкт-Петербургского Государственного Университета (СПбГУ), г. Санкт-Петербург.
2. **Осипова Светлана Владимировна**, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории физиолого-биохимической адаптации ФГБУН «Сибирский институт физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук» (СИФИБР СО РАН), г. Иркутск.

Оппоненты дали положительные отзывы на диссертацию.

**Ведущая организация:** Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии, г. Москва в своём положительном отзыве, составленном кандидатом биологических наук, старшим научным сотрудником лаборатории прикладной геномики и частной селекции сельскохозяйственных растений ВНИИСБ Литвиновым Дмитрием

Юрьевичем и утвержденном директором ФГБУН Всероссийского научно-исследовательского института сельскохозяйственной биотехнологии РАН, академиком РАН Карловым Г.И., указала, что «Диссертационная работа Глаголевой А.Ю. «Идентификация и анализ генов биосинтеза меланина в колосе ячменя (*Hordeum vulgare* L.)» соответствует требованиям п. 9 "Положения о порядке присуждения ученых степеней", утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842, предъявляемым к диссертациям, выдвигаемым на соискание ученой степени кандидата биологических наук, а её автор заслуживает присуждения искомой степени по специальности 1.5.7. – Генетика. Отзыв заслушан, обсуждён и одобрен на заседании лаборатории прикладной геномики и частной селекции сельскохозяйственных растений Федерального государственного бюджетного учреждения науки Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии Российской академии наук 17 января 2023 г., протокол №3»

Соискатель имеет всего 49 опубликованных работ, из них по теме диссертации 11, общим объемом 42 страницы, из них в рецензируемых научных изданиях (WoS, Scopus) опубликовано 3 работы и 8 тезисов в материалах всероссийских и международных конференций. Во всех опубликованных работах личный вклад автора был определяющий. В диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных соискателем работах.

Наиболее значительные публикации по теме диссертации:

1. Glagoleva A.Y., Vikhorev A.V., Shmakov N.A., Morozov S.V., Chernyak E.I., Vasiliev G.V., Shatskaya N.V., Khlestkina E.K., Shoeva O.Y. Features of activity of the phenylpropanoid biosynthesis pathway in melanin-accumulating barley grains // *Frontiers in Plant Science*. – 2022. – Vol. 13. – I. 923717. DOI: 10.3389/fpls.2022.923717 (РИНЦ, Scopus, WoS, IF = 6,627)

2. Glagoleva A.Y., Kukoeva T.V., Mursalimov S.R., Khlestkina E.K., Shoeva O.Y. Effects of combining the genes controlling anthocyanin and melanin synthesis in the barley grain on pigment accumulation and plant development // *Agronomy*. – 2022. – Vol. 12. – I. 1. – P. 112. DOI: 10.3390/agronomy12010112 (РИНЦ, Scopus, WoS, IF = 3,949)
3. Glagoleva A.Y., Shoeva O.Y., Khlestkina E.K. Melanin pigments in plants: current knowledge and future perspectives // *Frontiers in Plant Science*. – 2020. – Vol. 11. – I. 770. DOI: 10.3389/fpls.2020.00770 (РИНЦ, Scopus, WoS, IF = 6,627)

На диссертацию и автореферат поступило 9 отзывов, все положительные. Отзывы прислали:

- 1) Антонова Е. В. – к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории популяционной радиобиологии ФГБУН Институт экологии растений и животных УрО РАН, г. Екатеринбург.
- 2) Веселова С.В. – к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории биохимии иммунитета растений Института биохимии и генетики ФГБНУ Уфимский федеральный исследовательский центр РАН, г. Уфа.
- 3) Загоскина Н.В. – д.б.н., профессор, ведущий научный сотрудник, руководитель группы фенольного метаболизма растений ФГБУН Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, г. Москва.
- 4) Лоскутов И.Г. – д.б.н., доцент, главный научный сотрудник, заведующий отделом генетических ресурсов овса, ржи, ячменя ФГБНУ Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), г. Санкт-Петербург и Ковалева О.Н., к.б.н., ведущий научный сотрудник отдела генетических ресурсов овса, ржи, ячменя ФГБНУ Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), г. Санкт-Петербург.
- 5) Шаманин В.П. – д.с.-х.н., профессор, профессор кафедры агрономии,

селекции и семеноводства ФГБОУ ВО Омский государственный аграрный университет, г. Омск и Потоцкая И.В., д.с.-х.н., доцент, профессор кафедры агрономии, селекции и семеноводства ФГБОУ ВО Омский государственный аграрный университет, г. Омск.

