

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 24.1.239.01,
СОЗДАННОГО НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО
БЮДЖЕТНОГО НАУЧНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР ИНСТИТУТ ЦИТОЛОГИИ И
ГЕНЕТИКИ СИБИРСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ
НАУК», ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ
КАНДИДАТА БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 19 апреля 2023 г. № 13

О присуждении Розановой Ирине Вениаминовне
(гражданка РФ)

ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация Розановой И.В. «Идентификация и маркирование геномных локусов, ассоциированных с устойчивостью ячменя к грибным болезням», по специальности 1.5.7. – генетика, принята к защите 15.02.2023г, протокол № 6, Диссертационным советом 24.1.239.01 (Д 003.011.01), созданным на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», (630090, Новосибирск, пр. акад. Лаврентьева, 10). Диссертационный совет 24.1.239.01 (Д 003.011.01) утвержден ВАК 15.01.2010, приказ ВАК № 1-7 и переутвержден Министерством образования и науки РФ 11.04.2012 года, приказ № 105/нк.

Соискатель: Розанова Ирина Вениаминовна, 14 октября 1981 года рождения, в 2006 году окончила Факультет естественных наук Новосибирского государственного университета с присуждением степени специалиста по специальности «химия». В 2020 году окончила очную

аспирантуру ИЦиГ СО РАН по направлению подготовки «06.06.01 Биологические науки». В настоящее время работает младшим научным сотрудником в секторе функциональной генетики злаков ИЦиГ СО РАН и научным сотрудником в лаборатории постгеномных исследований ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова» (ВИР), г. Санкт-Петербург.

Диссертация выполнена в секторе функциональной генетики злаков ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук».

Научный руководитель – доктор биологических наук Хлесткина Елена Константиновна, профессор РАН, директор ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова» (ВИР), г. Санкт-Петербург.

Официальные оппоненты:

1. **Карлов Геннадий Ильич**, доктор биологических наук, академик РАН, директор ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии» (ВНИИСБ), г. Москва.
2. **Дементьева Наталия Викторовна**, кандидат биологических наук, зав. лабораторией молекулярной генетики Всероссийского научно-исследовательского института генетики и разведения сельскохозяйственных животных – филиала ФГБНУ «Федеральный научный центр животноводства – ВИЖ имени академика Л.К. Эрнста» (ВНИИГРЖ), г. Санкт-Петербург.

Оппоненты дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова», г. Москва в своём положительном отзыве, составленном кандидатом биологических

наук, заведующим лабораторией функциональной геномики ИОГен РАН Брускиным Сергеем Александровичем и утвержденном директором ФГБУН «Института общей генетики им. Н.И. Вавилова» член-корр. РАН Кудрявцевым Александром Михайловичем, указала, что «Диссертационная работа Розановой И.В. «Идентификация и маркирование геномных локусов, ассоциированных с устойчивостью ячменя к грибным болезням» соответствует требованиям п. 9 "Положения о порядке присуждения ученых степеней", утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842, предъявляемым к диссертациям, выдвигаемым на соискание ученой степени кандидата биологических наук, а её автор заслуживает присуждения искомой степени по специальности 1.5.7. – Генетика.

Отзыв заслушан, обсуждён и одобрен на заседании Отдела генной инженерии и синтетической биологии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт общей генетики им Н.И. Вавилова Российской академии наук 31 марта 2023 г., протокол №7»

Соискатель имеет всего 22 публикации, из них по теме диссертации 17, включая 5 статей в рецензируемых научных изданиях (WoS, Scopus), 11 тезисов в материалах всероссийских и международных конференций и 1 патент. Во всех опубликованных работах личный вклад автора был определяющий. В диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных соискателем работах.

Наиболее значительные публикации по теме диссертации:

1. Afanasenko O., Rozanova I., Gofman A., Lashina N., Novakazi F., Mironenko N., ... & Zubkovich A. Validation of molecular markers of barley net blotch resistance loci on chromosome 3H for marker-assisted selection // Agriculture. – 2022. – Vol. 12. – no. 4 – P. 439. <https://doi.org/10.3390/agriculture12040439> (РИНЦ, Scopus, WoS, IF = 3,408)

