

УТВЕРЖДАЮ:

И.о. зам. директора по науке

ФГБНУ «АНЦ «Донской»

Марченко Д.М.

кандидат с.-х. наук

10 » ноября 2022 г.



Отзыв ведущей организации

ФГБНУ «Аграрный научный центр «Донской» на диссертационную работу Давояна Эдварда Румиковича «Создание нового, генетически разнообразного исходного материала для селекции мягкой пшеницы на основе методов хромосомной инженерии и ДНК-маркирования», представленную на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 4.1.2 - Селекция, семеноводство и биотехнология растений

Диссертационная работа Давояна Э.Р. является завершением оригинальных теоретических и прикладных исследований автора по теме, вынесенной на защиту.

Актуальность диссертационных исследований определяется тем, что объектом изучения была взята мягкая пшеница – культура, имеющая большое значение в мировом земледелии. В России мягкая пшеница является важной пищевой культурой. Основной проблемой в России является недостаточная реализация потенциала продуктивности посевов мягкой пшеницы, о чем свидетельствует относительно низкая средняя его урожайность в ряде регионов нашей страны.

Актуальность исследований автора определяется необходимостью расширения аллельного разнообразия культурной пшеницы, переноса генов, определяющих хозяйственно-ценный признак, в коммерческие сорта посредством обратного скрещивания, приведения их в гомозиготное состояние, дальнейшего контроля с помощью молекулярных маркеров, получения генотипов с заданными свойствами, и, в конечном итоге, сокращения срока создания сортов. Это позволит более целенаправленно осуществлять селекцию новых урожайных сортов мягкой пшеницы. Результаты исследований автора способствуют решению этих важных вопросов.

Научная новизна исследований. В диссертационной работе Э.Р. Давояна достаточно целенаправленно сформулированы основные цели и задачи исследований, обоснована их новизна. Автором с применением комплекса селекционных, цитологических, цитогенетических и молекулярных методов изучены 343 новые интрагрессивные линии мягкой пшеницы с генетическим материалом *T. miguschovae*, *Ae. speltoides*, *Ae. umbellulata*. Установлен широкий полиморфизм по всем изученным признакам, выделены линии с высоким содержанием белка и клейковины в зерне, сочетающие групповую устойчивость к болезням, несущие

новые гены устойчивости к листовой ржавчине, полученные от *T. militinae*, *Ae. tauschii*, *Ae. speltoides* и *Ae. umbellulata*. В рамках MAS разработана схема маркер-контролируемого беккроссного отбора, с применением которой получены линии-доноры, содержащие единичные гены, а также пирамиды, состоящие из двух или трех генов устойчивости к листовой ржавчине. Совместно с селекционерами отдела селекции и семеноводства пшеницы и тритикале НЦЗ созданы новые сорта мягкой пшеницы Вызов, Кулич и Данко.

Важно отметить, что полученные соискателем новые подходы в селекции позволяют выявить стабильные линии мягкой пшеницы по морфологическим и иммунологическим характеристикам, агрономически ценным признакам и технологическому качеству зерна и крупы.

Теоретическая и практическая значимость диссертационной работы.

Большое значение результатов исследований, проведенных лично соискателем и в соавторстве с коллегами, состоит в расширении генетического разнообразия мягкой пшеницы за счет генофонда ее диких сородичей и возможности использования предложенного материала в селекционной работе институтов, занимающихся селекцией сортов мягкой пшеницы. Полученные с применением схемы маркер-контролируемого беккроссного отбора линии-доноры генов устойчивости к листовой ржавчине *Lr9*, *Lr19*, *Lr24* и *Lr37* интенсивно вовлекаются в селекционный процесс. Пирамидирование этих генов в сочетании с генами, утратившими эффективность, и генами возрастной устойчивости позволит, в значительной степени, повысить генетическое разнообразие сортов и их адаптивность к популяции патогена.

Переданные на Государственное сортоиспытание сорт альтернативного образа жизни Вызов и сорта яровой мягкой пшеницы Кулич и Данко позволят расширить возможности производства в условиях, неблагоприятных для возделывания озимой мягкой пшеницы.

