

ОТЗЫВ

официального оппонента доктора биологических наук Давояна Эдварда Румиковича на диссертационную работу Семилет Татьяны Вячеславовны на тему **«Генетический анализ и таксономическая идентификация образцов карбонизированных зерновок, найденных на территории археологического памятника в Псковской области (XII век)»**, представленной к защите в диссертационный совет Д 24.1.235.01, созданный на базе ФИЦ «Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова» (ВИР), на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7. – Генетика (биологические науки)

Палеогеномика - наука, направленная на изучение древних геномов, стала важной областью исследований на стыке эволюционной биологии, археологии и молекулярной генетики. Применяя специальные методы выделения и последующего анализа ДНК из древних биологических останков (древняя ДНК или дДНК) исследователи могут проследить генетическую историю древних популяций, обнаружить вымершие виды и получить представление о прошлых экосистемах. Данные методы оказались высокоэффективными и в отношении растений, расширяя понимание их эволюции, доместикации и распространения. Кроме того, сравнение древних и современных видов растений позволяет расширить наше понимание относительно этапов развития цивилизации и взаимодействия человека с культурными растениями, изучить и возродить утраченное биоразнообразие, определить новые генетические признаки, необходимые для устойчивости сельскохозяйственных культур к неблагоприятным воздействиям внешней среды. Важно отметить, что ранее исследования, направленные на изучение древней ДНК образцов растений, найденных на территории России, не проводились, а идентификация растительных артефактов осуществлялась только по морфологическим признакам. Вместе с тем археологические находки на территории нашей страны представляют интерес для комплексных исследований, включая методы палеогенетики. Так, большое количество растительных остатков было обнаружено археологами в 2019 году на территории городища Усвяты в Псковской области.

В этой связи исследование Семилет Т.В., целью которого являлось таксономическая идентификация образцов карбонизированных зерновок, найденных на территории археологического памятника в Псковской области (XII век) на основе анализа макроскопических признаков зерновок и современных палеогенетических подходов, не вызывает сомнений в его актуальности.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации, их достоверность и новизна

Анализ основных положений и выводов диссертационной работы Т.В. Семилет свидетельствует о её теоретической обоснованности и практической значимости. Достоверность результатов обеспечена проведением

исследований с использованием классических и современных методик, согласно правилам и требованиям работы с древней ДНК. Полученные результаты подтверждаются их воспроизводимостью в ходе эксперимента. Интерпретация данных, научные положения и сформулированные выводы подкреплены иллюстративным материалом, таблицами и рисунками. Результаты исследования опубликованы в международных и отечественных изданиях, рекомендованных высшей аттестационной комиссией РФ (ВАК).

К научной новизне результатов диссертации следует отнести впервые в России проведенное комплексное палеогенетическое исследование карбонизированных зерновок, найденных на территории археологического памятника в Псковской области (XII век). Изучено генетическое сходство современных и древний ячменей из раскопа археологического памятника. На основе анализа аллельного состояния «генов доместикации» (*Nud*, *Vrs1*, *Btr1*, *Btr2*) карбонизированных зерновок реконструирована морфология колоса ископаемых остатков ячменя. Показана возможность применения молекулярно-генетических методов для идентификации карбонизированных остатков ячменя. Разработан ПЦР-тест, специфичный для рода *Hordeum*.

Значимость полученных результатов для науки и практики

Результаты проведенного комплексного палеогенетического исследования указывают на сходство скопления зерен найденного при раскопках Усвятского городища XII века с *Hordeum spontaneum* С. Koch по морфологии колоса; имеют теоретическое значение для выявления деталей традиций ведения хозяйства и логистических связей; для уточнения таксономических и биологических особенностей ячменей из археологических раскопок; для развития междисциплинарных исследований на стыке археологии и генетики культурных растений в целом.

Разработанный в ходе исследования протокол получения препаратов древней ДНК зерновых культур, метод ПЦР-тестирования для установления таксономической принадлежности видов рода *Hordeum*, а также способ сравнительной оценки генотипов древних и современных образцов ячменя имеют практическое значение для дальнейшего развития работ по палеогенетике культурных растений в России и в мире.

Полученные в ходе работы результаты используются в образовательных программах магистратуры в Университете «Сириус» и на курсах дополнительных образовательных программ ВОР.