2. Rozanova I., Lashina N., Efimov M., Afanasenko O., Khlestkina E. The In-Silico Development of DNA Markers for Breeding of Spring Barley Varieties That Are Resistant to Spot Blotch in Russia // *Agriculture*. – 2020. – Vol. 10. – no. 11. – P. 505. DOI:10.3390/agriculture10110505 (РИНЦ, Scopus, WoS, IF = 3,408)
3. Розанова И.В., Хлесткина Е.К. (2020). NGS-секвенирование в селекционно-генетических исследованиях ячменя // *Вавиловский журнал генетики и селекции*. – 2020. – Ж 24. – № 4. – С. 348-355 (РИНЦ, Scopus, WoS, IF = 1,020)
4. Rozanova I., Lashina N., Mustafin Z., Gorobets S., Efimov V., Afanasenko O., Khlestkina E. (2019). SNPs associated with barley resistance to isolates of *Pyrenophora teres f. teres* // *BMC Genomics*. – 2019. – Vol. 20. – no S3. – P. 292 (РИНЦ, Scopus, WoS, IF = 4.931)
5. Выкова (Rozanova) I., Lashina N., Efimov V., Afanasenko O., Khlestkina E. (2017). Identification of 50 K Illumina-chip SNPs associated with resistance to spot blotch in barley // *BMC Plant Biology*. – 2017. Vol. – 17. – no. S2. – P. 250 (РИНЦ, Scopus, WoS, IF = 5.260)

На диссертацию и автореферат поступило 12 отзывов, все положительные. В двух отзывах отмечены критические замечания. Отзывы прислали:

- 1) Афанасенко О.С. – д.б.н., академик РАН, заведующая лабораторией иммунитета растений к болезням ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, г. Санкт-Петербург.
- 2) Мироненко Н.В. – д.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории иммунитета растений к болезням ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, г. Санкт-Петербург, г. Пушкин.
- 3) Осипова С.В. – д.б.н., профессор, ведущий научный сотрудник Сибирского института физиологии и биохимии растений СО РАН, г. Иркутск.

- 4) Пороховинова Е.А. – д.б.н., ведущий научный сотрудник отдела генетических ресурсов масляничных и прядильных культур ФГБНУ Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), г. Санкт-Петербург.
- 5) Рахмангулов Р.С. – к.б.н., старший научный сотрудник, заведующий лабораторией генетики, селекции, биотехнологии декоративных и ягодных культур ФГБНУ Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), г. Санкт-Петербург.
- 6) Фисенко П.В. – к.б.н., ведущий научный сотрудник и. о. заведующего лабораторией селекционно-генетических исследований полевых культур ФГБНУ «ФНЦ агробiotехнологий Дальнего Востока им. А.К. Чайки», г. Уссурийск.
- 7) Швачко Н.А. – к.б.н, ведущий научный сотрудник, и.о. заведующего лаборатории постгеномных исследований ФГБНУ Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), г. Санкт-Петербург. Швачко Н.А. отметила что недостает некоторых уточнений: почему потребовалось использовать дополнительно PLS-анализ? Использование GWAS было недостаточно для выявления значимых маркеров?
- 8) Цюпка В.А. – к.б.н, ведущий научный сотрудник и.о. заведующий лаборатории геномики растений и биоинформатики ФГБНУ «Ордена Трудового Красного Знамени Никитский ботанический сад – национальный научный центр РАН», г. Ялта.
- 9) Шкрыль Ю.Н. – к.б.н., доцент, ведущий научный сотрудник лаборатории бионанотехнологий и медицины ФНЦ Биоразнообразия ДВО РАН, г. Владивосток.
- 10) Лоскутов И.Г. – д.б.н., доцент, главный научный сотрудник, заведующий отделом генетических ресурсов овса, ржи, ячменя ФГБНУ Федеральный

исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), г. Санкт-Петербург и Ковалева О.Н., к.б.н., ведущий научный сотрудник отдела генетических ресурсов овса, ржи, ячменя ФГБНУ Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), г. Санкт-Петербург.

