

Отзыв официального оппонента
на диссертационную работу Кельбина Василия Николаевича
«Генетический полиморфизм популяции возбудителя стеблевой ржавчины
пшеницы *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* на территории Западной Сибири»
по специальности 1.5.7. – Генетика.

Диссертация представляет собой комплексное исследование патосистемы "*Triticum aestivum* L. - *Puccinia graminis* f. sp. *tritici*" на территории Западной Сибири, включающее изучение обоих компонентов этой системы: с одной стороны, - анализ структуры популяций патогена, собранных на территории Западной Сибири по селективным признакам вирулентности к сортам-дифференциаторам и селективно нейтральным ДНК маркерам и, с другой стороны, - идентификацию генов устойчивости *Sr* к возбудителю стеблевой ржавчины (*Pgt*) в сортах и селекционных линиях, выращиваемых в тех же регионах. В заключение автором сделана очень важная попытка проанализировать полученные данные в рамках теории Флора «ген-на-ген» и оценить современную ситуацию расового состава местных популяций *Pgt* и степени защищенности районированных сортов пшеницы в регионе Западной Сибири от потенциальных угроз, связанных с микроэволюцией патогена и возникновением новых высоко-вирулентных рас.

Актуальность и своевременность проведенных исследований определяется следующими факторами:

- высокой вредоносностью и потенциальной возможностью быстрой эволюции патогена и образования рас, аналогичных «угандийской» расе;
- усиливающимся в последние годы ухудшением фитосанитарной обстановки на территории Западной Сибири, в частности эпифитотийным развитием патогена в 2009 и 2014 в Омской области;
- потенциальной опасностью возникновения в популяциях патогена высоковирулентных рас, не входящих в семейство рас *Ug99*;
- необходимостью оценки районированных сортов пшеницы и селекционных линий на наличие генов устойчивости, обеспечивающих защиту не только против распространенных в настоящее время рас, но и к возникновению потенциально опасных новых рас патогена.

Структура диссертации и краткая характеристика основного содержания диссертации. Диссертационная работа включает обзор литературы на 35 страницах, материалы и методы на 15 стр., результаты из 5 глав на 32 стр., а также обсуждение, заключение и выводы. Список цитированной литературы составляет 247 источников и

20 стр.

Литературный обзор посвящен биологии возбудителя и проблемам генетической защиты пшеницы от возбудителя стеблевой ржавчины. В конце этой главы автор сделал обобщение проанализированной литературы относительно роли стеблевой ржавчины в фитопатологическом комплексе пшеницы и необходимости проведения адекватного генетического контроля заболевания на территории Западной Сибири, включая анализ популяций патогена, их расового состава, а также выделение доноров и источников устойчивости.

В главе «Материалы и методы» детально описаны современные лабораторные фитопатологические методы получения и размножения монопустульных изолятов, методы инокуляции растений спорами гриба и определения рас. Большое внимание уделено молекулярно-генетическим методам изучения системы патоген-хозяин и статистическому анализу данных по признаку вирулентности мягкой пшеницы и генотипированию с помощью SSR маркеров.

В диссертации Кельбина Василия Николаевича представлены результаты, обладающие **научной новизной** и имеющие **практическую значимость**. К достижениям, имеющим теоретическую значимость, следует отнести выявленный на основании данных по генотипированию изолятов патогена по 16 SSR маркерам (всего 81 аллель для 233 изолятов) факт дифференциации двух популяций *P. graminis* f. sp. *tritici*: европейской и азиатской на территории РФ. Показано, что азиатская популяция на территории западной Сибири состоит из трех субпопуляций – омской, новосибирской и алтайской, которые охарактеризованы по вирулентности и SSR маркерам, причем омская и алтайская субпопуляции частично включают общие генотипы.

Практическую значимость несомненно имеет созданная диссертантом коллекция монопустульных изолятов *P. graminis* f. sp. *tritici* Западной Сибири, охарактеризованных по вирулентности к набору дифференцирующих линий пшеницы и принадлежности к определенной расе патогена. Полученные результаты являются информационной базой для программ по опережающей селекции устойчивых сортов пшеницы в Западной Сибири.

Большую практическую значимость также имеют 51 эффективный донор генов устойчивости к *P. graminis* f. sp. *tritici* для использования в условиях Западной Сибири.

