

ОТЗЫВ официального оппонента

на диссертацию Семилет Татьяны Вячеславовны

«Генетический анализ и таксономическая идентификация образцов карбонизированных зерновок, найденных на территории археологического памятника в Псковской области (XII век)» на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности

1.5.7. – Генетика

Актуальность работы Согласно сведениям, приводимым в самом начале рецензируемой диссертации, археоботаника в будущем году может отметить 200-летие. Однако почти все эти годы исследователям приходилось довольствоваться только внешним видом часто плохо сохранившихся остатков растений в оценке таксономической принадлежности образцов. И только с внедрением молекулярных методов и их новейших технологий оказывается возможным точно определять, какие виды и даже разновидности выращивали люди, жившие много веков назад. В диссертации Т.В. Семилет впервые исследован такими методами археологический материал с территории нашей страны и сравнен с разнообразными современными образцами ячменя из коллекции ВИР. Полученные результаты позволяют полнее и глубже понять процессы domestikации культурных растений.

Новизна Впервые проведено палеогенетическое исследование образцов ячменя из археологического памятника с территории России (возраст около девяти веков). Разработаны адекватные подходы к изучению этого сложного материала и получены результаты, позволяющие установить его таксономическую принадлежность и некоторые важные признаки.

Цель и задачи Изложены четко и последовательно.

Структура диссертации

Диссертационная работа изложена на 135 страницах, (включая Приложения), содержит 10 таблиц, иллюстрирована 35 рисунками и состоит из введения, списка сокращений, 4 глав (Обзор литературы, Материал и методы исследований, Результаты исследований, Обсуждение результатов), заключения, выводов, списка использованной литературы,

включающего 195 источников, в том числе 165 на иностранном языке и четырех Приложений.

Глава 1 Обзор литературы Раздел главы, посвященный объекту исследования и палеоботаническим работам охватывает широкий круг объектов, не только зерновых, но и многих других, однодольных и двудольных, особенно культивируемых, но это интересно, и я считаю достоинством работы. Но разделы, посвященные генам, ассоциированным с морфологией колоса и биосинтезом флавоноидных пигментов, можно было бы сократить. Дано много подробной информации о строении генов, их локализации на хромосомах, продуктах экспрессии, и другой. Там, где идет речь о генах, кодирующих ферменты, связанные с синтезом флавоноидов, дана таблица со сведениями о 14 генах, из которых в работе использовались только три. При этом в тексте перечислены названия ферментов, а в таблице даны только обозначения генов. Но гены использовались в работе в основном как маркеры, поэтому некоторая часть этой информации представляется излишней.

Глава 2 Материалы и методы.

Общие сведения об объекте, культурном ячмене, даны в разделе Материалы, хотя логичнее было бы их поместить в Обзор литературы.

Раздел Методы занимает менее 6 страниц, что немного для экспериментальной работы, но при дальнейшем чтении становится ясно, что для ряда методик в этом разделе описаны принципы, а многие детали даны в главах Результаты, Обсуждение и даже в Приложении. Возможно, это связано с тем, что модификация методик и подбор условий и локусов составляют содержание работы, но мне кажется, если бы всё это было описано в Методах, было бы более цельное впечатление, а новое можно было оговорить.

Особое сожаление вызвало то, что в разделе Методы не сказано о том, как измельчали карбонизированные зерновки, какие брали навески (про современные образцы такая информация дана). Сказано, что процесс выделения ДНК осуществлялся согласно протоколу производителя, и всё. Только в главе Обсуждение упомянуто, что были испытаны 4 набора для выделения и выбран дававший наилучшие результаты. При выделении ДНК из такого необычного материала важны мельчайшие детали, и их стоило подробно описать в одном месте, чтобы другие исследователи могли воспользоваться полученными наработками.

Удивляет, что в Методах нет информации, какие же гены из упоминавшихся в Обзоре литературы исследовались в диссертации.

В главе подробно описана организация помещения, этому же уделено много внимания в Приложении 2. Это действительно очень важно при работах с древней ДНК.

Глава 3 Результаты. Сначала был проведен морфологический анализ более 34 000 зерновок и отсортированы предположительно ячмени. Далее, с помощью анализа *in silico* было сконструировано 48 пар праймеров для ПЦР и секвенирования по Сэнгеру коротких фрагментов кодирующих участков 8 генов ячменя. Был найден участок гена *Elf3*, регулирующего время цветения, специфичный для рода *Hordeum*. Соответствующая пара праймеров к этому участку была выбрана и использована в качестве таксон-специфичного теста для ДНК, выделенных из карбонизированных зерновок. Она была названа «HORDELF», и было подтверждено, что не только выбранные по морфологии, но и некоторые разрушенные зерновки являются ячменем.

У двух генов (у генов *Elf3* и *Chi*) были выявлены участки с большим количеством SNP и проведено их сравнение у современных и древних образцов с целью определения генетического сходства.

