

## Отзыв официального оппонента

на диссертационную работу Черноок Анастасии Геннадьевны на тему  
“Молекулярно-генетический и фенотипический анализ генов-регуляторов роста и  
развития у короткостебельных форм пшеницы и тритикале”, представленной на  
соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7 -  
генетика

**Актуальность темы.** В диссертационной работе А.Г. Черноок приведены результаты исследований, связанных с изучением генетических факторов, влияющих на проявление генов короткостебельности у пшеницы и тритикале. Большинство современных сортов пшеницы содержат в своем геноме хотя бы один из генов короткостебельности (*Rht*), а у тритикале ген *Ddw1* является главным кандидатом для снижения высоты растения. Положительный эффект от наличия генов короткостебельности, установленный для полегания пшеницы, может сопровождаться негативными эффектами в отношении других хозяйственно важных признаков, таких как удлинение сроков колошения, снижение зимостойкости, фертильности, массы зерна. Нивелировать негативные эффекты генов *Rht* возможно путем комбинирования аллелей этих генов с генами яровизации (*Vrn*) и фотопериода (*Ppd*) либо с генами-регуляторами роста и развития растений. В диссертационной работе для поиска генов-компенсаторов негативных эффектов *Rht* генов было выбрано семейство транскрипционных факторов GRF (Growth Regulating Factor), которые регулируют ростовые процессы у растений. В настоящее время факторы регуляции роста и развития пшеницы изучены недостаточно и практически нет данных, которые свидетельствуют о степени их влияния на гены короткостебельности.

**Научная новизна.** К основным результатам, определяющим новизну исследований, следует отнести секвенирование нуклеотидных последовательностей генов *TaGRF3-2A*, *TaGRF3-2B*, *TaGRF3-2D*, в результате чего были созданы молекулярные маркеры для аллелей этих генов. Анализ большой коллекции сортов озимой и яровой пшеницы обнаружил редкую мутацию гена *TaGRF3-2A* у сорта яровой мягкой пшеницы Новосибирская 67, которая не выявлена ни у одного сорта из изученной коллекции. В работе также впервые показано влияние аллелей генов *TaGRF3-2A* и *TaGRF3-2D* на сроки колошения и массу 1000 зерен пшеницы.

Результаты, полученные автором, имеют **практический выход**. В процессе работы была проанализирована обширная коллекция яровых и озимых сортов мягкой пшеницы и гибридных линий, полученных от скрещивания образцов

пшеницы и тритикале. Образцы были ранжированы по аллелям генов *GRF*, *Vrn-A1*, *Vrn-B1*, *Ppd-D1*, *Rht-B1*. Данная информация может быть использована при отборе образцов для дальнейших скрещиваний. Разработанные маркеры для гена короткостебельности *Ddw1* и генов *GRF* можно рекомендовать для применения в селекционной практике при создании новых сортов тритикале и пшеницы.

#### **Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций.**

Диссертационная работа Черноок А.Г. выполнена на высоком методическом уровне. Достоверность результатов определяется достаточным числом полевых и лабораторных экспериментов, выполненных с использованием коллекций яровых и озимых сортов пшеницы и гибридных линий пшеницы и тритикале. Достоверность результатов подтверждается также достаточным числом публикаций в международных и отечественных журналах. Основные результаты опубликованы в восьми российских и зарубежных журналах, входящих в международные базы данных Web of Science и Scopus и в список ВАК. Результаты докладывались и обсуждались на конференциях, симпозиумах и совещаниях различного уровня.

**Структура диссертационной работы.** Диссертационная работа построена по стандартному плану, состоит из введения, трех глав, заключения, выводов и приложения к диссертации. Изложена на 214 страницах, содержит 13 таблиц и 42 рисунка. Список цитированной литературы включает 287 источников.

Во введении обоснована актуальность темы исследования, сформулированы цель и задачи работы, положения, выносимые на защиту, методология исследований, научная новизна и практическая значимость и личный вклад соискателя.

