

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

ведущего научного сотрудника, доктора биологических наук

Агафонова Александра Викторовича

на диссертационную работу Леоновой Ирины Николаевны на тему

“ГЕНЕТИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ УСТОЙЧИВОСТИ К ГРИБНЫМ БОЛЕЗНЯМ У МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ С ИНТРОГРЕССИЯМИ ОТ *TRITICUM TIMOPHEEVII* ZHUK.”, выполненную на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.02.07 - генетика

Актуальность темы. Важным условием высокой продуктивности мягкой пшеницы *T. aestivum* L. является устойчивость к биотическим и абиотическим стрессорам. В отдельные годы потери урожая из-за грибных заболеваний достигает 50% и более. Именно поэтому актуальность тематики, связанной с интрогрессией генов устойчивости к грибным болезням в геном мягкой пшеницы через половую гибридизацию, несомненна. Такой путь исключает все опасения, связанные с генно-инженерными проектами, но в тоже время достаточно эффективен благодаря большому числу диких сородичей пшеницы, адаптированных ко многим биотическим и абиотическим факторам. Одним из таких естественных источников является вид *Triticum timopheevii*, который обладает набором хозяйственно ценных признаков, таких как комплексный иммунитет к болезням и ряду вредителей, холодостойкость и высокое содержание белка в зерне. Однако препятствием к использованию ценных признаков этого вида является низкая репродуктивная совместимость и невысокая жизнеспособность поколений гибридов с *T. aestivum*.

В диссертационной работе предложена технологическая схема изучения и практического использования генетического материала *T. timopheevii*, содержащего гены, ответственные за устойчивость к грибным болезням, что определило **научную новизну** данной работы. В качестве экспериментальных моделей предложено использовать интрогрессивные линии, содержащие различный набор фрагментов, перенесенных из генома *T. timopheevii*.

В работе впервые проведено изучение генетического разнообразия линий мягкой пшеницы по устойчивости к грибным патогенам в различных экологических

условиях. На основании изучения коллекций линий, полученных от разных представителей *T. timopheevii*, были выявлены новые гены, определяющие резистентность к возбудителям бурой ржавчины и мучнистой росы.

Детально изучен генетический контроль устойчивости к бурой ржавчине. Показано, что три генетических локуса, перенесенные в мягкую пшеницу от *Triticum timopheevii*, вносят различный вклад в формирование этого признака.

Проведены исследования по оценке влияния чужеродных транслокаций на другие хозяйственно важные признаки мягкой пшеницы, такие как продолжительность вегетационного периода и урожайность. Впервые было показано отсутствие негативного влияния фрагментов *T. timopheevii* с главными и минорными локусами на признаки, определяющие продуктивность мягкой пшеницы.

Здесь необходимо отметить, что в рамках первичной рецензии мной были сделан ряд замечаний и рекомендаций в отношении представленной работы. Практически все отмеченные недостатки были устранены.

Теоретическая и практическая значимость работы.

Диссертационное исследование направлено на понимание механизмов интрогрессии и взаимодействия чужеродного генетического материала в геноме мягкой пшеницы. Схемы создания резистентных образцов мягкой пшеницы с привлечением современных технологий маркер-контролируемого отбора, предложенные в работе, представляют интерес для специалистов в области практической селекции. Потенциал интрогрессивных линий с комплексной устойчивостью к грибным патогенам рекомендуется использовать для расширения генетического разнообразия мягкой пшеницы по генам иммунитета к грибным болезням. Созданы электронные базы данных с информацией об уровне устойчивости образцов, хромосомной локализации чужеродных фрагментов и аллельном составе микросателлитных локусов.

Общая характеристика работы.

Диссертационная работа оформлена в традиционной композиции и в соответствии с требованиями ВАК, изложена на 343 страницах и включает следующие разделы:

Введение (11 страниц), Обзор литературы (62 стр.), Материалы и методы (11 стр.), Результаты (85 стр.), Обсуждение результатов (38 стр.), Заключение (6 стр.), Выводы

(8 пунктов), Список литературы (состоит из 641 источника, из них 82 опубликованы в отечественных журналах), Приложение (54 стр., включает 8 таблиц и 11 рисунков).

Во **введении** автором описана проблематика исследования, обозначена ее актуальность и степень разработанности, определены научная новизна, теоретическая и практическая значимость полученных результатов, представлены положения, выносимые на защиту. Цель и задачи исследования четко сформулированы.

В разделе **Литературный обзор** приводится анализ литературных данных по проблемам использования пшениц, входящих в группу Timopheevi, для переноса генов иммунитета в геном мягкой пшеницы и создания генетически устойчивых форм. Проведен обзор применения молекулярных маркеров для анализа генома пшеницы и ее гибридов и включения их в технологические схемы для создания новых селекционных форм пшеницы. Обозначены проблемы, требующие проведения дальнейших исследований.

В разделе **Материалы и методы** автор приводит сведения о растительном материале, использованном в диссертационной работе, описаны методы генотипирования образцов с помощью молекулярных маркеров. Представлены фитопатологические методики тестирования растительного материала на устойчивость к грибным патогенам на разных стадиях развития (проростки и стадия взрослых растений). Дано краткое описание программ, использованных для картирования генов и локусов количественных признаков. Все подразделы главы демонстрируют широкий набор методик, примененных автором для решения поставленных задач.

Результаты исследований представлены в Главе 3, которая состоит из четырех подразделов. Для каждого подраздела представлена постановка задачи и сделаны промежуточные заключения по полученным результатам.