- 11) Водясова Е.А. – к.б.н., руководитель Курчатовского геномного центра ФГБНУ «Ордена Трудового Красного Знамени Никитский ботанический сад – национальный научный центр РАН», г. Ялта. Водясова Е.А. отметила: что автором для анализа популяционной структуры было сокращено количество SNP до 13659 (из 27319). Проверялось ли соответствие полученной популяционной структуры выборки ячменя при использовании оставшихся SNP. Если да, то это было необходимо указать в работе. И в результате двух анализов (GWAS и PLS) было получено 66 кандидатных генов, в дальнейшую работу было оставлено только 14. Чем был обусловлен выбор?
- 12) Пшеничникова Т.А. – к.б.н., доцент по специальности «генетика», старший научный сотрудник, и.о. заведующей сектором генетики качества зерна, Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается тем, что оба оппонента являются компетентными специалистами в области генетики растений, имеют публикации в ведущих биологических журналах и дали свое письменное согласие быть оппонентами. Ведущая организация является одним из ведущих учреждений в области генетики и селекции сельскохозяйственных растений, что позволяет произвести экспертную оценку полученных в диссертационной работе результатов.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований доказано, что устойчивость сортов и линий ячменя (*Hordeum vulgare*) сибирской коллекции к грибным заболеваниям, которые вызываются патогенами *Cochliobolus sativus* и *Pyrenophora teres f. teres*, ассоциируется с локусами, которые согласно генетическим консенсусным картам хромосом ячменя расположены в районах 15.1-18.8 сМ и 52.6 сМ хромосомы 3Н и в районе 54.89 сМ хромосомы 6Н. **Доказано, что район 15.1-18.8 сМ хромосомы 3Н связан с устойчивостью ячменя к возбудителю темно-бурой пятнистости *C. sativus*, а районы 52.6 сМ хромосомы 3Н и 54.89 сМ хромосомы 6Н – с устойчивостью к сетчатой пятнистости, вызываемой *P. teres f. teres*.**

Теоретическая значимость работы обоснована тем, что впервые проведена оценка устойчивости сибирской коллекции ячменя, включающей более 90 сортов и линий, к возбудителям корневой гнили, темно-бурой и сетчатой пятнистости, что позволило выявить районы хромосом, ассоциированные с устойчивостью ячменя к данным грибным заболеваниям, маркировать их с помощью SNP, а также выявить формы ячменя, устойчивые и восприимчивые к *C. sativus* и *P. teres f. teres*.

Доказано, что устойчивость сортов и линий ячменя из сибирской коллекции к темно-бурой пятнистости контролируется пятью геномными локусами, расположенными на хромосомах 1Н, 2Н, 3Н и 7Н, а устойчивость к сетчатой пятнистости – шестью локусами на хромосомах 1Н, 2Н, 3Н и 6Н.

Доказано, что SNP JHI-Hv50k-2016-156842, -156820, -156999 и -157182 связаны с устойчивостью ячменя к темно-бурой пятнистости и маркируют район 15.1-18.8 сМ на хромосоме 3Н, а SNP JHI-Hv50k-2016-183207 и -398663 связаны с устойчивостью к сетчатой пятнистости и маркируют районы 52.6 сМ и 54.89 сМ на хромосомах 3Н и 6Н, соответственно. **Показано**, что для выявления образцов ячменя, устойчивых к темно-бурой пятнистости, наиболее эффективным является отбор по SNP-

маркерам хромосомы 3Н.

Установлено, что сорта ячменя Колчан и Алей обладают групповой устойчивостью к грибным заболеваниям – сорт Колчан устойчив к темно-бурой пятнистости и корневой гнили, возбудителем которых является *C. sativus*, а сорт Алей устойчив ко всем заболеваниям, возбудителями которых являются *C. sativus* и *P. teres*.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что определены локусы в геноме *H. vulgare*, ассоциированные с устойчивостью сортов и линий ячменя сибирской коллекции к грибным заболеваниям, на основе которых разработаны новые диагностические ДНК-маркеры (патент RU2740404C1), два из которых связаны с устойчивостью к сетчатой пятнистости, а четыре – к темно-бурой. Разработанные ДНК-маркеры могут быть использованы в маркер-ориентированной селекции для получения форм ячменя, устойчивых к грибным патогенам *C. sativus* и *P. teres* f. *teres*.

Данные, полученные в ходе выполнения диссертационной работы, представляют интерес для исследователей, занимающихся изучением молекулярно-генетических механизмов устойчивости ячменя к грибным патогенам, и могут быть использованы в образовательном процессе при чтении курсов лекций по генетике растений и селекции злаковых. Результаты диссертационной работы используются при чтении курса «Теория селекции» для студентов 4-го курса специальности «Цитология и генетика» биологического отделения ФЕН НГУ и при чтении лекций в университете «Сириус» в модуле «Генетические ресурсы и генетика растений».

