

ОТЗЫВ

официального оппонента о диссертационной работе Давоян Эдварда Румиковича «СОЗДАНИЕ НОВОГО, ГЕНЕТИЧЕСКИ РАЗНООБРАЗНОГО ИСХОДНОГО МАТЕРИАЛА ДЛЯ СЕЛЕКЦИИ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ НА ОСНОВЕ МЕТОДОВ ХРОМОСОМНОЙ ИНЖЕНЕРИИ И ДНК-МАРКИРОВАНИЯ» представленной на соискание ученой степени доктора биологических наук, по специальности 4.1.2 - Селекция, семеноводство и биотехнология растений

Селекционеры сельскохозяйственных растений испытывают потребность в постоянном обновлении и расширении генетического разнообразия исходного селекционного материала. Эта потребность объясняется необходимостью удовлетворении растущего населения в большем количестве продуктов питания, которые можно производить в изменчивом или изменяющемся климате, и предоставлять потребителям высококачественные продукты с питательными свойствами и полезными для здоровья. Селекция новых, генетически полиморфных источников и доноров хозяйственно ценных признаков пшеницы с использованием современных методов хромосомной инженерии и маркерной селекции актуальны.

Диссертация, представленная на рецензию, представляет собой полностью завершённую научно-исследовательскую работу, выполненную автором в НЦЗ в период с 2001 по 2021 гг., изложенную на 402 страницах машинописного текста с приложением. Структура диссертации соответствует требованиям ВАК по оформлению диссертационных работ и 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.

Исследования, проведенные Давоян Э.Р. посвящены одной из важных направлений современной селекции колосовых культур – созданию нового, генетически разнообразного исходного материала для селекции мягкой пшеницы на основе методов хромосомной инженерии и ДНК-маркирования. Для достижения поставленной цели автором были решены ряд задач по изучению интрогрессивных линий, полученных с использованием синтетических форм *T. miguschovae*, Авродес, Авролата, RS1, RS6 и RS7 по морфо-биологическим признакам с последующей оценкой устойчивости к болезням, значениям элементов продуктивности, содержанию и качеству белка в зерне, хлебопекарным характеристикам. Была определена генетическая природа устойчивости к листовой ржавчине у интрогрессивных линий, идентифицировано и изучено наследование генов устойчивости к данной болезни. Автором удалось отобрать цитологически стабильные

интрогрессивные линии мягкой пшеницы и установить форму передачи генетического материала от синтетических форм *T. miguschovae*, Авродес, Авролата, RS1 и RS7 мягкой пшенице. С помощью ДНК- маркеров изучены интрогрессивных линии по аллельному состоянию генов, детерминирующих устойчивость к болезням и другие хозяйственно ценные признаки. Автором разработана схема маркер-контролируемого беккроссного отбора и созданы линии-доноры, содержащие единичные гены и пирамиды генов устойчивости к листовой ржавчине, линии мягкой пшеницы с модифицированным соотношением амилозы и амилопектина. Используя методы экологической селекции и ДНК- маркирования удалось создать новые сорта мягкой пшеницы с высокой адаптивностью и урожайностью зерна, устойчивостью к болезням пшеницы.

Особая ценность проведенных исследований заключается в том, что автором впервые, с применением комплекса селекционных, цитологических, цитогенетических и молекулярных методов, изучены 343 новых интрогрессивных линий мягкой пшеницы с генетическим материалом *T. miguschovae*, *Ae. speltoides*, *Ae. umbellulata*. Получены новые знания о генетическом полиморфизме изученного материала и выделены линии с хозяйственно ценными признаками. Установлены ранее неизвестный механизм передачи генетического материала от синтетических форм, который в большинстве случаев происходит посредством транслокаций и их комбинацией с замещением целых хромосом. В процессе исследований автором были впервые идентифицированы новые хромосомные замещения и транслокации, а также получены новые транслокации, получены данные свидетельствующие о наличии у них генов хозяйственно-ценных признаков на основе данных ДНК-анализа, выявлены линии, предположительно 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. Получены линии мягкой пшеницы с модифицированным соотношением амилозы и амилопектина, несущие нуль-аллели *Wx*-генов. Совместно с селекционерами отдела селекции и семеноводства пшеницы и тритикале НЦЗ созданы новые сорта мягкой пшеницы Вызов, Кулич и Данко.

Результаты, полученные Давоян Э.Р в настоящей работе, доказывают высокую эффективность создания и вовлечения в селекционный процесс синтетических форм для расширения генетического полиморфизма мягкой пшеницы за счет генофонда ее диких сородичей. Достоверность изложенного в диссертации материала подтверждается результатами статистического, цитологического, генетического анализов, проведенных на высоком

качественном и профессиональном уровне. Выводы изложены лаконичным и доступным языком и соответствуют поставленной цели и задачам исследований. Материалы исследований доложены на 14 Международных научно-практических конференциях и опубликованы в 82 публикациях, среди которых 22 входят в рецензируемые издания ВАК, 12 – в базу данных SCOPUS. Эффективность применения результатов исследований в селекционной практике подтверждается созданием автором новых сортов альтернативного образа жизни Вызов и сорта яровой мягкой пшеницы Кулич и Данко, переданных на Государственное сортоиспытание. Новизна исследований позволяет расширить знания в области практического использования возможностей расширения генетического полиморфизма мягкой пшеницы за счет генофонда ее диких сородичей.