Глава 1 является литературным обзором, в котором проанализировано большое количество отечественных и зарубежных источников по направлениям исследований, представленных в диссертации. В данной главе описывается важное значение таких сельскохозяйственных культур как пшеница и тритикале, классификация и распространение аллелей генов *Rht*, *Ppd*, *Vrn* у пшеницы и генов *Ddw1*, *Vrn* у тритикале, генов *GRF* у риса, кукурузы и арабидопсиса. Часть обзора литературы посвящена описанию эффектов генов короткостебельности на хозяйственно-ценные признаки растений. Автору удалось довольно полно отразить современное состояние проблемы, связанной с возможностью использования короткостебельных сортов злаковых культур.

В главе 2 приведены объекты и методы исследования, описаны условия проведения полевых испытаний озимой и яровой пшеницы и гибридных линий пшеницы и тритикале для оценки разнообразных хозяйственно важных признаков. В работе использован комплекс современных молекулярно-генетических методов (ПЦР, секвенирование, фрагментный анализ) и классические селекционно-генетические методы.

Глава 3 включает результаты исследования и состоит из шести разделов. В этой главе описаны результаты разработки маркеров для генов-регуляторов роста и гена короткостебельности ржи. Также представлены данные факторного анализа по влиянию различных сочетаний аллелей генов-регуляторов роста, генов *Rht*, *Vrn* и *Ppd*.

В главе «Заключение» автор в краткой форме приводит итог проведенных исследований, резюмирует ключевые положения диссертационной работы. Выводы по своему содержанию соответствуют поставленным задачам.

Глава Приложение включает 11 таблиц, в которых выложена информация об аллельном составе генов GRF у озимых сортов пшеницы и результаты факторного анализа, проведенного по результатам оценки для хозяйственно важных признаков пшеницы и рекомбинантных линий с учетом аллельного состояния изученных в работе локусов.

Однако наряду с положительными сторонами в работе имеются и некоторые недостатки. В качестве замечаний и вопросов для обсуждения можно отметить следующие:

1. На основании результатов диссертационной работы автор выдвинул Положение на защиту (№2), что «Аллель 5'-UTR-238 гена *TaGRF3-2D* мог возникнуть в ходе эволюционных процессов внутри генома гексаплоидной пшеницы, так как не встречается в геноме *Ae. tauschii*». На мой взгляд, это излишне категоричное суждение, поскольку в работе использовано всего 37 образцов *Ae. tauschii*, тогда как разновидностей этого злака значительно больше. Например, при разработке SSR маркеров для генома D было использовано 113 разновидностей *Aegilops tauschii* из Генбанка IPK (Гатерслебен, Германия).
2. Вопрос по процедуре выделения ДНК. Выделение ДНК для генотипирования проводили на стадии колошения (стр. 53). Почему для

генотипирования ДНК выделяли именно на стадии колошения? И для каких экспериментов использовалась ДНК, выделенная из проростков и сухих листьев?