Применительно к проблематике диссертации результативно использован широкий спектр современных методов молекулярной и количественной генетики, фитопатологии и биоинформатики, включая *in silico* анализ нуклеотидных последовательностей, разработку ДНК-маркеров, полимеразно-цепную реакцию (ПЦР), в том числе и аллель-специфичную, полногеномный анализ генетических ассоциаций (GWAS), PLS-анализ и

фенотипирование растений, а также методы статистического анализа. Олигонуклеотидные праймеры для проведения аллель-специфичной ПЦР разработаны с использованием последовательностей из базы EnsemblPlants. Используемые методы позволили выявить новые локусы, ассоциированные с устойчивостью к темно-бурой и сетчатой пятнистости, а также выявить сорта и линии ячменя из сибирской коллекции, обладающие как индивидуальной, так и групповой устойчивостью к грибным патогенам.

Оценка достоверности результатов исследования выявила их высокую надежность, которая подтверждается воспроизводимостью экспериментальных данных, полученных с использованием современных молекулярно-генетических и фитопатологических методов, адекватных поставленным задачам, и позволивших выявить новые геномные локусы, ассоциированные с устойчивостью ячменя грибным патогенам *C. sativus* и *P. teres* f. *teres* и разработать на их основе диагностические маркеры, проверенные на независимых наборах сортов и линий ячменя.

Результаты исследования статистически обработаны, достоверны и могут быть использованы другими исследователями. При обсуждении результатов работы, касающихся геномных локусов, ассоциированных с устойчивостью ячменя к гемибактериальным патогенам, учитывались данные, полученные ранее другими исследователями по рассматриваемой тематике.

Личный вклад автора заключается в непосредственном участии в планировании и проведении экспериментов, контроле качества полученных данных и всех этапов их анализа, обработке и интерпретации полученных результатов, апробации результатов исследования и подготовке публикаций. Основные результаты исследования получены автором самостоятельно. Фитопатологическая оценка болезней была проведена коллегами из ВНИИ защиты растений (ВИЗР, Санкт-Петербург) в рамках научного сотрудничества. Генотипирование образцов ДНК ячменя осуществлено на базе компании Trairgenetics GmbH (Гатерслебен, Германия).

Полученные соискателем научные результаты соответствуют п. 6

«Методы генетического анализа у прокариот и эукариот. Генетическое картирование. Внехромосомная наследственность. Внехромосомная наследственность. Горизонтальный перенос генов.», и п. 22 «Генетические основы селекции. Генетика количественных признаков. Гибридизация. Гетерозис. Инбридинг» паспорта специальности 1.5.7. – генетика (биологические науки).

Диссертационным советом сделан вывод о том, что диссертация представляет собой законченную научно-квалификационную работу, соответствует критериям пункта 9, абзац 2 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденным постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842.

В ходе защиты диссертации д.б.н. Аксенович Т.И. были высказаны критические замечания, ответы на которые ее не удовлетворили: 1) соискателем не объяснено почему в качестве объекта выбраны проростки, когда речь идет об устойчивости к заболеваниям, важным для взрослых растений и почему были выбраны именно эти патогены, 2) чем отличаются варианты 2–5 регрессионных моделей, 3) какие гены и молекулярные процессы маркируют SNP, который рекомендован в качестве маркера устойчивости к темно-бурой пятнистости.

Соискатель Розанова Ирина Вениаминовна ответила на задаваемые в ходе заседания вопросы, согласилась с отдельными замечаниями и привела аргументацию, основанную на материалах ее исследования и литературных данных.

Диссертационный совет 19 апреля 2023 г. принял решение присудить Розановой И.В. ученую степень кандидата биологических наук за решение научной задачи, связанной с поиском геномных локусов, ассоциированных с устойчивостью сортов и линий ячменя сибирской коллекции к грибным заболеваниям, а также разработкой на их основе ДНК-маркеров необходимых для ускорения селекционного процесса получения форм ячменя, устойчивых к патогенам *C. sativus* и *P. teres f. teres*.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 19 человек, из них 6 докторов наук по специальности 1.5.7. – генетика, участвовавших в заседании, из 27 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за – 15, против – 2, воздержались – 2.

Зам. председателя
диссертационного совета,
доктор биологических наук


Н.Б. Рубцов

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор биологических наук


Т.М. Хлебодарова

19.04.2023 г.