Несмотря на высокое качество исполнения научных исследований и оформление диссертационной работы, имеются некоторые замечания, в целом не снижающие ее научного и практического значения.

1. В результатах анализа мейоза у интрогрессивных линий не указаны значения частоты тривалентов и квадрилентов, тогда как в тексте есть упоминание об их присутствии. Необходимо уточнить отсутствуют ли таковые вообще или они имеют несущественные значения?

2. Одной из задач цитогенетических и молекулярно-цитологических методов исследований является оценка участия в гомеологичных ассоциациях различных хромосом и их плеч. Результаты работы были бы более полными, если бы автор конкретизировал какие хромосомы или плечи хромосом наиболее часто участвуют в межхромосомных перестройках.

3. В разделе 3.3.1. глава 3 соискателем перечислены гены, переданные мягкой пшенице от дикорастущих видов, однако при ДНК-анализе синтетических форм Авродес, *T. migushovae* и далее интрогрессивных линий отсутствует информация об идентификации в них маркеров, сцепленных с генами: *Lr36* переданного от *Ae. speltoides*, *Lr22a*, *Lr42* - от *Ae. tauschii* и *Lr18* - от *T. timopheevi*.

4. Для более детальной характеристики модельных объектов следовало показать их дифференцирование по группам спелости.

Диссертационная работа Давоян Эдварда Румиковича по своей актуальности и разработанности поставленной цели, новизне полученных результатов и их достоверности имеет теоретическую и практическую значимость в решении задач, стоящими перед отечественной селекцией, семеноводством и биотехнологией сельскохозяйственных растений. Полученные научные и практические результаты имеют новизну и

значимость для улучшения селекционно-семеноводческой практики и совершенствования биотехнологических методов колосовых культур. По исполнению, оформлению и изложению научных результатов проведенных исследований диссертационная работа Давоян Эдварда Румиковича соответствует требованиям ВАК, предъявляемых диссертационным исследованиям, а ее автор заслуживает присуждения искомой ученой степени доктора биологических наук по специальности 4.1.2 - Селекция, семеноводство и биотехнология растений.

Официальный оппонент, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник отдела генетических ресурсов крупяных культур Федерального исследовательского центра «Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова» (ВИР).



Хатефов Эдуард Балилович.

Адрес: 190000. Россия. Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44. ВИР.

Телефон: 89650352427, E-mail: haed1967@rambler.ru



Подпись Хатефова Э.Б.
УДОСТОВЕРЯЕТСЯ
Зав. канцелярией ВИР


Журавлов Н.И.

ОТЗЫВ

официального оппонента 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 учёной степени доктора биологических наук по специальности 4.1.2 – селекция, семеноводство и биотехнология растений

Главным продовольственным видом пшеницы в мире является пшеница мягкая (*Triticum aestivum* L.). И в связи с ростом населения планеты перед мировым сельским хозяйством стоит задача непрерывного увеличения производства зерна этой культуры примерно на 2 % в год. При этом текущий рост урожайности этой культуры во всем мире составляет не превышает 0,9 % в год, в том числе из-за почти полного исчерпания внутривидового генофонда признаков. В особенности это касается недостаточного разнообразия известных генов устойчивости к болезням, которые являются одним из лимитирующих факторов селекции.

Одним из существенных путей дальнейшего улучшения пшеницы мягкой по хозяйственно ценным признакам во всём мире является интрогрессия ценных аллелей, генов или генных комплексов из других родственных видов и даже родов. Однако существенным сдерживающим фактором таких межвидовых и межродовых интрогрессий является ограничение или полная неспособность к конъюгациям с гомеологичными фрагментами пшеничного хроматина при прямом скрещивании. Для решения таких проблем необходимо использование специальных приёмов хромосомной инженерии с тем, чтобы имеющееся генетическое разнообразие преобразовать в формы, пригодные для использования в традиционной селекции.

Одним из таких методов является создание синтетических геномно-замещённых, геномно-добавленных и рекомбинантных форм, которые могут использоваться в качестве «мостиков» для передачи пшенице мягкой генетического материала от дикорастущих сородичей. Всестороннее изучение цитологическими и молекулярными методами полученных с помощью «мостиков» интрогрессивных линий позволит определить закономерности передачи чужеродной генетической информации пшенице мягкой, и наиболее приемлемые пути их использования в селекционной практике. Поэтому дальнейший прогресс в селекции пшеницы мягкой может быть обеспечен использованием геномных, хромосомных, клеточных, ДНК-технологий, существенно расширяющих возможности традиционных селекционных технологий.