Апробация работы. Основные положения диссертации представлены на международных конференциях: XXXV научная конференция «Новгород и Новгородская земля. История и археология», посвященной 80-летию А.С. Хорошева (г. Великий Новгород, 26-29 января, 2021 г.); V International Conference «Modern problems of genetics, radiobiology and evolution (2021)» dedicated to N.W. Timofeeff-Ressovsky and his scientific school (Армения, 5-9 октября, 2021); Plantgen (г. Казань, 10-15 июня, 2023 г.); научный семинар

«Палеогенетика» (г. Санкт-Петербург, 30 ноября, 2023 г.); заседание Русского ботанического общества (г. Санкт-Петербург, 25 апреля, 2024 г.); IV Международный биотехнологический форум BioAsia Altai2024 (г. Барнаул, 23-28 сентября, 2024 г.); ВИР-130 Генетические ресурсы растений (г. Санкт-Петербург, 05-09 ноября, 2024 г.); Всероссийская научная конференция Колчинские чтения - II. Археобиология (г. Москва, 12-13 марта, 2025 г.)

Структура и объем диссертационной работы

Диссертация состоит из введения, основной части, содержащей 10 таблиц и 35 иллюстраций, заключения, списка литературы (включает 195 наименований из них 165 на иностранном языке) и 4 приложений. Общий объем диссертации – 135 страниц. Результаты исследования опубликованы в четырех статьях в журналах, рекомендованных ВАК и входящих в международные системы цитирования Scopus и Web of Science.

Во введении отражена актуальность выбранной темы; сформулированы цель и задачи исследований. Определена новизна, теоретическая и практическая значимость работы. Изложены основные положения диссертации, выносимые на защиту.

В первой главе приведены основные видоспецифические признаки зерновых культур, выявляемые при морфологическом анализе зерновок. Обобщаются мировые научные результаты, полученные при изучении древней ДНК живых организмов и проведении палеогенетических исследований зерновых культур. Представлена информация об основных этапах возникновения и распространения зерновых культур. Дается описание структуры и функций генов domestikации ячменя, генов, определяющих архитектуру колоса и адаптивный потенциал растений. Рассмотрены гены фотопериодизма и биосинтеза флавоноидных соединений. Подробно изложены возможности использования кодирующих последовательностей для выявления SNP и изучения генетического сходства живых организмов. Описаны особенности работы с древней ДНК и условия организации лабораторных помещений

Во второй главе дана характеристика объекту и материалам исследования. Представлены морфологические и молекулярно-генетические методы, используемые в работе. Морфологический анализ основывался на изучении внешней структуры зерновок, их формы, цвета, поверхности. Молекулярно-генетические анализы древних зерновок ячменя проведены в лаборатории постгеномных исследований ВИР и включали выделение древней ДНК, амплификацию ДНК, электрофорез и секвенирование по методу Сэнгера.

В третьей главе представлены основные результаты исследования. По морфологическим признакам было определено, что остатки растений принадлежат к родам *Hordeum*, *Avena*, *Triticum* и *Secale*. При этом большую часть из них (около 85%) составляли зерновки ячменя.

Разработанная система ПЦР-тестирования позволила определить таксономическую принадлежность растительного материала к роду *Hordeum*.

С её применением подтверждена специфичность амплификации у современных и древних образцов ячменя.

Изучен полиморфизм ДНК на основе ресеквенирования фрагментов ключевых структурных генов: биосинтеза флавоноидных соединений (*DFR*, *F3h* и *Chi*); доместикиции (*Nud*, *Btr1*, *Btr2*, *Vrs1*); определяющих реакцию растений на длину светового дня (*Elf3*). Показано, что ген-специфичные последовательности ампликонов этих генов являются информативными источниками SNP и могут быть применены для сравнительной оценки генетического сходства древних и современных образцов. При этом наиболее информативными являются ампликоны генов *Elf3* и *Chi*.

На основе секвенирования участков генов, отвечающих за голозерность *Nud*, ломкость колоса *Btr1*, *Btr2*, рядность колоса *Vrs1*, и последующего анализа последовательностей у образцов коллекции ВИР и древних образцов ячменя, установлено, что найденные в раскопках зерновки принадлежали растениям с двурядным ломким колосом и пленчатым зерном. Полученные данные архитектоники колоса определяют схожесть древних образцов с *H. spontaneum*.

В четвертой главе приводится обсуждение результатов диссертации. Подчеркивается, что растительные артефакты часто имеют значительные повреждения и к ним невозможно применить методы идентификации на основе морфологических признаков. В этой связи в исследования всё чаще привлекаются современные методы палеогенетики. Отмечается, что восстановление ДНК из археоботанических останков представляет собой сложную задачу из-за высокой фрагментированности, низкого числа копий и наличия ингибиторов, затрудняющих дальнейшие анализы. Важно отметить, что автором подобран оптимальный протокол для экстракции и обогащения ДНК, который позволил корректно провести все эксперименты.

