

## ОТЗЫВ

**официального оппонента на диссертацию Карпеченко Никиты Александровича «Анализ белковых спектров ферментов метаболических путей и инвертированных повторов ДНК древесных растений дуба черешчатого, произрастающих в лесостепи европейской части Российской Федерации», представленную на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.04 – биохимия**

Диссертационная работа Карпеченко Н. А. включает результаты масштабных исследований, касающихся анализа изменения биохимических параметров в популяции древесных растений. В качестве объекта для исследования диссертантом была выбрана популяция одной из основных лесообразующих пород древесных растений – дуба черешчатого (*Quercus robur* L.), охватывающая обширную территорию лесостепи европейской части Российской Федерации.

**Актуальность темы** исследования заключается в решении актуальной проблемы отсутствия научного подхода современных методов биохимии и молекулярной биологии к мониторингу биоразнообразия растений дуба черешчатого на территории Российской Федерации.

Целью настоящей работы было изучение и анализ изменения белкового спектра ферментов метаболических путей клетки и молекулярных маркеров (инвертированных повторов) в популяции древесных растений дуба черешчатого, произрастающих в условиях разных мест обитания.

Для достижения поставленной цели диссертантом были решены следующие задачи:

- 1) Изучить полиморфизм белкового спектра ферментов метаболических путей клетки в популяции дуба черешчатого.
- 2) Определить характер изменения ДНК-маркеров в популяции дуба черешчатого.

3) Провести анализ и определить параметры биохимико-генетической изменчивости популяции дуба черешчатого в лесостепи европейской части Российской Федерации.

4) На основе полиморфизма биохимических маркеров провести кластерный анализ и составить карты границ популяционной структуры дуба черешчатого в лесостепи европейской части Российской Федерации.

**Научная новизна** диссертационной работы Карпеченко Н. А. заключается в том, что полученные результаты дополняют и расширяют представления о механизмах адаптации растений к различным условиям произрастания, ассоциацию данных процессов с изменением биохимических и молекулярно-биологических параметров, что характеризует формирование определенной генетической структуры популяции.

Впервые диссертантом на основании биохимических и молекулярно-биологических параметров на примере дуба черешчатого, произрастающего в лесостепной зоне европейской части Российской Федерации, было показано, что популяция не является абсолютно однородной структурой: существует 3 экотипа, различающихся по структуре инвертированных повторов и полиморфизму белкового спектра ферментов. Помимо этого, на основе значений коэффициентов  $D_N$  была построена дендрограмма и составлена карта границ исследованных климатипов, отражающая популяционную структуру дуба черешчатого в лесостепи европейской части Российской Федерации и ареал распространения экотипов.

**Научно-практическая значимость работы** заключается в том, что полученные данные изменения спектра биохимических маркеров представляют особый научный интерес, поскольку дают возможность проводить мониторинг популяционной структуры древесных растений, выявлять происходящие при этом эволюционные процессы, их направленность и значимость для вида.

Данные, полученные Карпеченко Н. А., в дальнейшем возможно использовать для диагностики и мониторинга популяционной структуры других видов древесных растений.

**Глава первая** диссертационной работы, включающая обзор литературы, подразделяется на пять разделов, описывающих основные характеристики дуба черешчатого, его биологическое разнообразие, а также биохимические методы, используемые в исследовании древесных растений, современное состояние вопроса популяционной структуры и данные по этому вопросу, полученные зарубежными исследователями.

**Вторая глава** диссертационной работы включает два пункта: цель и задачи исследования, а также объекты и методы исследования. Автором указывается, что объектами научных исследований явились древесные растения дуба черешчатого (*Quercus robur L.*). Выявление полиморфизма биохимических маркеров у дуба черешчатого и дивергенции популяций в естественном ареале осуществлялось путем анализа потомств дуба черешчатого в географических культурах, расположенных на территории России, заложенных А. М. Шутяевым в 1973 г, а также в лесных массивах естественного происхождения разных регионов. Для биохимико-генетического анализа отбирались образцы дуба черешчатого из лесостепи европейской части Российской Федерации.

Помимо этого, в данной главе дано подробное описание использованных методик, параметров этапов исследования.

В **третьей главе** настоящей работы Карпеченко Н. А. описывает полученные результаты и их обсуждение. Здесь приведены данные по полиморфизму белкового спектра ферментов, приведены электрофореграммы и дано подробное описание полученных результатов.

В данной главе так же приведены результаты ДНК-анализа в популяции дуба черешчатого разных мест происхождения. Кроме того, автором работы приведены данные по изучению полиморфизма ДНК-маркеров у дуба колоновидного – внутривидовой формы дуба черешчатого. Автор отмечает, что один из RAPD- праймеров Oligo 5 является индикатором колоновидной формы кроны в семенном потомстве от дуба черешчатого с колоновидной формой кроны г. Воронежа. Это является весьма значимым показателем, поскольку, как

известно, при семенном способе размножения у потомства пирамидального дуба идет расщепление по форме кроны.