В связи с этим данное диссертационное исследование, посвящённое интеграции ДНК-маркеров в классическую селекцию пшеницы мягкой в виде объединения традиционных методов селекции с геномными инструментами и подходами, позволяющее вывести селекцию растений на новый этап селекционной результативности, не вызывает сомнений в его **актуальности**.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации, их достоверность и новизна

Анализ основных положений и выводов диссертационной работы Э. Р. Давояна свидетельствует о её теоретической обоснованности, достоверности и практической значимости.

К научной новизне результатов диссертации следует отнести изучение с применением комплекса селекционных, цитологических, цитогенетических и молекулярных методов 343 новых интрогрессивных линий пшеницы мягкой с генетическим материалом *T. miguschovae*, *Ae. speltoides*, *Ae. umbellulata*, позволившее установить, что полученные линии имеют широкий полиморфизм по хозяйственно-биологическим признакам. Выделены линии с высоким содержанием белка и клейковины в зерне, а также линии, сочетающие групповую устойчивость к трём и более болезням, с хорошими морфологическими признаками и биологическими свойствами.

Цитологическими, цитогенетическими и молекулярно-цитогенетическими (FISH) методами выявлено, что передача генетического материала от синтетических форм может осуществляться как посредством транслокаций и замещения целых хромосом, так и их комбинаций. Впервые получены и изучены интрогрессивные линии на основе синтетической рекомбинантной формы RS7, сочетающей хромосомы от *Ae. speltoides* и *Ae. umbellulata* (BBAASU). Впервые отобраны линии, у которых обнаружен генетический материал одновременно от двух разных дикорастущих видов.

Впервые дана оценка генетического разнообразия отобранных интрогрессивных линий по наличию молекулярных маркеров, сцепленных с генами, определяющими устойчивость к листовой ржавчине (*Lr*), редукции высоты (*Rht*), определяющими время колошения (*Vrn*) и потребность в яровизации (*Ppd*), характеризующими аллельное состояние генов (*Wx*) и определяющих состав крахмала.

Выявлено различие линий по генам, обуславливающим устойчивость к листовой ржавчине. Установлено, что устойчивость у линий контролируется за счёт присутствия как единичных, так и комплексов генов, при этом некоторые из них могут нести новые эффективные гены.

Разработана схема маркер-контролируемого беккроссного отбора, с применением которой получены линии-доноры, содержащие единичные и пирамиды двух, трёх генов устойчивости к листовой ржавчине. Получены линии пшеницы мягкой с модифицированным соотношением амилозы и амилопектина, несущие нуль-аллели *Wx*-генов. Отобраны растения F₂, несущие маркеры *Xgwm533* и *Xgwm493*, сцепленные с локусом устойчивости к фузариозу колоса QFhs.ndsu-3BS, имеющие хорошую оценку по степени поражения зерна. В линиях пшеницы мягкой альтернативного образа жизни выявлено высокое генетическое разнообразие гаплотипов согласно идентифицированным аллелям генов *Vrn-1* и *Ppd-1*. С применением методов экологической селекции и ДНК-маркирования созданы новые сорта пшеницы мягкой: сорт двуручка Вызов, яровые сорта Кулич и Данко.

Значимость полученных результатов для науки и практики

Результаты, полученные автором настоящей диссертационной работы, показывают высокую эффективность создания и использования синтетических, геномно-замещённых, геномно-добавленных и рекомбинантных форм для решения фундаментальной задачи – расширения генетического разнообразия пшеницы мягкой за счёт генофонда ее дикорастущих сородичей.

С помощью комплекса цитологических, цитогенетических и молекулярных методов отобраны интрогрессивные линии пшеницы с новыми транслокациями и замещёнными хромосомами, которые могут служить в качестве новых доноров устойчивости к комплексу грибных болезней, повышенного содержания белка и клейковины, улучшенных технологических свойств зерна. Получены линии-доноры генов устойчивости к листовой ржавчине, отобраны линии пшеницы мягкой с изменённым составом крахмала.

Созданы и переданы на Государственное сортоиспытание сорт пшеницы мягкой альтернативного образа жизни Вызов, сорта яровой пшеницы мягкой Кулич и Данко, несущие комплекс ценных хозяйственно-биологические признаков и свойств, которые позволят расширить возможности производства в условиях, неблагоприятных для возделывания озимых сортов пшеницы мягкой.

Структура и объём диссертационной работы

Диссертационная работа состоит из введения, 5 глав, заключения, практических рекомендаций, списка литературы и 18 приложений. Она изложена на 402 страницах текста компьютерной вёрстки и содержит 64 таблицы и 53 рисунка. Список использованной литературы включает 674 источника, в том числе 586 – иностранных авторов.