В **подразделе 3.1.** проведена оценка коллекции интрогрессивных линий, полученных на основе разных сортов мягкой пшеницы, по аллельному составу и полиморфизму микросателлитных локусов, индексам генетического разнообразия и устойчивости к грибным патогенам в различных условиях внешней среды. Полученные результаты позволили сгруппировать хромосомы исследованных линий по частоте встречаемости интрогрессированных фрагментов. Отмечается влияние

генотипической среды сорта-реципиента на число и хромосомную локализацию чужеродного хроматина. Оценка хромосомного состава линий позволила определить образцы для создания картирующих популяций и хромосомной локализации генов устойчивости.

Подраздел 3.2 включает наиболее важные результаты, полученные в работе. Автором проведено картирование генов и QTLs, детерминирующих устойчивость мягкой пшеницы к бурой ржавчине и мучнистой росе. На основе линий, полученных от скрещивания мягкой пшеницы с образцами *T. timopheevii* разного происхождения и содержащих различное число фрагментов чужеродного хроматина были картированы гены и локусы *LrTt1*, *LrTt2*, *Q_{Lr.icg-2B}*, *Q_{Lr.icg-1A}*, которые оказались не идентичными уже известным генам, также происходящим от вида *T. timopheevii*.

Подраздел 3.3. включает результаты оценки линий мягкой пшеницы с чужеродным генетическим материалом по другим, не менее важным признакам, определяющим вегетационный период и продуктивность этой культуры. Автором приведены результаты многолетних исследований оценки интрогрессивных линий по комплексу хозяйственно важных признаков и проведено картирование QTLs, проявляющих ассоциацию с данными признаками. При анализе количественных характеристик автор показал значительные межгрупповые различия для линий, полученных от разных сортов мягкой пшеницы. Отмечено снижение продуктивности колоса для линий, полученных на основе сортов мягкой пшеницы Целинная 20 и Новосибирская 67, по сравнению с сортами Саратовская 29, Скала и Иртышанка 10, что отражает влияние генотипической среды сорта-реципиента на проявление хозяйственно важных признаков. На основании полученных результатов было высказано предположение о возможности использования интрогрессивных линий в качестве источников генов резистентности.

В подразделе 3.4. приведены схемы создания линий-доноров генов устойчивости и показана эффективность использования молекулярных маркеров для контроля форм мягкой пшеницы с генетической устойчивостью. Опыт использования молекулярных маркеров для отбора целевых генов и принципы создания линий-доноров с привлечением подходов маркер-контролируемого отбора легли в основу четырех патентов.

В разделе **Обсуждение** проводится анализ полученных результатов и их сопоставление с литературными данными.

В разделе **Заключение** кратко суммируются полученные результаты и подводятся общие итоги проведенной работы.

Раздел **Выводы**. По своему содержанию выводы, сделанные в работе, обоснованы и соответствуют поставленным задачам.

Раздел **Приложение** содержит подробные таблицы данных по картированию генов устойчивости к болезням, длинам продуктов ПЦР для SSR локусов, данные по оценке хозяйственно важных признаков у сортов и линий мягкой пшеницы, использованных для выполнения работы. Информация позволяет оценить степень достоверности результатов, непосредственно представленных в разделе **Результаты**.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций.

Диссертационная работа Леоновой Ирины Николаевны выполнена на очень высоком уровне, как по постановке проблемы и методическом исполнении, так и по глубине обсуждения полученных результатов. Положения, сформулированные в диссертации, базируются на большом объеме экспериментов, выполненных с помощью классических и современных методов анализа генома растений. Методы математической обработки результатов разнообразны и адекватны поставленным задачам исследования.

Автореферат диссертации оформлен по всем правилам и отражает содержание и основные положения представленной работы. Приложен обширный список апробаций и публикаций по материалам диссертации. По результатам диссертации опубликована 51 печатная работа, из них 24 статьи опубликованы в российских и международных изданиях (21 статья из списка ВАК). Получено 4 патента на создание линий пшеницы с устойчивостью к грибным болезням.

В качестве мелких замечаний можно отметить недостаток рисунков, иллюстрирующих различия между интрогрессивными линиями по восприимчивости к грибным патогенам. В таблице 10 (раздел **Материалы и методы исследования**) данные по количеству осадков представлены, как среднее значение за год, хотя на самом деле это суммарное количество осадков в году. Вместе с тем, в тексте

диссертации практически отсутствуют грамматические ошибки и в основном касаются только расстановки запятых.

Заключение.

По моему заключению диссертационная работа Ирины Николаевны Леоновой на тему «Генетический контроль устойчивости к грибным болезням у мягкой пшеницы с интрогрессиями от *Triticum timopheevii* Zhuk.» является законченным научно-исследовательским трудом и содержит новые результаты в области генетики. Это глубокая и комплексная в методическом отношении работа основана на тщательных многолетних исследованиях. Достоверность результатов, полученных в работе, не вызывает сомнения, что подтверждается достаточным числом публикаций в международных и российских журналах.

По оригинальности, новизне, достоверности материалов и сформулированным выводам диссертационная работа полностью соответствует требованиям, предъявляемым к докторским диссертациям (пп. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней» за № 842 от 24 сентября 2013 г.), а ее автор заслуживает присуждения искомой степени доктора биологических наук по специальности 03.02.07 — генетика.

Доктор биологических наук,
ведущий научный сотрудник

Агафонов Александр Викторович

Лаборатория редких и исчезающих видов растений
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Центральный сибирский ботанический сад
Сибирского отделения Российской академии наук
634090 г. Новосибирск, ул. Золотодолинская, д. 101
Телефон: +7 (383) 339-97-91, 913-456-4839
e-mail: agalex@mail.ru

29.09.2015