Апробация работы. Основные положения диссертационной работы изложены на заседаниях методической комиссии ученого совета ФГБНУ «ФНЦ риса», а также были представлены на Международных и всероссийских научно-практических конференциях. Результаты работы представляют теоретическую и практическую ценность. По результатам исследований автором опубликовано 82 научных статьи, 22 из них опубликованы в изданиях, рекомендованных ВАК РФ, 12 – в Scopus и Web of Science и достаточно полно отражают результаты научных исследований автора по теме диссертации.

Автореферат соответствует основному содержанию диссертационной работы. В нем весьма обстоятельно представлены результаты экспериментов, их анализ и обсуждение, приведены выводы и предложения для практической селекции, список опубликованных автором научных работ по теме диссертации.

Степень обоснованности результатов. Обоснованность результатов диссертационного исследования обусловлена применением современной методологии и методов исследований, адекватных поставленной цели и задачи исследований, достаточным количеством полевых и лабораторных экспериментов. Полученный массив данных обработан современными методами математического

анализа. Все это позволило автору корректно провести обсуждение полученных результатов и сделать научно обоснованные выводы.

Достоверность результатов исследований. Исследования автор проводил с 2001 по 2021 год в отделе биотехнологии, и отделе селекции и семеноводства пшеницы и тритикале НЦЗ. Полевые испытания осуществлялись на опытных участках, расположенных в центральной почвенно-климатической зоне Краснодарского края. Полевые и лабораторные эксперименты осуществлялись в соответствии с общепринятой для пшеницы методикой. Полученные данные подверглись математической обработке, что не оставляет сомнений в их достоверности.

Структура и объем диссертации. Диссертационная работа Э.Р. Давояна изложена на 404 страницах машинописного текста, состоит из введения, 5 глав, заключения, рекомендаций, списка литературы и приложения, содержит 64 таблицы и 53 рисунка. Список литературы включает 674 источника, из них – 88 отечественных и 586 зарубежных авторов.

Оценка содержания диссертации

Во введении отражена актуальность темы; сформулированы цель и задачи исследований; научная новизна и практическая значимость работы; изложены основные положения диссертации, выносимые на защиту; апробация работы и публикация результатов исследований.

В первой главе представлен обзор научной литературы по вопросам, относящихся к тематике проводимых автором исследований. Обобщены литературные данные по использованию генофонда диких сородичей для улучшения мягкой пшеницы. Приводятся примеры интрогрессии ценных признаков от видов рода *Triticum*, *Aegilops*, *Agropyron* и *Secale*. Показаны методы передачи генетического материала от дикорастущих видов, особое внимание уделяется методам создания амфидиплоидов и получения дополненных и замещенных линий. Описаны виды ДНК-маркеров, преимущества их применения для идентификации ценных признаков мягкой пшеницы и методы селекции, основанные на их использовании. Освещаются мировые и отечественные достижения в улучшении мягкой пшеницы, связанные с применением MAS и дальнейшие перспективы этого направления. Полнота приведенных источников, их квалифицированный анализ позволили автору обосновать и убедительно доказать необходимость достижения поставленной цели и задач.

В второй главе приводятся почвенно-климатические и погодные условия проведения экспериментов, изложены характеристика исходного материала, цитологические, молекулярные, статистические методы и условия проведения экспериментов. Фенологические наблюдения, биометрические измерения, учеты и анализы выполнены с использованием стандартных и общепринятых методик. Результаты обработаны различными методами математической статистики.

В третьей главе приводятся результаты селекционно-генетического изучения интрогрессивных линий мягкой пшеницы.

В разделе 3.1 третьей главы приведена хозяйствственно-биологическая оценка интрагрессивных линий. Автор показывает, что 89% из 343 изученных линий обладают устойчивостью к листовой ржавчине, 45% – к жёлтой ржавчине, 50% – к мучнистой росе и 67% – к септориозу. Отобрано 306 устойчивых к листовой ржавчине линий. Проведен гибридологический анализ устойчивости линий к этому патогену. В результате хозяйственно-биологической оценки интрагрессивных линий выявлен полиморфизм по всем изученным признакам, что подтверждает у них высокий уровень генетического разнообразия.

