

Федеральное государственное учреждение  
«Федеральный исследовательский центр  
«Фундаментальные основы биотехнологии»  
Российской академии наук»

119071 Россия, Москва, Ленинский проспект, д. 33, стр. 2. Тел.: (495) 954-5283; факс: (495) 954-2732; www.fbras.ru; e-mail: info@fbras.ru

18.08.2015 № 12307-2771-648

□

На № 15345-6215 от 16.09.2015

□



«Утверждаю»

Директор ФИЦ Биотехнологии РАН

Спондент РАН В.О.Полов  
«16» сентября 2015 г.

#### ОТЗЫВ

ведущей организации Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук на диссертационную работу Леоновой Ирины Николаевны «Генетический контроль устойчивости к грибным болезням у мягкой пшеницы с интрогрессиями от *Triticum timopheevii* Zhuk.», представленной на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.02.07 – генетика.

**Актуальность темы диссертационной работы.** Диссертационная работа посвящена расширению генетического разнообразия мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) по генам устойчивости к биотическим факторам среды. Мягкая пшеница является одной из важных продовольственных зерновых культур в Российской Федерации. Урожайность данной культуры в значительной степени зависит от устойчивости возделываемых сортов к биотическим и абиотическим факторам внешней среды. Существенное влияние на продуктивность мягкой пшеницы и качества ее зерна оказывают грибные патогены, наиболее вредоносными из которых в различных регионах России являются болезни ржавчины, мучнистая роса, септориоз. Применение химических средств защиты растений приводит к нежелательным загрязнениям окружающей среды и, соответственно, к повышению стоимости продукции.

Создание сортов, обладающих генетической, или «хозяйской», устойчивостью к болезням, является наиболее экологически безопасным способом защиты от фитопатогенов. Такой подход позволяет минимизировать потери от болезней и

вредителей и создавать сорта с высокой адаптационной способностью к различным агроэкологическим условиям. Однако потенциал мягкой пшеницы по генам устойчивости к болезням в настоящее время практически исчерпан и генетического разнообразия самой мягкой пшеницы недостаточно для решения этой задачи. Расширение генетического разнообразия зерновых культур может быть достигнуто за счет использования генофонда диких и культурных сородичей, которые содержат значительный резерв эффективных генов устойчивости к болезням.

Трудности, возникающие при проведении отдаленной гибридизации современных сортов мягкой пшеницы с дикими и культурными сородичами, преодолеваются с помощью направленной интрогрессии участков генома, содержащих целевые локусы хозяйственно-полезных признаков, в том числе генов устойчивости к грибным патогенам. В настоящее время направленный отбор стал возможным в связи с разработкой различного типа ДНК-маркеров, позволяющих маркировать участки хромосом и отслеживать перенос локусов из генома в геном. Разработке подходов для направленной интрогрессии целевых локусов в геном мягкой пшеницы в настоящее время уделяется пристальное внимание как в России, так и за рубежом. В связи с вышеизложенным актуальность диссертационной работы Леоновой И.Н. как с научной, так и практической точки зрения является очевидной.

**Научная новизна исследований.** На основании изучения коллекции интрогрессивных линий мягкой пшеницы, содержащих генетический материал *Triticum timopheevii*, впервые проведена сравнительная оценка по геномному составу и устойчивости к бурой ржавчине и мучнистой росе. Установлено влияние генотипической среды сорта-реципиента на число и хромосомную локализацию фрагментов интрогрессии *T. timopheevii*.

В работе были идентифицированы новые гены и QTLs (*LrTt1*, *LrTt2*, *Q<sub>Lr.icg-2B</sub>*, *Q<sub>Pm.icg-6D</sub>*), происходящие из генома *T. timopheevii* и обеспечивающие эффективную защиту мягкой пшеницы от бурой ржавчины и мучнистой росы.

Впервые изучен генетический контроль устойчивости к бурой ржавчине на стадии проростков и взрослых растений у линий мягкой пшеницы с генетическим материалом *T. timopheevii*. Установлено, что наличие в геноме линий *T. aestivum*/*T. timopheevii* главного и двух минорных локусов обеспечивает длительную устойчивость.

Впервые у интрогрессивных линий мягкой пшеницы проведено молекулярно-генетическое картирование QTLs, ассоциированных с морфологическими признаками и признаками, влияющими на урожайность мягкой пшеницы. Проведена оценка влияния фрагментов чужеродного генетического материала хозяйственно-ценные признаки и было показано, что фрагменты интрогрессии, содержащие локусы устойчивости к грибным болезням, не оказывают отрицательных эффектов на продуктивность мягкой пшеницы.

**Теоретическое и практическое значение результатов исследования.** В диссертационной работе предложена и опробована технология использования диких и культурных родичей мягкой пшеницы в качестве источников генов иммунитета к грибным болезням. Полученные результаты позволяют, с одной стороны, охарактеризовать потенциал генофонда диких сородичей для улучшения мягкой пшеницы и определить рациональные пути его сохранения и использования. С другой стороны, позволяют получить ценный исходный материал, который можно использовать в селекции пшеницы.