Диссертация Е. Р. Давояна обладает структурной целостностью и логической завершённостью, содержит подробный анализ включённых в исследова-

ния синтетических форм Авродес, Авролата, *T. miguschovae*, RS1, RS6 и RS7, являющихся эффективными «мостиками» для передачи генетического материала от дикорастущих сородичей пшеницы мягкой; полученных с их применением интрогрессивных линий, отличающихся генетическим разнообразием, обладающих рядом ценных признаков, и представляющих большой интерес для селекции пшеницы мягкой; синтетических геномно-замещённых, геномно-добавленных и рекомбинантных форм, позволяющих существенно реконструировать геном пшеницы мягкой. Также приведена подробная характеристика сортов пшеницы мягкой, созданных с использованием методов экологической селекции и ДНК-маркирования.

Обоснованность и достоверность содержащихся в работе научных положений, выводов и рекомендаций подтверждается.

Исследования проводились в 2001–2021 гг. в отделе биотехнологии, отдела селекции и семеноводства пшеницы и тритикале НЦЗ им. П.П. Лукьяненко, г. Краснодар; лаборатории функциональной морфологии хромосом Института молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, г. Москва; в лаборатории молекулярной генетики и цитогенетики растений ИЦиГ СО РАН, г. Новосибирск; в лаборатории прикладной геномики и частной селекции сельскохозяйственных растений ФГБНУ ВНИИСБ, г. Москва.

Методический уровень выполненных соискателем исследований высокий. Автор подробно описал методические условия проведения исследований, что даёт возможность ясно представить ход их выполнения. Техника и методика проведения исследований замечаний и возражений не вызывают.

Материалы диссертации прошли апробацию на 17 научных форумах регионального, федерального и международного уровня. Основные результаты исследований, полученные соискателем, опубликованы в 82 научных работах, в том числе – в 22 научных статьях, опубликованных в научных журналах из перечня изданий, рекомендованных ВАК РФ, в 12 научных статьях в изданиях из международной базы Scopus.

Наиболее значимые рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационной работы

Для передачи пшенице мягкой ценных признаков от дикорастущих видов *Ae. speltoide*, *Ae. umbellulata*, *T. militinae*, *Ae. tauschii* рекомендуется использовать синтетические формы Авродес, Авролата, *T. miguschovae*, RS1, RS6 и RS7.

В селекционные программы включать изученные интрогрессивные линии в качестве источников комплексной устойчивости к болезням, как доноры высокого содержания белка и клейковины, улучшенных хлебопекарных качеств.

Практический интерес для селекционно-генетических и молекулярно-генетических исследований представляют линии с выявленными чужеродными замещениями и транслокациями, а также линии, у которых идентифицированы ранее неизвестные межхромосомные перестройки.

Полученные с помощью MAS-технологии линии КЛ.88-17и КЛ.89-1, несущие нуль-аллель *Wx-A1b*, КЛ.92-28с нуль-аллелями *Wx-A1b* и *Wx-D1b*, а также КЛ.92-32 с нуль-аллелем *Wx-B1b* представляют интерес для селекционных программ, направленных на улучшение технологических качеств зерна и получение сортов с новыми свойствами крахмала.

Созданные и переданные на Государственное сортоиспытание сорта пшеницы мягкой Вызов альтернативного образа жизни, и сорта яровой пшеницы мягкой Кулич и Данко, несущие комплекс ценных хозяйственно-биологические признаков и свойств, которые позволят расширить возможности производства в условиях, неблагоприятных для возделывания озимых сортов пшеницы мягкой.

Замечания по диссертационной работе

Оценивая, в целом, положительно рецензируемую диссертацию, считаю необходимым отметить её некоторые недостатки:

1. В диссертации и автореферате, за редким исключением, знаки обозначения процента «%» и градуса Цельсия «°C», в нарушение ГОСТ 8.417-2002, п.8., приведены после цифровых значений без обязательного пробела – «10%» вместо «10 %», или «20°C», вместо «20 °C».

2. По всему тексту диссертации и в автореферате, а также в названии работы, вид изучаемой культуры записан как «*мягкая пшеница*». Согласно действующим правилам Международного кодекса номенклатуры водорослей, грибов и растений (МКН) для названий биологических видов используется бинарная структура, где первым упоминается имя рода – «*пшеница*», а вторым видовой эпитет – «*мягкая*». Поэтому на основе МКН, определяющего правила записи таксономических названий корректнее было записывать названия изучаемого вида пшеницы как: «*пшеница мягкая*».

3. На стр. 21, 22 и 23 сказано, что гексаплоидная пшеница образовалась с участием тетраплоидного вида *T. turgidum*, и дана ссылка на рис. 1 на стр. 22. Однако на рис. 1 *T. turgidum*, как предок пшеницы мягкой *T. aestivum*, не приведён. Вместо него указан тетраплоидный вид *T. dicoccum*.

4. На стр. 21 приведена ссылка на источник: Dvorak et al., 1998. В списке литературы публикация этого автора с годом издания 1998, отсутствует.