Полученные результаты подтверждают, что изучение дДНК может способствовать оценке эволюционной близости растительных артефактов и современных форм. Изменения, выявленные у эволюционно значимых полиморфных локусов, могут стать ключом к пониманию механизмов адаптации генотипов к неблагоприятным условиям окружающей среды, происходивших в древности. Установлено, что именно нейтральные полиморфные локусы могут использоваться для сравнительного анализа и уточнения происхождения мало изученного генетического материала. Морфологические и молекулярно-генетические исследования образцов ячменя древних зерновок позволили определить их генетическое родство с современными формами. Сделаны выводы о том, что современные палеогенетические методы исследования дают возможность реконструировать внешний облик растения.

Сопоставление материалов диссертации и автореферата с выводами, представленными в заключении, показало, что в них отражены результаты по поставленным задачам исследований. Выводы дают обоснованные ответы на положения, вынесенные соискателем на защиту. Достоверность и обоснованность выводов и рекомендаций доказаны и не вызывают сомнений.

Замечания по диссертационной работе

Отмечая достоинства диссертационной работы, её практическую значимость, актуальность и новизну следует указать на некоторые замечания.

1. В главе 1 «Обзор литературы» на странице 45 второй абзац при описании механизмов генетической регуляции ответа растений на длину светового периода используется термин «раннее зацветание». Считаем, что термин "раннее цветение" является более точным и предпочтительным.
2. Для краткости изложения главы 2 «Материалы и методы исследования» таблицу 3, в которой представлены используемые в работе образцы рода *Hordeum* из коллекции ВИР, следовало бы разместить в приложении.
3. На странице 71 подглавы 3.3.1. «Исследование локуса ранней зрелости древнего и современных образцов ячменя коллекции ВИР», сказано, что в результате анализа гена *Elf3* выявлено три SNP в положениях 2297 п.н., 2345 п.н., 3502 п.н., и аналогичные нуклеотидные замены найдены у белорусского сорта Криничный, однако на странице 90 в обсуждении результатов указывается сходство с данным сортом только по двум аллельным вариантам в локусах *Elf3*-2297 и *Elf3*-2345

Отмеченные замечания являются незначительными и не затрагивают сути проведённого исследования.

Заключение

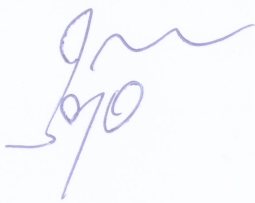
Автореферат соответствует основному содержанию диссертационной работы. В нем весьма обстоятельно представлены результаты экспериментов, их анализ и обсуждение, приведены выводы и рекомендации, список опубликованных автором научных работ по теме диссертации.

Диссертация Татьяны Вячеславовны Семилет на тему «Генетический анализ и таксономическая идентификация образцов карбонизированных зерновок, найденных на территории археологического памятника в Псковской области (XII век)» является законченной научно-квалифицированной работой, результаты которой имеют важное теоретическое и практическое значение для развития в нашей стране и в мире исследований по палеогенетике культурных растений. Работа выполнена на высоком научном и методологическом уровне. К достоинствам работы следует отнести логическую последовательность и грамотность изложения, актуальность выбранной темы и используемые современные молекулярно-генетические подходы. Публикации и автореферат отражают основное содержание диссертации.

Настоящая диссертация по научной и прикладной значимости полученных результатов по своему содержанию и оформлению отвечает критериям п.9-11,13,14 «Положения о порядке присуждения ученых

степеней» Постановление правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 (ред. от 01.10.2018, с изменениями от 26.05.2020 г., 27.08.2021 г.), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор, Семилет Татьяна Вячеславовна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7. – Генетика (биологические науки).

Официальный оппонент,
доктор биологических наук,
главный научный сотрудник отдела биотехнологии,
федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Национальный центр зерна им. П.П. Лукьяненко» (ФГБНУ "НЦЗ им.
Лукьяненко)
(специальность 4.1.2)



Э. Р. Давоян

Почтовый адрес: 350012, Россия,
Краснодарский край, г.Краснодар,
Центральная Усадьба КНИИСХ,
тел.:(861)275-78-45
e-mail: davayan@rambler.ru

Подпись доктора биологических наук,
главного научного сотрудника,
заведующего отделом биотехнологии
Эдварда Румиковича Давояна заверяю:

Ученый секретарь
ФГБНУ "НЦЗ им. Лукьяненко

05.11.2025



Н.С. Фирсова