3. Непонятно описан принцип отбора маркеров на хромосому 2D (стр. 54). Соискатель утверждает, что маркеры были выбраны на основе аннотации сборки генома пшеницы IWGSC RefSeq v1.0. При этом выбор остановили на давно известных микросателлитных локусах *Xgwm261* и *Xcfd233*. Микросателлитный локус *Xcfd233* был выбран как ближайший к аннотированному гену *TraesCS2D01G435200* на 2D-хромосоме с расстоянием 14949152 п.н. Дистанция 14.9 Мbp очень огромная. Вопрос к автору: сколько маркеров было отобрано и проанализировано на основании сборки псевдомолекулы пшеницы? Были ли среди них полиморфные и были ли среди них маркеры, расположенные на более коротком расстоянии от целевого гена *TraesCS2D01G435200*?
4. Глава 3.1 стр. 71. Автор указывает, что «В результате секвенирования у 19 сортов пшеницы мягкой (Гром, Алтиго, Алексеич, Дока, L.2877k58, Аль-Муруж, Фишт, Ирак, Новосибирская 67, Протон, Роми, Саратовская 29, Сила, Стан, Томуз 3, Васса, Велена, Вид) был обнаружен 21 гаплотип гена *TaGRF3-2A*. Вопрос к автору – почему сортов 19 (на самом деле в скобках приведено 18), а гаплотипов 21? К сожалению, в таблице-Приложение А гаплотипы гена *TaGRF3-2A* и его окружения представлены не полностью и не для всех изученных сортов.
5. В главе Материалы и методы очень неудачно скомпонован раздел «Коллекция мягкой пшеницы». Наименования использованных в работе сортов написаны через запятую на 1.5 страницы текста, число образцов не указано. Некоторые сорта пшеницы обозначены как яровые формы (например, Гром, Васса, Фишт, Алексеич и др.), хотя на самом деле они являются озимыми. Далее в главе Результаты появляются данные по изучению сородичей мягкой пшеницы (*T. spelta*, *T. urartu*, дикая полба *Zavitan*), а также других сортов пшеницы, информации о которых нет в

Материалах и методах. Необходимо было подготовить полный список образцов пшеницы и ржи в виде таблицы с указанием географического происхождения, каталожных номеров при наличии, образа жизни (яровой, озимый), селекционная линия или сорт.

6. В тексте встречаются неудачные формулировки, не совсем корректные фразы и небрежное оформление текста.

- стр. 11 «Показано взаимодействие генов-регуляторов роста *TaGRF3-2A*, генов реакции растений на температурный режим *Vrn-A1* и фотопериодизм *Ppd-D1* .....»

- стр. 61 «Результаты генотипирования далее накладывались на данные полевого фенотипирования»

- Неудачная формулировка подписи к рисунку 27 «Урожайность и натура зерна образцов пшеницы, различающихся размером микросателлита в 5'-UTR гена *TaGRF3-2A* в течение трёх лет (2018–2020 года) в Краснодаре».

- Предложение на стр. 12 «Это однозернянка (*T. monococcum* L. subsp. *monococcum*, диплоид, геномы AA), полба (*T. turgidum* L. var. *dicoccum*, тетраплоид, геномы AABB) и полба (*T. aestivum* subsp. *spelta* (L.) Thell), гексаплоидные, геномы AABBD).

- Небрежно оформлен список литературы. Больше половины ссылок начинается с названия статьи, а не с фамилии автора (авторов).

Однако приведенные замечания не снижают ценности результатов, представленных в диссертационной работе.

### **Заключение.**

Диссертационная работа Черноок А.Г. представляет собой законченное экспериментальное исследование, выполненное с привлечением разнообразных методических подходов. Автореферат диссертации Черноок А.Г. полностью отражает основное содержание диссертации.

По совокупности и объему полученных результатов диссертационная работа Черноок Анастасии Геннадьевны «Молекулярно-генетический и фенотипический

анализ генов-регуляторов роста и развития у короткостебельных форм пшеницы и тритикале» соответствует требованиям ВАК, изложенным в пп. 9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. №842, а ее автор, Черноок Анастасия Геннадьевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7 — генетика.

Официальный оппонент,

доктор биологических наук, заведующий лабораторией биофортификации пшеницы, старший научный сотрудник лаборатории геномной селекции растений Федерального исследовательского центра Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, г. Новосибирск

Леонова Ирина Николаевна

Почтовый адрес: г. Новосибирск, проспект академика Лаврентьева, 10, 630090

e-mail: [leonova@bionet.nsc.ru](mailto:leonova@bionet.nsc.ru); телефон: +7(383)-363-49-63\*5307

*Леона*

/Леонова И.Н./

*10.10.2023*

Подпись Леоновой И.Н. заверяю

Ученый секретарь ИЦиГ СО РАН, к.б.н.

Орлова Г.В.

*Г.В. Орлова*  
*10.10.23*