Достаточно подробно в работе описаны результаты анализа изменения биохимических показателей популяции дуба черешчатого в лесостепи европейской части Российской Федерации, приведены данные определенной структуры популяции дуба черешчатого.

Полученные Карпеченко Н. А. выводы по проведенной научной работе соответствуют поставленным цели и задачам.

Диссертационная работа Карпеченко Н. А. изложена на 137 страницах машинописного текста и состоит из следующих разделов: «Введение», «Обзор литературы», «Объекты и методы исследования», «Результаты и обсуждение», «Заключение», «Выводы», «Список использованных источников». Работа содержит 29 рисунков и 9 таблиц, список литературы включает 181 источник, в т.ч. 79 – на иностранных языках. Помимо этого диссертационная работа также включает «Приложение», содержащее уточняющий материал результатов исследования, использованных методик и дополнительного иллюстративного материала полученных данных.

По результатам диссертационной работы автором опубликовано 7 работ, из них 3 – в научных изданиях, включенных в Перечень ВАК, 1 – в сборниках научных трудов и материалах научных конференций и 3 – в тезисах докладов.

В процессе выполнения работы Карпеченко Н. А. принял участие в работе 5 научных конференций, по результатам которых работа была отмечена призовыми местами и почетными грамотами, что свидетельствует о высоком уровне и значимости полученных результатов.

Диссертация написана грамотным языком, снабжена большим количеством информативных иллюстраций, снабжена целесообразными таблицами.

**При детальном изучении диссертационной работы Карпеченко Н. А. были выявлены отдельные недостатки и замечания:**

1) Использованный диссертантом RAPD-метод анализа структуры ДНК не зарекомендовал себя как надежный. Для воспроизведения полученных результатов в других лабораториях необходимо строгое соблюдение параметров проведения ПЦР. Помимо этого большую погрешность в результаты анализа могут внести различные контаминирующие агенты (ДНК). Для получения более надежных результатов в настоящее время при молекулярно-генетических исследованиях древесных растений особую значимость приобрели методы, основанные на изучении локусов хлДНК [Каган Д.И.]. Это обусловлено некоторыми особенностями хлоропластного генома лиственных растений: 1) наследование осуществляется только по материнской линии, что значительно сокращает величину генного потока для данного типа маркеров и придает полиморфизму хлДНК большую структурированность по сравнению с ядерным полиморфизмом; 2) хлоропластная ДНК характеризуется отсутствием рекомбинации генов и, следовательно, низкой скоростью изменений, возникающих в процессе эволюции. Возможно, для создания более полной картины структуры популяции дуба черешчатого на территории лесостепи европейской части Российской Федерации, диссертанту можно было провести микросателлитный анализ хлДНК.

2) Приведенная Карпеченко Н.А. карта границ популяционной структуры дуба черешчатого лесостепи европейской части РФ составлена на основе результатов, полученных по 14 исследованным областям, в то время как согласно приказу Рослесхоза от 09.03.2011 г. № 61 «Об утверждении Перечня лесорастительных зон Российской Федерации и Перечня лесных районов Российской Федерации» в лесостепной район европейской части РФ входят 18 областей. В связи с этим есть пожелание Карпеченко Н. А. в будущем продолжить эту работу и провести более детальное исследование выбранной территории. Возможно, это приведет к корректировке границ экотипов и позволит построить более точную карту ареалов.


Стоит отметить, что указанные выше замечания не снижают достоинств настоящей работы и не отражаются на хорошем впечатлении о ее уровне, научной и практической значимости.

Работа представляет собой законченное оригинальное научное исследование. Так же, несомненно, стоит отметить большой объем проанализированного Карпеченко Н. А. материала.

Содержание автореферата соответствует содержанию диссертации.

Считаю, что диссертация Карпеченко Н. А. соответствует требованиям ВАК РФ, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.04 – биохимия.

18 июня 2014 г.



Северин Ф. Ф.

Доктор биологических наук,  
заведующий лабораторией  
молекулярной биологии дрожжей,  
НИИ ФХБ имени А.Н. Белозерского  
МГУ имени М.В. Ломоносова  
Почтовый адрес: 119992, Москва, Ленинские горы, дом 1, стр 40  
раб. тел.: 8(495)9393107  
E-mail для связи: severin@belozersky.msu.ru

Подпись Северина Ф. Ф. заверяю:



В.П. Скулачев,  
Директор НИИ ФХБ имени А.Н. Белозерского  
МГУ имени М.В. Ломоносова