- 6) Куркиев К.У. – д.б.н, директор Дагестанской опытной станции ФГБНУ Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), Республика Дагестан, г. Дербент.
- 7) Петрушин И.С. – к.т.н, доцент кафедры естественнонаучных дисциплин ФГБОУ ВО Иркутский государственный университет, г. Иркутск.
- 8) Шилов И.А. – д.б.н., профессор РАН, заведующий лабораторией анализа геномов ФГБУН Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии, г. Москва.
- 9) Афанасенко О.С. – д.б.н., академик РАН, заведующая лабораторией иммунитета растений к болезням ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, г. Санкт-Петербург.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается тем, что оба оппонента являются компетентными специалистами в области генетики растений, имеют публикации в ведущих биологических журналах и дали свое письменное согласие быть оппонентами. Ведущая организация является одним из ведущих учреждений в области генетики и селекции сельскохозяйственных растений, что позволяет произвести экспертную оценку полученных в диссертационной работе результатов.

**Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований установлено, что ген, кодирующий белок из семейства CLAVATA, расположенный в локусе *Black lemma and pericarp 1*, является геном-кандидатом на роль *Blp1*, ответственным за признак черной окраски колоса у *Hordeum vulgare*.**

**Доказано**, что ген *Blp1* участвует в тканеспецифической регуляции экспрессии генов *Pal*, *4Cl*, *C4h*, *Comt* и *Ppo2*, кодирующих ферменты полифенольного метаболизма – фенилаланинаммиаклиазу, 4-кумарат-КоА-лигазу, циннамат-4-гидроксилазу, *O*-метилтрансферазу и полифенолоксидазу, соответственно.

**Теоретическая значимость работы обоснована тем, что** выявлены и охарактеризованы новые гены *Blp1*, *Ppo3* и *Ppo4*, участвующие в метаболизме полифенольных соединений; проведен анализ экспрессии генов *Pal*, *C4h*, *4Cl*, *Comt*, *Ppo1-4* в почти изогенной линии ячменя *i:VwBlp1* на разных стадиях созревания колоса ячменя, что позволило установить роль гена *Blp1* в биосинтезе фенилпропаноидов и формировании признака черной окраски колоса, а также вовлеченность полифенолоксидаз в биосинтез меланина.

**Показано**, что ген *Blp1* кодирует сигнальный пептид с CLE-доменом, характерным для белков из семейства CLAVATA/ESR. В структуре гена выявлено девять полиморфизмов (семь локализованы в 5'-нетранслируемой области гена, два – в белок-кодирующей) совместное наследование которых формирует гаплотип, ассоциированный с наличием окраски колоса ячменя.

**Высказана гипотеза**, что гаплотип, ассоциированный с черной окраской зерновки, имеет монофилетическое происхождение и возник у дикого предка ячменя до момента его доместикизации.

**Доказано**, что присутствие доминантного аллеля гена *Blp1* в почти изогенной линии *i:VwBlp1* приводит к активации транскрипции гена *Comt* и повторной активации генов *Pal*, *C4h* и *4Cl* на стадии ранней восковой спелости зерна.

**Показано**, что транскрипционная активность гена *Ppo2* зависит от стадии созревания колоса, но в отличие от генов *Ppo1*, *Ppo3* и *Ppo4*, только в присутствии доминантного аллеля гена *Blp1*.

**Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что разработаны специфические маркеры**

к гену *Blp1*, контролирующему черную окраску колоса у *Hordeum vulgare*, которые могут быть использованы при маркер-ориентированной селекции для получения сортов ячменя с высоким содержанием меланинов в зерновке.

Разработанные праймеры использованы для генотипирования аллельных вариантов гена *Blp1* в образцах культурного и дикого ячменя из коллекций Всероссийского института генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР) и Института цитологии и генетики СО РАН.

