

## ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу Пермяковой Марины Диомидовны, выполненную на тему «Липоксигеназы пшеницы *Triticum aestivum* L.: генетический контроль активности, роль в качестве клейковины и устойчивости к засухе», представленную на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.01.05 – физиология и биохимия растений.

Известно, что одной из неспецифических и наиболее ранних реакций живых организмов при стрессе является интенсификация реакций оксигенирования липидов. Ключевая роль в этом процессе принадлежит липоксигеназе, поэтому изучение этого фермента представляет большой интерес. У растений наиболее исследованным является фермент из соевых бобов, тогда как о липоксигеназе пшеницы *Triticum aestivum* L. - важнейшей продовольственной культуры, сведений не хватает. Сложной задачей является сохранение урожайности и хлебопекарного качества пшеницы в неблагоприятных условиях, в том числе в условиях засухи. Изучение генетического контроля липоксигеназы, как фактора, влияющего на устойчивость и адаптацию пшеницы к стрессу, а также на качество ее клейковины представляет большой интерес для селекционных программ улучшения *T. aestivum*. Работа Пермяковой М.Д. посвящена комплексному изучению липоксигеназы гексаплоидной пшеницы: выявлению изоферментного состава, физиологической и хлебопекарной роли, а также генетической регуляции ее активности при разном водном режиме. Актуальность этой работы не вызывает сомнений.

Диссертация выполнена в соответствии с общими требованиями к структуре диссертационной работы. Она состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, результатов, обсуждения, заключения, выводов и списка литературы. Материал диссертации изложен на 313 страницах печатного текста, включая 38 таблиц и 57 рисунков. Список цитированной литературы содержит 652 работы, большинство из которых на английском языке.

Во введении автор убедительно обосновывает актуальность своего исследования, четко определяет его цель и конкретные задачи, а также формулирует четыре положения, выносимые на защиту, обоснованность каждого из которых в дальнейшем будет успешно доказана в работе.

Автором сформулированы восемь пунктов, отражающих научную новизну его диссертационной работы. Среди них, на мой взгляд, наиболее значительные новые результаты – это определение изоферментного состава липоксигеназы пшеницы в условиях разного водообеспечения; картирование геноме *T. aestivum* локусов количественных

признаков, связанных с регуляцией ферментативной активности и их ко-локализация с локусами многих изученных физиологических признаков; обнаружение генов биосинтеза двух изоферментов ЛОГ и 50-ти *a priori* кандидатных генов для регуляции ее активности, а также выявление генной сети регуляции оксилипинового сигналинга, тесно вплетенной в генную сеть гормональной регуляции перестройки метаболизма при водном дефиците.

Три раздела литературного обзора (Липоксигеназа, Картирование генома пшеницы, Хлебопекарные свойства пшеницы) достаточно полно отражают отдельные аспекты проблематики диссертационной работы. Большая часть представленных литературных источников относится к последнему десятилетию, что дает четкое и исчерпывающее представление о современном состоянии изученности темы представленной работы.

Глава «Материалы и методы» впечатляет большим количеством генотипов пшеницы, вовлеченных в исследование, включая наборы интrogессированных и рекомбинантных линий пшеницы. Также работу отличает широкий набор методов: экстракция и определение активности ферментов, электрофорез и иммуноблоттинг, определение параметров газообмена и фотосинтеза, оценка технологических свойств зерна и муки, картирование признаков в геноме *T. aestivum* и выявление кандидатных генов. Сочетание экспериментальных подходов физиологии, биохимии, генетики и биоинформатики позволило автору успешно решить поставленные задачи.

В главе «Результаты» представлены полученные в ходе многолетних исследований данные, большинство из которых являются приоритетными. Глава включает пять разделов, три из которых описывают результаты по изучению липоксигеназы в семенах, проростках и листьях пшеницы. Четвертый раздел посвящен изучению влияния на активность ЛОГ интргессии в геном пшеницы сегментов генома диких злаков, а последний раздел - картированию локусов, ассоциированных с активностью ЛОГ и выявлению кандидатных генов, регулирующих этот признак.

В данной работе впервые у *T. aestivum* в условиях разного водного режима были изучены изоферментный состав и активность ЛОГ в белковых фракциях, обогащенных растворимой ЛОГ семян, растворимой и микросомальной ЛОГ проростков и листьев, а также растворимой и мембранных хлоропластных ЛОГ. Было обнаружено не менее 14 молекулярных форм фермента и показано, что их состав ЛОГ различается среди генотипов пшеницы при оптимальных и стрессовых условиях.

Впервые было изучено влияние водного дефицита на активность разных форм ЛОГ и ее корреляционная и генетическая взаимосвязь с биомассой побега, транспирацией, устьичной проводимостью, эффективностью фотосинтеза и зерновой продуктивностью гексапloidной пшеницы. Приоритетным результатом является картирование в геноме

пшеницы локусов количественных признаков, ассоциированных с активностью ЛОГ в отдельных клеточных компартментах нескольких органов растений.