В разделе 3.2 третьей главы автором представлены цитологические, цитогенетические и молекулярно-цитологические методы изучения интрагрессивных линий. Установлено, что большинство изученных линий являются цитологически стабильными, как и сорта мягкой пшеницы. Наряду с этим они характеризуются высокой устойчивостью к листовой ржавчине, а линия АК/34 – ещё и высоким содержанием белка и клейковины. Эти линии имеет большую перспективу для использования в селекции мягкой пшеницы.

В разделе 3.3 третьей главы автор показал применение молекулярных маркеров для изучения аллельного разнообразия интрагрессивных линий по генам хозяйствственно-ценных признаков. В результате ДНК-анализа в изучаемом материале выявлено значительное аллельное разнообразие. Молекулярные маркеры, отобранные для работы, могут успешно применяться в схемах MAS-селекции пшеницы для идентификации аллельных вариантов генов, детерминирующих устойчивость к листовой ржавчине, контролирующих высоту растений, кодирующих синтез амилозы в крахмале и контролирующих чувствительность растений к фотопериоду и яровизации. Кроме того, они могут также использоваться в качестве основного инструмента для отбора ценных генотипов.

В главе 4 описывается применение маркерной селекции для создания исходного материала мягкой пшеницы с заданными качествами. Автор с применением ДНК-маркеров на наличие генов устойчивости к листовой ржавчине *Lr9*, *Lr10*, *Lr19*, *Lr24*, *Lr26*, *Lr34*, *Lr37* изучил 46 сортов мягкой пшеницы селекции НЦЗ им. П.П. Лукьяненко и с использованием маркер-опосредованного беккросса создал линии, содержащие эти гены устойчивости в различных комбинациях. Выделено две линии с геном *Lr24* и десять линий с геном *Lr37*, которые рекомендованы для испытаний в КСИ.

В главе 5 автор показал процесс создания методами экологической селекции с использованием молекулярного маркирования новых сортов мягкой пшеницы Данко, Кулич, Вызов и дал их развернутую характеристику. Новые сорта отличаются высокой продуктивностью, высоким качеством зерна, засухоустойчивостью и жаростойкостью, устойчивостью к полеганию и большим диапазоном по продолжительности вегетации, что позволяет им адаптироваться в различных эколого-климатических зонах.

Сопоставление материалов диссертации и автореферата с выводами показало, что в них отражены результаты по поставленным задачам исследований. Выводы дают обоснованные ответы на положения, вынесенные соискателем на защиту. На основании сделанных выводов сформулированы рекомендации для

практической селекции. Достоверность и обоснованность выводов и рекомендаций доказаны и не вызывают сомнений.

Результаты исследований могут быть использованы в селекционных учреждениях по пшенице. Разработки диссертации могут стать частью дальнейших исследований в научно-исследовательских учреждениях аграрного профиля. Информация о результатах исследований может быть использована в учебном процессе по агрономическим специальностям.

Оценивая диссертационную работу Э.Р. Давояна, как выполненную на соответствующем для докторских диссертаций уровне, следует указать на ряд замечаний.

Замечания по диссертации и автореферату

1. Отсутствует анализ метеоусловий, хотя приводятся данные изучения сортов в 2018-2020 гг. в условиях естественного и искусственного заражения.
2. Для изучения элементов продуктивности оценивались масса 1000 зерен, масса зерна с одной делянки и количество продуктивных колосьев с одной делянки (табл.18). Почему не подсчитали количество зерен в колосе? Это ведь тоже элемент продуктивности...
3. Информацию из раздела «Результаты» (3. СЕЛЕКЦИОННО-ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ИНТРОГРЕССИВНЫХ ЛИНИЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ) 3.2. Цитологические, цитогенетические и молекулярно-цитогенетические методы изучения интрагресивных линий (стр. 156) было бы логичнее поместить в раздел «Условия, материал и методы исследований».
4. Автором в результатах не используется корреляционный анализ, который мог бы значительно улучшить работу.
5. Неясно, почему в табл. 44 среди растений с геном *Lr9* количество устойчивых было лишь 82%. Почему 18% растений с этим геном неустойчивы? По другим генам тоже не 100 %.
6. В таблице 59 приведены средние данные по продуктивности новых сортов мягкой пшеницы при весеннем посеве, но отсутствуют – при осеннем.
7. Правильнее писать урожайность зерна, а не урожай, и не в ц/га, а в т/га.
8. В диссертации не отражена экономическая эффективность изученных автором сортов и линий.
9. Встречаются грамматические и орфографические ошибки.