Данные, полученные в диссертационной работе, могут быть использованы в научно-исследовательских учреждениях биологического и сельскохозяйственного направления, связанных с изучением генетики и селекции злаков, а также в образовательном процессе при чтении курсов по генетике развития, селекции и биотехнологии растений.

**Применительно к проблематике диссертации результативно** использованы молекулярно-генетические методы, включая секвенирование, полимеразную цепную реакцию (ПЦР) и ее модификации – количественную и аллель-специфичную ПЦР, а также *in silico* анализ нуклеотидных и аминокислотных последовательностей генов, методы классического генетического анализа и статистического анализа данных.

Фенотипирование растений проводили на основе качественных реакций на антоцианы и меланины. Для поиска полиморфных участков в генах из локуса *Blp1* использовали последовательности из базы данных IPK Gatersleben, множественное выравнивание последовательностей генов проводили с помощью программы MUSCLE, для разработки маркеров к полиморфным сайтам использовали программный ресурс IDT PrimerQuest. Для предсказания структуры и функции генов использовали программу FGESH+, для моделирования трехмерной структуры белка – программу SWISS-MODEL, для филогенетического анализа – программу MTGA X. Использование этих методов позволило выявить в геноме *Hordeum vulgare* новые гены, участвующие в биосинтезе фенольных пигментов и исследовать механизмы их регуляции в процессе созревания колоса ячменя.

**Оценка достоверности результатов исследования** выявила их высокую надежность и воспроизводимость, которая подтверждается использованием для их получения современных методов, адекватных поставленным задачам, а также достаточным количеством генетического материала, используемого для поиска ассоциаций полиморфизмов в гене *Blp1* с наличием признака черной окраски зерновки ячменя (более 390 растений из коллекций ячменя ВИР им. Вавилова и ИЦиГ СО РАН, включая почти изогенные и мутантные линии), что позволило провести комплексный анализ данного признака, а также выявить и охарактеризовать гены, вовлеченные в биосинтез меланина в колосе ячменя. Научные положения, выносимые на защиту, в полной мере подтверждены результатами исследований.

Результаты исследования статистически обработаны, достоверны и могут быть использованы другими исследователями. При обсуждении результатов работы, касающихся генетических механизмов регуляции биосинтеза пигментов фенольной природы учитывались данные, полученные ранее другими исследователями по рассматриваемой тематике.

**Личный вклад автора** заключается в непосредственном участии в сборе материала, планировании и проведении научных экспериментов, обработке и интерпретации экспериментальных данных, участии в апробации результатов исследования и подготовке публикаций. Основные результаты исследования получены автором самостоятельно.

Полученные соискателем научные результаты соответствуют п. 6 «Методы генетического анализа у прокариот и эукариот. Генетическое картирование. Внехромосомная наследственность. Внехромосомная наследственность. Горизонтальный перенос генов.», п. 9 «Реализация генетической информации (транскрипция, трансляция). Механизмы регуляции экспрессии генов. Взаимодействие генов.» и п. 17 «Частная генетика микроорганизмов, растений и животных. Геносистематика. Филогенетика.» паспорта специальности 1.5.7. – 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 ученых степеней», утвержденным постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842.

В ходе защиты диссертации критических замечаний высказано не было. Соискатель Глаголева А.Ю. аргументированно ответила на все задаваемые ей в ходе заседания вопросы.

На заседании 15 февраля 2023 г. диссертационный совет принял решение присудить Глаголевой А.Ю. учёную степень кандидата биологических наук за решение научной задачи, связанной с идентификацией новых генов, вовлеченных в биосинтез меланина в колосе ячменя (*Hordeum vulgare* L.) и установлением их роли в данном процессе.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 22 человек, из них 6 докторов наук по специальности 1.5.7. – генетика, участвовавших в заседании, из 27 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за – 22, против – нет, недействительных бюллетеней – нет.

Зам. председателя  
диссертационного совета,  
доктор биологических наук



Н.Б. Рубцов

Ученый секретарь  
диссертационного совета,  
доктор биологических наук

Т.М. Хлебодарова

15.02.2023 г.