В результате проведенного исследования выявлены особенности формирования устойчивости к бурой ржавчине у мягкой пшеницы, содержащей генетический материал разных образцов *Triticum timopheevii*.

Полученные результаты были использованы для создания баз данных по интрогрессивным линиям и коммерческим сортам мягкой пшеницы, включающие степень устойчивости к грибным болезням, хромосомную локализацию и протяженность фрагментов интрогрессии, молекулярные маркеры, выявляющие ассоциацию с хозяйственно-ценными признаками. Полученные результаты используются в практической селекции для скрининга гибридных линий, содержащих чужеродные замещения и транслокации, для паспортизации сортового материала и подбора родительских образцов для проведения скрещиваний.

Созданы линии-доноры эффективных генов устойчивости к бурой ржавчине, которые в настоящее время используются в практических целях для получения устойчивых озимых и яровых сортов мягкой пшеницы. По результатам исследования автором отработаны схемы и методы оценки и отбора генотипов, содержащих целевые локусы эффективной устойчивости к грибным болезням. Разработаны и опробованы способы ускоренного создания линий мягкой пшеницы, устойчивых к бурой ржавчине, с использованием молекулярных маркеров. Часть полученных результатов оформлена в виде патентов на изобретение.

По тематике диссертационного исследования были выполнены гранты РФФИ, программы фундаментальных исследований Президиума РАН «Динамика генофондов растений, животных и человека» и программы Министерства образования и науки РФ, имеющие как теоретический, так и прикладной характер.

**Рекомендации по использованию результатов диссертации.** Линии, созданные в процессе выполнения работы, используются в качестве доноров генов иммунитета при получении устойчивых к грибным патогенам озимых и яровых форм мягкой пшеницы. Данные по молекулярно-генетическому разнообразию коллекций интрогрессивных линий с генетическим материалом *T. timopheevii* и результаты маркирования участков хромосом

могут быть полезны при анализе гибридных линий с чужеродными замещениями. Рекомендуется использовать полученные результаты в институтах и селекционных центрах, где ведутся работы по созданию гибридных форм мягкой пшеницы с участием диких и культурных родичей.

**Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций,** сформулированных в диссертации, подтверждается многолетними наблюдениями и достаточным числом публикаций. Для выполнения диссертационной работы использован комплекс классических и современных методов исследования, которые в настоящее время используются для анализа генома растений. По результатам диссертации была опубликована 51 работа, в том числе 24 статьи в международных и отечественных журналах (из них 21 статья из списка ВАК РФ), 4 патента на изобретения и 23 публикации в сборниках трудов конференций. Результаты работы были доложены на многочисленных симпозиумах, конференциях и совещаниях различного уровня.

**Структура и общая характеристика диссертации.** Диссертационная работа изложена на 343 страницах. Состоит из введения, четырех глав, заключения, выводов, списка литературы и приложения. Материал диссертации содержит иллюстрации из 47 таблиц и 34 рисунков. Диссертантом детально проанализирована литература по теме исследования, библиография включает 641 работу, из которых 82 опубликованы в отечественных изданиях.

Во введении автор обосновывает актуальность и степень разработанности темы диссертационного исследования, формулирует цель, основные задачи работы и положения, выносимые на защиту, показывает методологию, научную новизну, теоретическую и практическую значимость. Глава 1 является обзором литературы, в котором обобщены сведения об использовании пшениц группы *Timopheevi* для расширения генетического разнообразия мягкой пшеницы по генам устойчивости к грибным болезням. Особый интерес представляет раздел литобзора, описывающий технологии маркер-ориентированной селекции и их применение для создания новых генотипов мягкой пшеницы с заданными свойствами.

Во второй главе описываются объекты и методы диссертационного исследования, а также программы для статистической обработки результатов многолетних наблюдений и картирования генов и локусов количественных признаков. В качестве модельных объектов в диссертационной работе использованные две обширные коллекции интрогрессивных линий мягкой пшеницы, созданных в Институте цитологии и генетики СО РАН.

Глава 3 включает экспериментальные результаты, полученные при выполнении данной работы. В качестве экспериментальных моделей автором использованы цитологически стабильные интрогрессивные линии мягкой пшеницы, различающиеся по составу и хромосомной локализации генетического материала тетраплоидной пшеницы *T. timopheevii*. В работе проведено изучение генетического разнообразия интрогрессивных линий по микросателлитным локусам и устойчивости к грибным болезням. Следует отметить, что мониторинг устойчивости линий мягкой пшеницы к грибным патогенам, проводимый на протяжении длительного периода времени, позволил отобрать высоко резистентные образцы, часть из которых характеризуются комплексной устойчивостью к болезням.