Заключение

Диссертация представляет собой завершенное научное исследование, выполненное автором самостоятельно и на высоком уровне. В диссертационной работе Давояна Э.Р. изложены обоснованные результаты исследований по улучшению сортов пшеницы с помощью специальных приемов, что позволяет усовершенствовать труд селекционера. Установлен довольно широкий полиморфизм интрагресивных линий по всем изученным признакам, что подтверждает их широкое генетическое разнообразие. Особое внимание былоделено передаче от синтетических форм устойчивости к листовой ржавчине, как наиболее широко распространенной и вредоносной болезни. Выявлено, что большинство изученных линий (89%) являются устойчивыми к данной болезни. С применением ДНК маркеров было выявлено, что большинство линий несут гены

Lr10, *Lr26* и *Lr34*, а также их комбинации. На основе цитогенетических и молекулярно-цитогенетических методов анализа у изученных линий установлены существенные хромосомные перестройки за счет чужеродных интрагрессий, которые в основном затрагивают D-геном. Полученные с применением синтетических форм интрагрессивные линии могут служить в качестве новых доноров устойчивости к болезням, повышенного содержания белка и клейковины и других важных агрономических признаков. В результате работы удалось отобрать перспективные для селекции линии и создать сорта пшеницы. Полученные автором выводы достаточно обоснованы.

Вынесенные на защиту положения опубликованы в 82 научных статьях, доложены и получили одобрение на заседании ученого совета ФГБНУ «НЦЗ им. П.П. Лукьяненко», международных и всероссийских конференциях. Содержание диссертации соответствует паспорту специальности 4.1.2 «Селекция, семеноводство и биотехнология растений».

Автореферат полностью соответствует содержанию диссертационной работы. Научные публикации и автореферат отражают и соответствуют содержанию диссертации. Замечания, отмеченные в отзыве, не снижают качество диссертации и носят, в основном, рекомендательный характер и могут быть учтены соискателем в дальнейшей научно-исследовательской работе.

Диссертация Давояна Эдварда Румиковича «Создание нового, генетически разнообразного исходного материала для селекции мягкой пшеницы на основе методов хромосомной инженерии и ДНК-маркирования» является законченной научно-квалифицированной работой, содержащей новое решение актуальных селекционных задач. Разработанные научно-обоснованные рекомендации имеют существенное значение для повышения эффективности селекции новых сортов мягкой пшеницы и других культур.

Диссертационная работа выполнена на высоком методическом уровне, по содержанию и оформлению отвечает требованиям п.7 «Положения ВАК о порядке присуждения ученых степеней и ученых званий», а ее автор Давоян Э.Р. заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 4.1.2 «Селекция, семеноводство и биотехнология растений».

Отзыв рассмотрен на заседании лаборатории селекции и семеноводства риса ФГБНУ «АНЦ «Донской», протокол № 1 от 10 ноября 2022 г.

Руководитель Центра фундаментальных научных исследований
Федерального государственного бюджетного научного учреждения

«Аграрный научный центр «Донской»,

д.с.-х.н., профессор

«10» ноября 2022 года

т. 8 9185611153, E-mail: p-kostylev@mail.ru

347740, Россия, г. Зерноград Ростовской области, Научный городок, 3

Костылев Павел Иванович

Подпись П.И. Костылева /
ученый секретарь ФГБНУ «АНЦ
«Донской», к.с.-х.н.



Гуреева Алла Владимировна