5. На стр. 227 в отношении преодоления устойчивости к листовой ржавчине у ранее устойчивых форм пшеницы употреблён не совсем корректный словесный оборот. Там сказано, что «*вирулентность к гену Lr9 отмечается*

...». Вирулентность – это способность патогена вызывать болезнь организма-хозяина. Возбудитель листовой ржавчины может проявлять вирулентность только к растению, и никак не может проявлять вирулентность непосредственно к гену, кодирующему устойчивость или иммунитет к болезни.

6. В Заключении к Главе 5 на стр. 278 и 279 диссертации, и на стр. 34 автореферата сорт пшеницы мягкой Вызов указан как сорт факультативного образа жизни. В Выводах диссертации на стр. 287 и 288, и в автореферате на стр. 36 этот сорт назван сортом альтернативного типа. При этом термины «факультативный» и «альтернативный» семантически не синонимичны.

7. В разделе «Заключение» диссертации на стр. 284, 2 абз., написано: «Таким образом, сочетание гаплоидных технологий с MAS позволяет значительно ускорить селекционный процесс и сократить сроки создания нового сорта». Однако включение этого фрагмента в текст Заключения не обосновано, поскольку собственные экспериментальные исследования автора в диссертации не представлены.

8. В тексте диссертации на стр. 71, 78, 82, 93, 94, 150 и т.д. употреблён сомнительный термин «зародышевая плазма». Под термином «зародышевая плазма» по контексту понимались генотипы, генетические ресурсы и коллекции видов пшеницы и эгилопса. Поэтому употреблённое на стр. 78 словосочетание «... коллекций зародышевой плазмы пшеницы...», уже является излишним дублированием терминологического смысла. Этот термин является прямым переводом английского термина «*germplasm*», и, к сожалению, довольно распространён в отечественных молекулярно-генетических работах, особенно пользовавшихся англоязычными первоисточниками. Сам термин «зародышевая плазма» был предложен Августом Вейсманом ещё в конце 19 века, но после создания в 1915 году Томасом Морганом хромосомной теории наследственности потерял актуальность и устарел, поскольку неопределённое наследственное вещество по Вейсману в виде некоей «плазмы зародышей» было конкретизировано в виде хромосом у Моргану. Тем не менее, в современной англоязычной литературе морально устаревший термин «зародышевая плазма» продолжает использоваться, хотя его семантическая актуальность в современной генетике сомнительна, и эквивалентна использованию устаревших терминов типа «земляные орехи» в отношении бобов и семян арахиса из сем. Бобовые, или «какао-бобы» в отношении семян древесного растения какао из сем. Мальвовые.

Однако, в целом, все отмеченные недостатки носят частный характер, не снижают ценности и значимости диссертации, и не влияют на общую положительную оценку работы.

ОТЗЫВ

официального оппонента о диссертационной работе Давояна Эдварда Румиковича «Создание нового, генетически разнообразного исходного материала для селекции мягкой пшеницы на основе методов хромосомной инженерии и ДНК-маркирования», представленной на соискание учёной степени доктора биологических наук по специальности 4.1.2 – Селекция, семеноводство и биотехнология растений

1. Актуальность темы исследования. Диссертационная работа Давояна Э.Р. посвящена созданию нового, генетически разнообразного исходного материала для селекции мягкой пшеницы на основе методов хромосомной инженерии и ДНК-маркирования. Для достижения поставленной цели автор использовал две стратегии, использование генофонда диких сородичей культурной пшеницы и перенос генов, определяющих хозяйственно ценный признак в коммерческие сорта с помощью возвратного скрещивания.

Поскольку диссертационная работа вносит весомый вклад в селекцию мягкой пшеницы и её результаты позволили получить интрогрессивные линии с применением синтетических форм Авродес, *T. miguscchovae*, RS1, RS6, RS7 отличающиеся большим генетическим разнообразием; реконструировать геном мягкой пшеницы; отобрать линии с генами устойчивости к листовой ржавчине; выбрать оптимальную схему маркер-контролируемого беккрасса; создать сорта мягкой пшеницы с использованием методов экологической селекции и ДНК-маркирования, тема исследований несомненно является актуальной.

2. Структура диссертации. Диссертационная работа Давояна Э.Р. изложена на 402 страницах: содержит введение с указанием актуальности, научной и практической значимости; обзор литературы, описание условий, материалов и методов исследования, 3 главы с экспериментальными результатами и их интерпретацией; выводы и рекомендации для селекционной практики; иллюстративный материал представлен 53 рисунками и 64 таблицами; библиография содержит 226 источников, из которых 586 на иностранном языке.

3. Научная новизна результатов работы. Следует отметить, что соискателем впервые изучены 343 новые интрогрессивные линии мягкой пшеницы с генетическим материалом её диких сородичей. Выделены линии с высоким содержанием белка и клейковины в зерне, устойчивые к болезням, с хорошими морфологическими признаками и биологическими свойствами. Установлено, что передача генетического материала от синтетических форм в большинстве случаев происходит посредством транслокаций и их комбинацией с замещением целых хромосом. Выявлены ранее неизвестные транслокации и замещение хромосом.