Достоверность полученных результатов определяется использованием проверенных методик исследований, широкой апробацией результатов эксперимента на научно-практических конференциях, применением методов статистического анализа экспериментального материала, публикацией научных статей в центральных журналах, освещающих с достаточной полнотой содержание диссертации.

Замечания и вопросы

Основное замечание касается цели диссертационной работы, которая также как и название диссертации, не связана с комплексным подходом в исследовании патосистемы, а отражает только один ее компонент – изменчивость патогена. В то же время кроме двух задач, которые относятся к изучению структуры популяций патогена по вирулентности и молекулярным маркерам, задача № 3 посвящена анализу генов *Sr* в селекционных линиях пшеницы.

Следует отметить полное отсутствие в автореферате иллюстративного материала, что снижает эффективность восприятия научных результатов и общее впечатление от работы.

В табл.15 указано количество образцов пшеницы с идентифицированными *Sr* генами. Среди них такие редкие гены, как *Sr2* и *Sr22*, которые могут быть переданы селекционным образцам через транслокации от диких видов пшеницы *T. turgidum* и *T. monosocum* (Приложение 7). Эти гены выявлены ПЦР тестом у 63 и 59 образцов пшеницы, соответственно, т.е. с очень высокой частотой. Возникает вопрос: оценивал ли автор вероятность получения ложно-положительных результатов при идентификации этих генов, исходя из родословной анализируемых образцов?

Полученные различия между результатами идентификации *Sr* генов с помощью молекулярных маркеров и ожидаемым наличием генов от родословной GRIS (табл. 19) не обсуждаются автором в диссертации. Чем можно объяснить полученные несоответствия?

Автор подменяет термином «генотипирование» (это процесс определения генотипа особи, требует наличия хотя бы нескольких маркеров) факт «идентификации *Sr* генов», для которой достаточно одного ПЦР маркера (например, с.9, 3 абзац сверху; пункт 2.5.5. на стр. 62 «KASP-генотипирование» лучше заменить на «идентификация гена с помощью KASP маркера»; стр. 94 п.3.4.3. название).

Общее заключение. Основные результаты диссертации опубликованы в 5 научных работах в рецензируемых журналах, входящих в перечень научных изданий, рекомендованных ВАК РФ и 12 тезисах докладов на международных конференциях.

В целом следует отметить, что диссертантом проделана огромная работа, получены оригинальные результаты по генетической изменчивости сложного малоизученного биотрофного гриба *P. graminis* f. sp. *tritici* как по признакам вирулентности, так и нейтральным молекулярным маркерам. В диссертации впервые доказано существование двух основных популяций патогена на территории РФ и более детально изучена структура азиатской популяции на территории Западной Сибири, что позволило автору оценить потенциальную возможность для районированных в данной регионе сортов пшеницы

сохранить длительную устойчивость к возбудителю стеблевой ржавчины.

Диссертация написана хорошим языком, результаты излагаются последовательно в логической связи. При этом, к сожалению, встречаются опечатки (даже в названиях подглав), неудачные выражения, жаргоны. Все это не умаляет достигнутых автором успехов в изучении такой важной и потенциально очень опасной болезни пшеницы, как стеблевая ржавчина.

Выводы, сделанные автором, соответствуют содержанию диссертации; автореферат полностью отражает содержание диссертации.

На основании вышеизложенного считаю, что диссертация Кельбина Василия Николаевича является завершенной научно-квалификационной работой, выполненной на хорошем методическом уровне с использованием фитопатологических и молекулярно-генетических методов, а ее содержание полностью соответствует всем требованиям, представленным в «Положении о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 N 842 (ред. от 01.10.2018 г., с изм. от 26.05.2020 г.).

Таким образом, Кельбин Василий Николаевич, несомненно, заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7. – Генетика.

Официальный оппонент:

ведущий научный сотрудник лаборатории
иммунитета растений к болезням
«Всероссийского научно-исследовательского
института защиты растений»
доктор биологических наук
по специальностям 03.00.15 – Генетика и 03.02.12 - микология

Мироненко Нина Васильевна

25 января 2023 г.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений» (ФГБНУ ВИЗР), 196608 Санкт-Петербург, Пушкин, ш. Подбельского, д.3, тел.470-43-84, info@vizr.spb.ru

Подпись руки

Удостоверяю

Секретарь
директора

Мироненко Н.В.

А.М. Кошгалева

