

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 003.047.01
НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО
УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ СИБИРСКОГО ИНСТИТУТА ФИЗИОЛОГИИ И
БИОХИМИИ РАСТЕНИЙ СИБИРСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ РОССИЙСКОЙ
АКАДЕМИИ НАУК ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ
ДОКТОРА БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК**

аттестационное дело №
решение диссертационного совета от 23 сентября 2020 г. № 4

о присуждении **Пермяковой Марине Диомидовне** (Российская Федерация) ученой степени доктора биологических наук.

Диссертация «Липоксигеназы пшеницы *Triticum aestivum* L.: генетический контроль активности, роль в качестве клейковины и устойчивости к засухе» по специальности 03.01.05 – «физиология и биохимия растений» принята к защите 17 февраля 2020 года, протокол №2, диссертационным советом Д 003.047.01 на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Сибирского института физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук (664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, д. 132, а/я 317), приказ о создании №105/нк от 11 апреля 2012 г.

Соискатель Пермякова Марина Диомидовна, 1960 года рождения, с 1987 работает в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Сибирском институте физиологии и биохимии растений Сибирского отделения РАН, в настоящее время в должности старшего научного сотрудника. Диссертацию на соискание ученой степени кандидата биологических наук «Роль липоксигеназы в определении качества пшеницы и физиолого-генетические аспекты регуляции ее активности» по специальности «физиология и биохимия растений» защитила в 2007 году в диссертационном совете, созданном на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Сибирского института физиологии и биохимии растений Сибирского отделения РАН.

Диссертация выполнена в лаборатории физиолого-биохимической адаптации растений Федерального государственного бюджетного учреждения науки Сибирского института физиологии и биохимии растений Сибирского отделения РАН.

Научный консультант – доктор биологических наук Осипова Светлана Владимировна, ведущий научный сотрудник лаборатории физиолого-биохимической адаптации растений Федерального государственного бюджетного учреждения науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений Сибирского отделения РАН.

Официальные оппоненты:

1. Сафченко Татьяна Викторовна, доктор биологических наук, доцент, ведущий научный сотрудник, заведующая лабораторией фотосинтетического окисления воды Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федеральный исследовательский центр «Пущинский научный центр биологических исследований Российской академии наук Институт фундаментальных проблем биологии».

2. Тимофеев Максим Анатольевич, доктор биологических наук, директор Научно-исследовательского института биологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Иркутский государственный университет» профессор кафедры гидробиологии и зоологии беспозвоночных биолого-почвенного факультета, заведующий лабораторией «Проблемы адаптации биосистем»; ФГБОУ ВО «ИГУ».

3. Щербань Андрей Борисович, доктор биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики и цитогенетики растений отдела молекулярной генетики растений Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук»

дали положительные отзывы о диссертации.

Ведущая организация Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Российский государственный аграрный университет – Московская сельскохозяйственная академия имени К.А. Тимирязева (ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева) в своем положительном отзыве, подписанном Новиковым Николаем Николаевичем, доктором биологических наук, профессором, профессором кафедры агрономической, биологической химии и радиологии, указала, что диссертационная работа «Липоксигеназы пшеницы *Triticum aestivum* L.: генетический контроль активности, роль в качестве клейковины и устойчивости к засухе» соответствует требованиям ВАК РФ, предъявляемым к докторским диссертациям про действующему «Положению о порядке присуждения ученых степеней», а ее автор заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.01.05. – Физиология и биохимия растений. Отзыв на диссертацию заслушан и обсужден на заседании кафедры агрономической, биологической химии и радиологии ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева (протокол №3 от 10 марта 2020 г.).

Соискатель имеет более 75 опубликованных работ по результатам исследования, из них 18 статей в ведущих отечественных и зарубежных рецензируемых журналах, индексируемых в WoS и Scopus.

Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:

1. Пермякова М.Д. Роль липоксигеназы в определении качества зерна пшеницы / М.Д. Пермякова, В.А. Труфанов, Т.А. Пшеничникова, М.Ф. Ермакова // Прикл. биохимия и микробиология. – 2010. – Т. 46, № 1. – С. 96–102.
2. Пермякова М.Д. Липоксигеназы листьев пшеницы, выращенной в условиях разного водообеспечения / М.Д. Пермякова, Пермяков А.В., Осипова С.В., Пшеничникова Т.А. // Прикл. биохимия и микробиология. – 2012. – Т. 48, № 1. – С. 1–6.
3. Пермякова М.Д. Хромосомные области, ассоциированные с активностью липоксигеназы в геноме *D Triticum aestivum* L. при водном дефиците / М.Д. Пермякова, А.В. Пермяков, С.В. Осипова, Т.А. Пшеничникова, А.А. Шишпарёнок, Е.Г. Рудиковская, А.В. Рудиковский, В.В. Верхотуров, А. Бёрнер // Физиология растений. – 2017. – Т. 64, № 1. – С. 33–46.

На диссертацию и автореферат поступили отзывы: ведущей организации ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, г. Москва, 4 замечания (1 - в диссертации содержится чрезвычайно много сокращений терминов и названий генотипов, затрудняющих понимание материалов диссертации; 2 - в выводах диссертации желательно указывать в каких опытах и на каком материале получены экспериментальные данные, относящиеся к конкретному обобщению; 3 - следовало подробно изложить методику выращивания растений пшеницы (характеристика почвы, уровень питания, гидротермические условия и др.); 4 - на основе коэффициентов корреляции, вероятно, не следует говорить о взаимосвязи признаков);

официального оппонента д.б.н. Савченко Т.В., ФГБУН «Пушкинский научный центр биологических исследований Российской академии наук Институт фундаментальных проблем биологии», г. Пушкино, 4 замечания (1 - Рисунок 17: в тексте изоферменты обозначены как Lpx-1, Lpx-2 и Lpx-3, а на рисунке как ЛОГ-1, ЛОГ-2 и ЛОГ-3; 2 – нет информации о том, какие именно антитела были использованы в работе; 3 - что означает «1 мл» в тексте «тщательно растирали в фарфоровой ступке с 3 мл 80%-ого ацетона (1мл) и 10 мг CaCO₃»; 4 - обнаруживаются неточности в некоторых фразах, переводах с английского языка);

официального оппонента д.б.н. Тимофеева М.А., НИИ биологии ФГБОУ ВО «ИГУ», г. Иркутск, 7 замечаний (1 – нет четкого представления о количестве изоферментов в изученных органах и компартментах; 2 - какова мотивация выбора фазы развития растений пшеницы?; 3 - нечетко обосновано применение используемой модели почвенной засухи; как эти модельные эксперименты экстраполируются на условия

природной засухи? 4 - правильное было бы интрогрессированные линии сравнивать с самим эгилопсом, а не с синтетической пшеницей, несущей его интрогрессии; 5 - почему для биоинформационного анализа был взят более широкий интервал хромосомы 2A (99.3 – 115.1 сМ), превышающий область выявленных кластеров локусов (102 сМ и 108.5 – 109 сМ)?; 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?;

официального оппонента д.б.н. А.Б. Щербаня, ФГБУН ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск, 5 замечаний (1 - стр.8. Задачи исследования. Пункт 1, в конце: «Выявить взаимосвязь ферментативной активности с физиологическими и хлебопекарными параметрами пшеницы». Это предложение больше подходит к следующей задаче; 2 - в чем преимущество выбранной модели для имитации засухи с использованием 12% раствора ПЭГ6000?; 3 - почему на одних рисунках молекулярных форм ЛОГ размерность изоферментов выражена в kDa, а на других - в единицах подвижности RF? Можно ли унифицировать этот показатель?; 4 - Во многих местах (стр. 4, 10, 66, 156, 245, 265) используется неправильное написание вида: *Ae. taushii* вместо *Ae. tauschii*; 5 - Вывод 5: «Интрогрессия сегментов генома *T. timopheevii* и *Ae. taushii* в геном *T. aestivum* привносит гены изоферментов ЛОГ диких злаков...», доказательств прямой интрогрессии генов изоферментов нет в данной работе. Прямым доказательством могла бы быть ПЦР со специфическими праймерами к генам ЛОГ диких видов;