К числу наиболее значимых результатов следует отнести локализацию локусов, определяющих различный вклад в устойчивость мягкой пшеницы к бурой ржавчине и мучнистой росе. Данная часть работы была выполнена с использованием коллекций интрогрессивных линий, полученных с участием разных образцов *T. timopheevii*. Сопоставление результатов фитопатологического тестирования линий, данных молекулярно-генетического анализа, полученных в работе, с литературными данными позволило сделать вывод, что локусы являются новыми, ранее не известными локусами, обеспечивающими эффективную защиту мягкой пшеницы от грибных патогенов.

Важной частью диссертационной работы являются исследования, посвященные влиянию интрогрессированного чужеродного генетического материала на комплекс хозяйственно-ценных признаков мягкой пшеницы. В работе было проведено сравнение интрогрессивных линий с исходными родительскими сортами мягкой пшеницы по морфологическим признакам и признакам, определяющим продуктивность мягкой пшеницы. Результаты не выявили значительных отличий линий от исходных сортов, хотя для линий некоторых комбинаций скрещивания установлено снижение признаков продуктивности колоса. Дальнейшее картирование локусов, ассоциированных с хозяйственно-ценными признаками, показало, что фрагменты интрогрессии, содержащие гены устойчивости к грибным болезням, не оказывают негативного влияния на признаки, определяющие продуктивность мягкой пшеницы.

В качестве практического выхода в диссертационной работе была предложена схема создания линий-доноров локусов устойчивости к грибным патогенам. В результате реализации такой схемы с помощью молекулярных маркеров были получены селекционные линии мягкой пшеницы, устойчивые к бурой ржавчине, не отличающиеся по хозяйственно-ценным признакам от исходных коммерческих сортов мягкой пшеницы.

В четвертой главе диссертации проводится анализ полученных в работе результатов и сопоставление их с литературными данными.

#### **Замечания по диссертационной работе:**

- Какова эффективность исследованных микросателлитных маркеров для диагностики и переноса генов устойчивости?
- Не указано, каким методом были построены дендрограммы (рис.4, 1-3 (раздел Приложение))
- В табл 11. ( табл.1 автореферата) не совсем понятны приведенные данные по мониторингу восприимчивости интрогрессивных линий к фитопатогенам в период 1997-2014гг: что обозначают приведенные через дробь баллы?
- Стр 106. «По результатам генотипирования линий не обнаружено межсортовых отличий в длинах интрогрессированных фрагментов» из текста диссертации не ясно, на основании чего было сделано это заключение.
- Логичнее было не приводить фотографию С-окрашенных метафазных хромосом линии 'BC9' и 832-2 (рис.14 и 16), так как эти данные (как впрочем, указано в тексте диссертации) получены не соискателем, а ограничиться описанием, либо вынести их в раздел « Приложение»
- Из данных, приведенных в табл. 27 не ясно, на основании чего было сделано заключение об изменении ингибирования на 10% .
- В ряде случаев не стоило дублировать термины английским вариантом (например, «характеризуется наличием районов, богатых генами (gene-rich regions)» (стр.178))
- Гл 4.2.1. Изучение генетического разнообразия пшеницы и ее гибридов с помощью SSR-маркеров (обсуждение) несколько затянута и дублирует данные из обзора литературы.
- Объединение глав «Результаты» и « Обсуждение» несколько облегчило бы восприятие огромного массива данных, полученных соискателем.

Однако сделанные замечания не снижают высокой научной и, особенно, практической ценности рецензируемой диссертационной работы.

Выводы полностью соответствуют цели и задачам диссертационного исследования и объективно отражают полученные данные. Текст автореферата полностью соответствует содержанию и выдвигаемым положениям диссертации.

#### **Заключение.**

Диссертационная работа Леоновой И.Н. «Генетический контроль устойчивости к грибным болезням у мягкой пшеницы с интрогрессиями от *Triticum timopheevii* Zhuk.» является завершенной и оригинальной научно-исследовательской работой. Теоретические

разработки и практический выход, полученные в ходе проведенных исследований, являются основой для расширения генетического разнообразия мягкой пшеницы по генам иммунитета к грибным болезням и другим хозяйственно-ценным признакам. Достоверность полученных результатов и обоснованность выводов и заключений не вызывает сомнения.

По основным критериям диссертационная работа отвечает всем требованиям (пп. 9-11, 13 и 14) «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденному Постановлением Правительства РФ №842 от 24.09.2013 г., предъявляемым ВАК Минобрнауки России к диссертациям на соискание ученой степени доктора биологических наук, а ее автор Леонова Ирина Николаевна заслуживает присуждения искомой степени доктора биологических наук по специальности 03.02.07 – генетика.

Отзыв был заслушан и утвержден на заседании межлабораторного семинара, протокол № 3 от 15 сентября 2015 г.

В.н.с., лаборатории системной биологии растений  
д.б.н., профессор



Кочиева Е.З.

Подпись Кочиевой Е.З.



Начальника  
Отдела кадров  
И.И. Шиян