Впервые проведён ДНК-анализ созданных интрогрессивных линий, позволивший выделить линии, предположительно несущие новые гены устойчивости к листовой ржавчине, редукции высоты, определяющими

время колошения и потребность в яровизации, характеризующими аллельное состояние генов и определяющих состав крахмала.

Выявлено различие линий по генам, обуславливающим устойчивость к листовой ржавчине.

Разработана схема маркер-контролируемого беккроссового отбора, с применением которой получены линии-доноры, содержащие гены устойчивости к листовой ржавчине.

С применением методов экологической селекции и ДНК-маркирования созданы новые сорта пшеницы: сорт двуручка Вызов, яровые сорта Кулич и Данко.

4. Степень достоверности экспериментального материала и приводимых положений обусловлена многолетними исследованиями, использованием методов ДНК-маркирования, цитологического анализа и адекватной статистической обработкой материала, что соответственно, позволило соискателю оценить изменчивость образцов мягкой пшеницы.

5. Практическая значимость диссертационной работы Давоян Э.Р. обусловлена следующим. Автором доказана высокая эффективность создания и использования синтетических, геномно-замещённых, геномно-добавленных и рекомбинантных форм для расширения генетического разнообразия мягкой пшеницы за счёт генофонда её дикорастущих сородичей.

Отобраны интрогрессивные линии с новыми транслокациями и замещёнными хромосомами от различных видов диких сородичей. Получены линии-доноры генов устойчивости к листовой ржавчине, отобраны линии мягкой пшеницы с изменённым составом крахмала. Созданы высокоадаптивные сорта мягкой пшеницы, несущие комплекс ценных хозяйственно ценных признаков и свойств.

Линии с идентифицированными аллелями генов *Lr9*, *Lr19*, *Lr24*, *Lr37*, *Wx* интенсивно вовлекаются в селекционный процесс. Переданы на Государственное сортоиспытание сорта Вызов, Кулич и Данко.

6. Достоинства работы и замечания. К достоинствам работы Давояна Э.Р. следует отнести логическую последовательность изложения и профессиональную грамотность.

В первой главе диссертационной работы Э.Р. Давоян приводит обстоятельный обзор литературы. На основании литературных данных он приводит сведения о происхождении мягкой пшеницы, её биологических и генетических особенностях, использовании генофонда диких сородичей для улучшения мягкой пшеницы, методах переноса генетического материала от диких сородичей, практическом применении чужеродных интрогрессий и их влиянии на морфологические признаки и биологические свойства мягкой пшеницы, цитологических и цитогенетических методах изучения хромосомных перестроек в геноме пшеницы, применении диагностических ДНК-маркеров для идентификации ценных признаков мягкой пшеницы, достижениях в улучшении мягкой пшеницы при применении MAS и перспективах применения ДНК-маркеров в селекции растений.

Вторая глава посвящена условиям, материалу и методам проведения исследований. Очень подробно описаны растительный материал, методы передачи чужеродного генетического материала, методы оценки и отбора перспективных линий, гибридологический анализ устойчивости пшеницы к листовой ржавчине, цитологические методы исследований, метод дифференциального окрашивания хромосом (C-banding), генотипирование методом FISH, молекулярные методы анализа, методы статистического анализа данных.

Третья глава диссертации посвящена селекционно-генетическому изучению интрогрессивных линий пшеницы. Автором приводится хозяйственно-биологическая оценка интрогрессивных линий пригодных для практической селекции. Изучена устойчивость интрогрессивных линий к болезням. У многих линий выявлена групповая устойчивость к основным болезням пшеницы. Из 343 изученных линий – 77 оказались устойчивы к четырём болезням, 120 – к трём и 82 – к двум болезням. По полученным данным Давояном Э.Р. выдвинуто предположение о передаче блоком сцепленных генов от синтетических форм устойчивости к болезням.

Проведено изучение интрогрессивных линий по устойчивости к листовой ржавчине на фоне искусственного и естественного заражения патогеном. Мониторинг селекционного материала показал, что 89 % линий в разной степени несёт устойчивость к листовой ржавчине. Разнообразие линий по степени устойчивости может свидетельствовать о различии переданного им чужеродного генетического материала, что говорит о наличии у них разных генов устойчивости к листовой ржавчине. По итогам гибридологического анализа автор делает вывод, что гены устойчивости к листовой ржавчине у исследуемых линий различаются между собой и, за исключением линии МБ/6, отличаются от переданных эффективных генов *Lr39*, *Lr50*, *Lr35* и *Lr36*, наличие которых предполагалось исходя из их происхождения.

Проведена оценка интрогрессивных линий по морфологическим признакам и биологическим свойствам. Установлено, что линия МБ/25 представляет особую ценность для селекции сортов с укороченным периодом вегетации.