к.б.н. Евсеева Н.В., д.б.н., проф. Матора Л.Ю., ФГУН ИБФРМ РАН, г. Саратов;

д.б.н., проф., академик АН РК Жамбакин К.Ж., к.б.н., асс. проф. Терлецкая Н.В., РГП «ИББР», г. Алматы, Казахстан;

д.б.н., проф. Стегний В.Н., НИИ биологии и биофизики ФГБОУ ВПО Томский государственный университет, г. Томск;

академик НАН Беларуси, д.б.н., проф. Кильчевский А.В., к.б.н. Орловская О.А., Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, г. Минск, Беларусь;

д.б.н. Давоян Р.О., ФГБНУ «НЦЗ им. П.П. Лукьяненко», г. Краснодар;

д.б.н. Головкин Т.К., Институт биологии Коми научного центра УрО РАН ФГБУН ФИЦ «Коми научный центр УрО РАН», г. Сыктывкар;

д.с.-х.н. Зобова Н.В., Красноярский НИИ сельского хозяйства – обособленное подразделение ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр СО РАН», г. Красноярск;

д.б.н. Имбс А.Б., ФГБУН Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского Дальневосточного отделения РАН, г. Владивосток, 2 замечания (1 - в разделе «Выводы» параграф 8 частично повторяет содержание параграфа; 2 – на рисунках 13 и 15 мелкий шрифт и недостаточное качество печати);

к.с./х.н. Андреева Л.В., д.б.н. Крупнова О.В., ФГБНУ «НИИСХ Юго-Востока, г. Саратов, 4 замечания (1 - в табл. 2 автореферата приведены результаты изучения корреляции между ЛОГ и качеством клейковины только за один год (2000 г.), что явно недостаточно; 2. - в автореферате отсутствуют конкретные данные по изучению выпечек; 3 – судя по автореферату, роль ЛОГ в устойчивости/толерантности пшеницы к засухе, изучалась на единичных растениях, то есть, не связана с урожаем с единицы площади; 4 - гипотеза соискателя о перспективности *Triticum timopheevii* в качестве донора генов липоксигеназы вызывает сомнение, так как не приведены соответствующие данные исследований на ценозах);

д.с.-х.н. Ионова Е.В., Центр фундаментальных научных исследований ФГБНУ «Аграрный научный центр «Донской», г. Зерноград, 3 замечания (1 - хотелось бы более подробной информации о количестве изучаемого исходного материала (сортов, линий и т.д.); 2 – на ряде представленных рисунков выбранный шрифт не соответствует

требованиям ГОСТа по оформлению диссертационных работ и авторефератов (Рис. 2,3,8,9,11); 3 - Имеются стилистические и грамматические ошибки, неудачные выражения, опечатки).

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается их широкой известностью своими достижениями в области науки по специальности защищаемой диссертации и смежных областях.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

разработаны положения, вносящие значительный вклад в понимание физиологических функций и генетической регуляции липоксигеназ *Triticum aestivum* L.;

предложена стратегия для познания засухоустойчивости и других сложных полигенных признаков путем применения подхода массивного картирования локусов количественных признаков в геноме пшеницы с последующим выявлением *a priori* кандидатных генов;

доказано присутствие в регионе 2A 99.3 – 115.1 сМ генома *Triticum aestivum* L. генной сети гормональной регуляции перестройки метаболизма при водном дефиците, включающей регуляцию оксипинового сигналинга.

Теоретическая значимость исследований обоснована тем, что: обнаружение в геноме пшеницы регионов, ассоциированных с регуляцией активности липоксигеназы, и выявление *a priori* кандидатных генов, в значительной мере раскрывает механизмы перестройки метаболизма растений при стрессе.

