

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Дубина Елены Викторовны на тему: «ДНК-технологии (молекулярное маркирование) в селекции риса и семеноводстве овощных культур», представленной на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 06.01.05 – селекция и семеноводство сельскохозяйственных растений

Маркерная селекция значительно упрощает процесс создания сортов и гибридов сельскохозяйственных растений, ускоряя и делая более эффективным отбор желаемых генотипов. Для сравнения, средняя продолжительность селекционных схем, основанных на классических методах гибридизации и отбора растений, для однолетних культур около 10, а для двулетних – 20 лет.

В этой связи актуальность данного диссертационного исследования и его интерес для селекционно-семеноводческой практики не вызывает сомнения.

Основной целью исследования являлась разработка комплексной системы для идентификации генов устойчивости к био- и абиотическим стрессорам, а также для изучения биоразнообразия овощных культур и растительных ресурсов методами молекулярного маркирования.

В рамках поставленных целей диссидентант решил целый ряд технических непростых задач, связанных с выявлением информативных SSR-маркеров и разработке мультипримерных систем для идентификации селекционно важных генов и паспортизации штаммов высоковариабельного грибного фитопатогена *Pyricularia oryzae* Cav.

Автор убедительно показал преимущества молекулярных методов при оценке генетической однородности гибридных семян F1 гетерозисных овощных культур.

В ходе выполнения работы Е.В. Дубина получен исходный селекционный материал риса с генами устойчивости к пирикуляриозу, длительному затоплению, холдоустойчивости для создания сортов, резистентных к данным стрессорам. Кроме того, диссидентантом созданы и переданы в ГСИ сорта риса с интродуцированными и пирамидированными генами *Pi*.

Результатом многолетней работы соискателя по теме исследований стал ряд ценных практических рекомендаций, которые несомненно, найдут свое применение в практике селекции риса и семеноводстве овощных культур.

Одним из важнейших и наиболее перспективных научно-практических результатов работы диссидентанта считаю методическую схему контроля за изменчивостью самого вредоносного во всем мире несовершенного гриба *Pyricularia oryzae* Cav. (*Magnaporthe grisea* (Herbert) Barr) из порядка *Hymomycetales*, что обеспечит фитопатологам вести прогноз появления новых рас и патотипов возбудителя

пирикуляриоза. Это является необходимой теоретической базой для диверсификации и создания генисточников с длительной устойчивостью к заболеванию.

В целом, представляемое исследование считаю законченным научным трудом, вобравшим в себя как серьёзные, научно обоснованные теоретические выводы, так и доказательные экспериментальные данные, основанные на многолетнем практическом опыте.

По теме диссертационной работы Е.В. Дубина опубликовано 95 научных работ, 76 из которых входят в базу РИНЦ, из них 45 статей изданы в реферируемых ВАКом журналах, в том числе 1 научная работа, входит в базу данных статей Web of Sciences и 3 – Scopus; опубликованы 1 методические рекомендации, получены свидетельства на 2 Базы данных и подано 4 заявки на селекционное достижение и патенты.

Считаю, что диссертационная работа Елены Викторовны Дубина «ДНК-технологии (молекулярное маркирование) в селекции риса и семеноводстве овощных культур» соответствует требованиям, предъявляемым к докторским диссертациям (пп. 9-11, 13, 14 «Положения о присуждении ученых степеней»), а её автор заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 06.01.05 – Селекция и семеноводство сельскохозяйственных растений.

12.08.2019 г.

Беспалова Людмила Андреевна, *Л.А.Беспалова*
академик РАН, доктор сельскохозяйственных наук по специальности 06.01.05 – Селекция и семеноводство сельскохозяйственных растений, заведующая отделом селекции и семеноводства пшеницы и тритикале Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Национальный центр зерна им. П.П. Лукьяненко», профессор 350012, Краснодарский край, г. Краснодар, Центральная Усадьба КНИИСХ Тел.: (861) 222-11-20, е-маил: kniish@kniish.ru

Подпись Беспаловой Людмилы Андреевны заверяю:
секретарь Ученого Совета:
ФГБНУ «НЦЗ им. П.П. Лукьяненко»,
к. с.-х. н.



О.Ф. Колесникова

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Дубина Елены Викторовны «ДНК-технологии (молекулярное маркирование) в селекции риса и семеноводстве овощных культур», представленную на соискание учёной степени доктора биологических наук по специальности 06.01.05 – селекция и семеноводство сельскохозяйственных растений

Рис - древнейшая сельскохозяйственная культура. По площади посевов рис занимает второе место, а по валовому сбору зерна - первое место в мире. Болезни сельскохозяйственных культур являются основной причиной снижения урожайности и качества продукции. Самое опасное заболевание на рисовых полях – пирикуляриоз (возбудитель *Pyricularia oryzae* Cav.). Экономический ущерб, наносимый патогеном, огромен во всех мировых зонах выращивания. Поэтому создание устойчивых генотипов с использованием новых биотехнологических и молекулярно-генетических методов имеет большое значение. Актуально в данном направлении использование ДНК – технологий в изучении молекулярно-генетической структуры фитопатогенов для разработки стратегии иммуногенетической защиты от болезней, а также в семеноводстве «гетерозисных» культур при определении уровня гибридности.

Целью исследований является разработка на основе методов молекулярного маркирования комплексной системы идентификации генов устойчивости к био-и абиотическим стрессорам у риса для ускоренной селекции, а также для изучения генетической структуры грибного фитопатогена *Pyricularia oryzae* Cav., и оценки уровня гибридности овощных культур для их использования в семеноводстве.