Сравнительный анализ участков четырех генов, связанных с морфологическими признаками (*Nud*, *Btr1*, *Btr2* и *Vrs1*) у современных и древних образцов позволил получить ценные сведения о строении колоса у древнего ячменя и реконструировать важные особенности его морфологии – двурядный ломкий колос с пленчатыми зерновками, похожий на колос у современного *Hordeum spontaneum*.

Описанные в главе результаты подтверждены большим количеством иллюстраций – 6 таблицами и 20 рисунками, с электрофореграммами и секвенограммами. Можно сказать, что в этой главе проведено и основное обсуждение конкретных результатов.

В главе 4 **Обсуждение** отмечены главные достижения, подведены основные итоги работы, оценено их значение, перспективность использования при дальнейшем изучении палеоботанических артефактов. Высказана гипотеза о местах происхождения изученного материала.

Выводы обоснованы, сформулированы четко и лаконично. Поставленные цели и задачи выполнены.

Замечания

Помимо выше отмеченных, есть следующие замечания и вопросы:

1. Стр.21 «Получаемые фрагменты ДНК имеют определенную возрастную категорию: 1) древняя ДНК (ancient DNA, дДНК) от нескольких веков до 1 млн. лет; 2) старая ДНК (Old DNA) –генетический материал, полученный из музейных экспонатов возрастом несколько сотен лет; 3) геологически древняя ДНК – допотопная ДНК, полученная из организмов, зафиксированных в янтаре (Пилипенко и др., 2010).»

Здесь верно написано только про древнюю (ancient) ДНК. ДНК образцов, зафиксированных в янтаре, к древней и относят. По принятому в науке делению генетический материал образцов из коллекций, в том числе музейных, называют исторической ДНК (hDNA). Старой, тем более допотопной, никакую ДНК не называют, и в статье археологов Пилипенко и Молодина, со ссылкой на которую это написано в диссертации, таких слов нет. Точность терминологии очень важна в научной работе.

2. Стр. 46 «Линней во второй половине XVIII века заложил основы научной бинарной систематики растений». Бинарной систематики нет, Линней ввел бинарную номенклатуру.

3. В диссертации в нескольких местах указано, что брали 80 проб (или зерновок, или образцов по 1-3 зерновок,) древнего ячменя, но отдельные образцы почти нигде не фигурируют, и ни разу не отмечено, что были обнаружены какие-то различия между образцами (или зерновками). Нигде не указано, из всех ли взятых образцов удалось амплифицировать ДНК, была ли она одинакового качества. В подписях ко всем иллюстрациям указана просто «древняя ДНК» (и максимум 6 образцов на фореграмме). Не ясно, в чем был смысл разделения на образцы и отдельных выделений ДНК (тем более одновременно из 2-3 зерновок), почему было не взять сразу большую навеску, когда уже был подобран оптимальный метод выделения?

Высказанные замечания по большей части касаются представления и структурирования работы, а не её содержания и сути. Но диссертация – это квалификационная работа, хорошую работу желательно уметь хорошо представить.

В целом в диссертации получено много новых ценных данных, что потребовало большой работы и экспериментального мастерства. Результаты представляются достоверными, выводы убедительными. Диссертация написана хорошим языком. Учитывая актуальность, новизну, объем полученных экспериментальных данных, их теоретическую значимость и перспективность использования в дальнейших работах, диссертация, несмотря на сделанные замечания, несомненно заслуживает высокой оценки. Основное содержание диссертации полно отражено в опубликованных работах в журналах списка ВАК, материал неоднократно доложен на российских и международных конференциях, автореферат соответствует содержанию диссертации.

Таким образом, представленная к защите кандидатская диссертация Т.В.Семилет «Генетический анализ и таксономическая идентификация образцов карбонизированных зерновок, найденных на территории археологического памятника в Псковской области (XII век)» соответствует критериям, установленным в пунктах 9-11 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года №842, (с изменениями от 01.10.2018 г.) предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а её автор, Т.В.Семилет, заслуживает присуждения ей ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7 – генетика.

Официальный оппонент:

Шнеер Виктория Семеновна,

доктор биологических наук

по специальности 1.5.9. - Ботаника.

ФГБУН «Ботанический институт имени В.Л. Комарова

Российской академии наук»,

лаборатория биосистематики и цитологии

ведущий научный сотрудник

подпись

04.11.2025

Дата подписания

197022, г. Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 2,

Ботанический институт имени В.Л. Комарова Российской академии наук (БИН РАН),

лаборатория биосистематики и цитологии

Тел.: +7(812)3725433; e-mail: shneyer@bin.ran

Подпись руки В.С. Шнеер
ЗАВЕРЯЮ
ОТДЕЛ КАДРОВ Ведущий
Ботанического института Следственный
им. В.Л. Комарова
Российской академии наук