Проведена оценка ретрогрессивных линий по элементам продуктивности. В результате проделанной работы выделено 14 линий, превышающих по отдельным элементам продуктивности стандартный сорт Краснодарская 99. Все отобранные линии были устойчивы к листовой ржавчине.

Проведена оценка интрогрессивных линий по содержанию белка и клейковины. Выделены 10 линий, имеющие лучшие относительно сорта Краснодарская 99, значения по отдельным компонентам урожайности и при этом обладающие высоким содержанием белка и клейковины.

Проведена оценка интрогрессивных линий по технологическим свойствам и хлебопекарным качествам. Семь изученных линий по объёмному выходу хлеба превысили по этому показателю сорт Безостая 1.

Давоян Э.Р. активно использовал цитологические, цитогенетические и молекулярно-цитогенетические методы изучения интрогрессивных линий.

В частности, он провёл изучение цитологической стабильности интрогрессивных линий. В результате анализа выявлено, что за исключением линии МК/27 являются цитологически стабильными.

Проведено определение формы передачи генетического материала *T. miguschovae*, *Ae. speltoides*, *Ae. umbellulata*, *Ae. taushii* в интрогрессивных линиях. Установлено, что передача генетического материала от используемых синтетических форм в основном происходит посредством отдельных транслокаций и их комбинаций с замещением хромосом, в то же время в определённых случаях она может осуществляться с помощью гомеологичной рекомбинации.

Проведено изучение интрогрессивных линий методом дифференциальной окраски хромосом. Установлено, что передача генетического материала от рекомбинантных синтетических форм RS1 и RS7 происходит в форме отдельных транслокаций и замещённых хромосом, а также их комбинаций.

Проведено генотипирование интрогрессивных линий мягкой пшеницы методом флуоресцентной *in situ* гибридизации (FISH). В изучаемом материале было выявлено от одной до восьми интрогрессий. Наибольшее число хромосомных перестроек идентифицировано в линиях SU/9 и SU/14. Чаще всего генетический материал передавался в форме транслокаций.

Давоян Э.Р. применил ДНК-маркеры для изучения аллельного разнообразия интрогрессивных линий по генам хозяйственно ценных признаков.

Проведена идентификация ДНК-маркеров, сцепленных с генами устойчивости к листовой ржавчине в образцах видов рода *Aegilops* и синтетических формах Аврората, Авродес и *T. miguschovae*. Установлено, что рекомбинантные синтетические формы RS1, RS6, RS7 могут нести гены устойчивости к листовой ржавчине *Lr35*, *Lr28*, *Lr51*, *Lr39*, *Lr9*.

Проведена идентификация ДНК-маркеров, сцепленных с генами устойчивости к листовой ржавчине в интрогрессивных линиях мягкой пшеницы. Отобраны линии с комбинацией 2, 3, 4 и 5 генов устойчивости.

Проведено изучение аллельных вариантов генов короткостебельности у интрогрессивных линий мягкой пшеницы. С помощью ДНК-маркеров удалось определить различные аллельные состояния генов короткостебельности в генотипах интрогрессивных линий. Гены короткостебельности могут быть переданы в линии как от сортов-реципиентов, так и от синтетических форм.

Проведено изучение интрогрессивных линий мягкой пшеницы по аллельным вариантам *Wx*-генов. В результате проведённой работы с помощью молекулярных маркеров выявлено, что у большинства изученных линий присутствуют типичные для мягкой пшеницы аллели дикого типа. Молекулярные маркеры, разработанные для выявления нуль-аллелей по генам *Wx*, могут быть использованы в маркер-опосредованной селекции.

Проведена оценка аллельного разнообразия генов *Vrn-1* ответственных за время колошения и изучено аллельное состояние генов *Ppd-D1* ответственных за чувствительность растений к длине дня у интрогрессивных линий мягкой пшеницы. В ряде случаев у синтетических форм и производных от них линий наблюдалось отсутствие амплификации при проведении ПЦР, что автор диссертации объясняет отсутствием некоторых хромосом или их замещением на гомологичные хромосомы.

В четвёртой главе рассматривается применение селекции с помощью молекулярных маркеров (MAS) для создания исходного материала мягкой пшеницы с заданными качествами.

Рассматривается использование молекулярных маркеров в селекции пшеницы на устойчивость к листовой ржавчине. Для решения этой задачи Давоян Э.Р. провёл генотипирование сортов мягкой пшеницы на присутствие ДНК-маркеров, сцепленных с генами устойчивости к листовой ржавчине. Установлено, что в изученных сортах преобладают утративший эффективность ген *Lr10*, а также слабоэффективные *Lr26* и *Lr34*. Дана рекомендация использовать ген устойчивости взрослых растений *Lr37*.

Рассматривается передача генов *Lr9*, *Lr19*, *Lr24* и *Lr37* в сорта мягкой пшеницы посредством маркер контролируемого беккрасса. Отобранные автором для исследования ДНК-маркеры, позволяют с высокой точностью отбирать линии, содержащие гены устойчивости и тем самым могут эффективно использоваться в MAS. Полученные с помощью маркер-опосредованного беккрасса линии с единичными генами *Lr* рекомендованы для использования в лекционных программах в качестве ценного исходного материала при создании устойчивых к листовой ржавчине сортов мягкой пшеницы.