Изучение интровергессии сегментов геномов *Aegilops tauschii* и *Triticum timopheevii* в геноме *T. aestivum* L. показало перспективность интровергессии генов ЛОГ этих диких злаков для улучшения адаптации пшеницы к засухе.

Впервые была предложена гипотеза альтернативного механизма действия ЛОГ в определении хлебопекарного качества пшеницы, связанного с ее взаимодействием с липид-переносящими белками пуроиндолинами.

Одним из наиболее ярких и значительных результатов работы является выявление на основе биоинформационного анализа референсного генома *T. aestivum* генной сети регуляции оксилипинового сигналинга. Этот результат приближает нас к пониманию молекулярно-генетического механизма адаптации пшеницы к водному дефициту.

В главе «Обсуждение» все изложенные в работе результаты исчерпывающе обсуждены в контексте последних литературных сведений. Обсуждение хорошо структурировано, включает обобщающие схемы и логично приводит к заключению и восьми выводам. Выводы сформулированы четко, обоснованы и соответствуют поставленным цели и задачам исследования.

Подчеркивая высокий научный уровень работы, все же следует прояснить некоторые вопросы и отметить отдельные недостатки:

1. Результаты изучения изоферментного состава липоксигеназы *T. aestivum* не дают четкого представления о количестве изоферментов в изученных органах и компартментах.

2. Какова мотивация выборы фазы развития растений пшеницы (в основном, кущение) для изучения их устойчивости и адаптации к водному дефициту?

3. В диссертации нечетко обосновано применение используемой модели почвенной засухи; как эти модельные эксперименты экстраполируются на условия природной засухи, которая, как известно, часто сочетается с высокими температурами?

4. При изучении влияния интровергессии сегментов генома *Aegilops tauschii* в геноме *T. aestivum* на активность ЛОГ и устойчивость пшеницы к засухе правильнее было бы интровергессированные линии сравнивать с самим эгилопсом, а не с синтетической пшеницей, несущей его интровергессии.

5. Почему для биоинформационного анализа был взят более широкий интервал хромосомы 2A (99.3 – 115.1 cM), превышающий область выявленных кластеров локусов (102 cM и 108.5 – 109 cM)?

6. В дополнение к биоинформационному анализу транскриптомное исследование выявленных хромосомных регионов могло бы дать более точную картину о молекулярно-генетическом механизме адаптации пшеницы к засухе.

7. Выявленные молекулярные механизмы адаптации к засухе универсальны или специфичны только для пшеницы, могут ли они работать при других видах стресса?

Перечисленные замечания не влияют на высокую оценку диссертационной работы. Диссертация представляет собой значительное по объему комплексное исследование липоксигеназы пшеницы *T. aestivum* и является цельной завершенной работой и имеет как теоретическую, так и практическую ценность. Работа логично построена, хорошо структурирована, четко изложена и иллюстрирована. Достоверность результатов и сделанных выводов подтверждена результатами статистической обработки. Результаты представлены более чем на 16 различных российских и международных конференциях и в 20 статьях в рецензируемых журналах из перечня ВАК. Автореферат в полной мере отражает содержание диссертации.

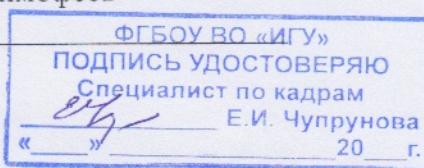
### **Заключение**

Диссертационная работа Пермяковой Марины Диомидовны «Липоксигеназы пшеницы *Triticum aestivum* L.: генетический контроль активности, роль в качестве клейковины и устойчивости к засухе», представленная на соискание ученой степени доктора биологических наук 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 ВАК Минобразования и науки РФ на соискание ученой степени доктора биологических наук, а ее автор Пермякова М.Д. заслуживает присуждения ей искомой степени доктора биологических наук по специальности 03.01.05 – физиология и биохимия растений.

Официальный оппонент:  
Доктор биологических наук

*М. Тимофеев*  
16.04.2020

М.А. Тимофеев



Тимофеев Максим Анатольевич  
Доктор биологических наук 03.02.08 – Экология (биология)  
Директор Научно-исследовательского института биологии  
Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения  
высшего образования «Иркутский государственный университет»;  
664003, г. Иркутск, ул. Ленина, д. 3. Тел. (3952) 24-30-77.  
Интернет-сайт организации: bioinstitute.ru  
Электронный адрес: director@bio.isu.ru; m.a.timofeyev@gmail.com



«Отзыв заверяю» Ученый секретарь ФГБОУ ВО «ИГУ» *Н.Г. Кузьмина*