Применительно к проблематике диссертации результативно, то есть с получением обладающих новизной результатов использован комплекс современных подходов и методов исследования, включающих электрофоретические и иммунологические методы, получение и анализ ферментных экстрактов, исследование флуоресценции хлорофилла, картирование локусов количественных признаков в геноме пшеницы, биоинформационный анализ референсного генома *Triticum aestivum*;

изложены принципиально новые данные об изоферментном составе, функциональном значении и генетической регуляции липоксигеназ гексаплоидной пшеницы. На хромосоме 2A генома *T. aestivum* L., выявлена локализация двух неизвестных ранее генов биосинтеза ЛОГ и генная сеть регуляции оксипинового сигналинга. Впервые показано, что интрогрессия сегментов генома диких злаков *Ae. tauschii* и *T. timopheevii* в геном *T. aestivum* L. влияет на регуляцию устьичных эффектов при адаптации к водному дефициту;

раскрыто вовлечение двух путей липидного метаболизма, инициированных липоксигеназой, жасмонатного и пероксигеназного, в адаптацию растений пшеницы к засухе;

проведена модернизация существующих представлений о механизме влияния липоксигеназы на формирование хлебопекарных свойств пшеницы. Сформулирована гипотеза о синергичном действии липоксигеназы и пуриноидолинов, которая представляет новый взгляд на формирование текстуры эндосперма, качество клейковины и мобилизацию липидов эндосперма при прорастании семян гексаплоидной пшеницы.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что

определены молекулярно-генетические механизмы адаптации пшеницы к засухе, связанные метаболизмом липидов, знание которых может быть использовано в качестве теоретической основы для разработки эффективных стратегий и подходов в селекционных программах на засухоустойчивость.

созданы предпосылки для применения идентифицированных в данной работе локусов, регулирующих активность разных форм липоксигеназы в геномах А, В и D гексаплоидной пшеницы в ассоциированной с ДНК-маркерами селекции для улучшения засухоустойчивости и технологического качества пшеницы. Понимание механизма

воздействия ЛОГ на формирование белково-липидного комплекса клейковины пшеницы может быть полезно для целенаправленного применения фермента в хлебопекарной и кондитерской технологиях как средства регуляции твердозерности и улучшения качества хлеба и мучных кондитерских изделий.

Представлены данные, которые могут быть использованы в работе научно-исследовательских учреждений биологического и образовательного профиля, а также при чтении лекций по физиологии растений, генетике и биотехнологии растений для студентов биологических факультетов университетов и сельскохозяйственных ВУЗов.

Оценка достоверности результатов исследования выявила следующее:

для экспериментальных работ результаты получены с применением оборудования Федерального государственного бюджетного учреждения науки Сибирского института физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук с использованием стандартных методик. Заключение о достоверности результатов основано на статистической обработке экспериментальных данных;

теория основана на имеющихся в литературе данных об оксилипиновом сигналинге и о молекулярно-генетической регуляции адаптации растений к водному дефициту;

использовано сравнение авторских данных и результатов, полученных другими исследователями по рассматриваемой тематике;

установлено, что результаты работы и сформулированные выводы расширяют знание об изоферментном составе, генетическом контроле и функциональной значимости липоксигеназ пшеницы и не противоречат результатам, представленным в независимых источниках по данной тематике;

использованы современные методики сбора и обработки информации, в том числе электронные ресурсы PubMed, Web of Science, eLIBRARY и др.

Личный вклад соискателя состоит в постановке цели и задач исследования, планировании и выполнении экспериментов, обработке, интерпретации и обобщении результатов, написании статей, а также апробации результатов исследования на всероссийских и международных конференциях.

На заседании 23 сентября 2020 г. Диссертационный совет принял решение присудить Пермяковой Марине Диомидовне ученую степень доктора биологических наук. При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 15 человек, из них 14 докторов наук, участвовавших в заседании, из 19 человек, входящих в состав совета, дополнительно введены на разовую защиту 0 человек, проголосовали: за - 14, против - 1, недействительных бюллетеней - 0.

Председатель

диссертационного совета Д 003.047.01

доктор биологических наук

профессор



Войников Виктор Кириллович

Ученый секретарь

диссертационного совета Д 003.047.01

кандидат биологических наук

Акимова Галина Петровна

23 сентября 2020 года