Давоян Э.Р. принимал участие в создании исходного материала с объединением нескольких генов устойчивости к листовой ржавчине. С помощью маркер-опосредованного беккрасса получены новые линии с комбинациями *Lr*-генов. Отобрано 7 линий с комбинацией двух генов и одна с пирамидой трёх генов *Lr*.

Изучена передача локусов специфической устойчивости к фузариозу колоса от Sumai 3 в коммерческие сорта НЦЗ им. П.П. Лукьяненко. Удалось отобрать растения второго поколения несущие маркеры *Xgwm493* и *Xgwin533* с хорошей оценкой по степени устойчивости к фузариозу.

Изучена передача нуль-аллелей генов *Wx* в сорта мягкой пшеницы. Отобран ценный исходный материал для селекции мягкой пшеницы с улучшенными технологическими качествами зерна, который на данный момент изучается в различных селекционных питомниках.

Проведено изучение аллельного состава генов *Vrn-1* и *Ppd-1* у линий мягкой пшеницы. В линиях двуручки выявлено генетическое разнообразие по аллелям генов *Vrn-1* и *Ppd-1*. Отобранные для скрининга ДНК-маркеры позволили идентифицировать аллельные комбинации генов *Vrn* и *Ppd* в различном селекционном материале. Это позволит селекционерам вовлекать в селекцию исходный материал с известным адаптационным потенциалом.

Пятая глава посвящена работе по созданию новых сортов мягкой пшеницы Данко, Кулич, Вызов. Автором приведена общая характеристика новых сортов мягкой пшеницы. Изучены сроки созревания и продолжительность вегетационного периода, показатели продуктивности, мукомольные и хлебопекарные качества, устойчивость к основным болезням у новых сортов мягкой пшеницы. Проведено генотипирование новых сортов с применением ДНК-маркеров, сцепленных с ценными для мягкой пшеницы генами.

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.

Работы Давояна Э.Р. широко известны на уровне региона и России. Основные положения работы докладывались на научно-практических конференциях различного ранга. По результатам исследований автором опубликованы 82 научные работы, в том числе 22 работы в изданиях, рекомендованных ВАК и 12 работ в базе данных SCOPUS. Все публикации посвящены вопросам, поднятым в диссертационной работе, и полностью отражают её основное содержание.

В целом положительно оценивая диссертационную работу Э.Р. Давояна хочу остановиться на некоторых недостатках:

1. В тексте замечены неточности в оглавлении. В подглавах 5.1 (с. 265) и 5.6 (с. 273) в оглавлении пропущена часть названия подглав диссертации.

2. В подглаве 2.1 Растительный материал (с. 102) при перечислении синтетических форм, интрогрессивных линий, сортов, линий и гибридных растений желательно было указать их количество.

3. В подглаве 2.9 Методы статистического анализа (с. 115), указано использование дискриминантного анализа для изучения комплекса признаков и даны ссылки на литературные источники с описанием этого вида анализа. Однако в тексте диссертации отсутствует упоминание об использовании дискриминантного анализа.

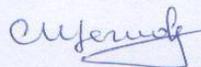
4. В таблице 16 (с. 140) допущена ошибка в результатах дисперсионного анализа. Исходя из значений степеней свободы можно предположить, что в тексте диссертации в таблице поменялись местами строки в колонке «Изменчивость», а именно «Между годами» и «Генотипическая». Это приводит к неправильной интерпретации результатов анализа (на с. 140 и 149). Основным фактором влияния на признак «высота растений» оказывается не генотип (как в диссертации), а условия года возделывания.

Указанные замечания не являются значительными и не снижают качества, научной значимости проведённого диссертационного исследования. Автореферат отражает основное содержание диссертации. Выводы по работе значимы и соответствуют её содержанию.

Считаю, что диссертационная работа Давояна Эдварда Румиковича «Создание нового, генетически разнообразного исходного материала для

селекции мягкой пшеницы на основе методов хромосомной инженерии и ДНК-маркирования» соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям (пп. 9–11, 13, 14 «Положения о присуждении учёных степеней»), а её автор заслуживает присуждения учёной степени доктора биологических по специальности 4.1.2 – Селекция, семеноводство и биотехнология растений.

Официальный оппонент,
профессор кафедры генетики, микробиологии
и биохимии Кубанского государственного
университета, доктор биологических наук

 С.Н. Щеглов

10.10.2022

Щеглов Сергей Николаевич, доктор биологических наук,
профессор кафедры генетики, микробиологии и биохимии
ФГБОУ ВО «Кубанский государственный университет».
Адрес: 350040, г. Краснодар, ул. Ставропольская, 149.
Телефон, факс: +7 (861) 219-95-76. E-mail: bio@kubsu.ru