Научная новизна исследований, заключается в создании новых отечественных сортов риса с устойчивостью к – пирикуляриозу. Созданы сорта: ‘Альянс’, ‘Ленарис’, ‘Капитан’ с геном устойчивости Pi-ta; ‘Пируэт’ с тремя генами устойчивости Pi-l; Pi-2; Pi-33, ‘Пентаген’ с пятью генами устойчивости к – пирикуляриозу Pi-l; Pi-2; Pi-33 Pi-ta; Pi-b. Выведены и подготовлены для передачи в Госсортонспытание линии риса: КП-575; КП-153; КП-154 с геном Pi-2, также получено более 1500 селекционных форм риса с генами резистентности к пирикуляриозу.

В первые разработаны мультиприимерные системы для идентификации двух генов устойчивости к пирикуляриозу, что позволяет в течение одной ПЦР определить два гена устойчивости к патогену, что повышает эффективность используемого метода.

Для селекционных программ по созданию устойчивых геноресурсов риса на юге России определены эффективные гены резистентности к пирикуляриозу.

Проведена большая работа по паспортизации штампов патогена *P. oryzae* для юга России. Создана база данных ДНК-локусов «Штаммы патогенов *Pyricularia oryzae* Cav. Юга России» и получено свидетельство №2019620149 от 24.01.2019г.

В первые в России на основе метода молекулярного маркирования создан селекционный материал риса, который несет в себе гены устойчивости к пирикуляриозу и гены толерантности к длительному затоплению, которое является фактором борьбы с сорной растительностью. Проведен анализ сонаследования SSR-маркера *Sub 1A*203 с геном *Sub 1A*.

Селекционерами совместно с физиологами и биотехнологами создан гибридный материал, устойчивый к низким положительным температурам в период прорастания семян. Отобраны SSR-маркеры RM24545 и RM569, которые показали высокий уровень полиморфизма между устойчивыми и восприимчивыми сортами риса.

На основе методов ПЦР впервые разработана методическая схема контроля генетической однородности семян гибридов F₁ капусты белокочанной и перца сладкого.

Материалы диссертации достаточно полно опубликованы в открытой печати в 65 работах из которых 40 статей опубликованы в журналах, входящих в перечень международных баз данных (WOS и Scopus), получено два свидетельства.

В целом надо отметить, что работа выполнена на высоком теоретическом уровне, изложена последовательно и системно. Экспериментальные исследования выполнены на высоком профессиональном уровне, степень достоверности и обоснованности результатов исследований вытекает из экспериментальных данных, полученных лично автором, и подтвержденных их статистической обработкой. Выводы и рекомендации корректны и целиком отражают результаты исследований.

Считаем, что выполненная Дубина Еленой Викторовной работа «ДНК-технологии (молекулярное маркирование) в селекции риса и семеноводстве овощных культур», соответствует требованиям, предъявляемым к докторским диссертациям (пп. 9-11, 13, 14 «Положения о присуждении ученых степеней»), а её автор заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 06.01.05 – селекция и семеноводство сельскохозяйственных растений.

Рындин Алексей Владимирович
Доктор сельскохозяйственных наук,
Академик Российской академии наук
Заслуженный работник сельского хозяйства Кубани,
Директор
Федерального государственного
бюджетного научного учреждения
«Всероссийский научно-исследовательский
институт цветоводства и субтропических культур»,



Жесеф

Кулян Раиса Васильевна
Кандидат сельскохозяйственных наук,
Ведущий научный сотрудник,
Зав. лаб. селекции плодовых культур отдела СиЮПК
Федерального Государственного
бюджетного научного учреждения
«Всероссийский научно-исследовательский
институт цветоводства и субтропических культур

354002, Россия, Краснодарский край,
г. Сочи, ул. Яна Фабрициуса, 2/28,
тел. (862) 296-40-21, e-mail: subplod@mail.ru

Подпись Рындина Алексея Владимировича и
Кулян Раисы Васильевны заверяю

Слепченко Наталья Александровна
Кандидат биологических наук
Учёный секретарь Федерального государственного
бюджетного научного учреждения
«Всероссийский научно-исследовательский
институт цветоводства и субтропических культур».



«15» августа 2019 год

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Дубина Елены Викторовны на тему: «ДНК-технологии (молекулярное маркирование) в селекции риса и семеноводстве овощных культур», представленной на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 06.01.05 – селекция и семеноводство сельскохозяйственных растений

Дубина Е.В. на протяжении 12 лет проводила исследования по указанной теме. Главной целью исследований являлась разработка и обоснование эффективности использования молекулярного маркирования в селекции и семеноводстве сельскохозяйственных культур и для изучения биоразнообразия самого вредоносного во всех зонах мирового рисосеяния фитопатогена *Pyricularia oryzae* Cav., вызывающего заболевание пирикуляриоз.

Для достижения цели был поставлен ряд задач, с которыми диссертант успешно справился.

Тема диссертации актуальна, так как посвящена использованию маркерной селекции, которая значительно сокращает весь процесс создания высокопродуктивных, адаптивных, с высоким качеством крупы сортов риса.

Наряду с разработкой ряда методических и теоретических вопросов Е.В. Дубина выполнила некоторые работы, имеющие большое практическое значение. Например, созданные ею сорта и линии риса на генетической основе отечественных сортов с интродуцированными и пирамидированными генами устойчивости к пирикуляриозу, а также с генами толерантности к длительному затоплению и устойчивостью к низким положительным температурам в период всходов семян представляют большой интерес для производства и могут использоваться как доноры в селекционных программах по созданию устойчивых генресурсов к данным стрессорам.

На основе разработанной диссидентантом методической схемы контроля генетической однородности семян гибридов F1 капусты белокочанной и перца сладкого с применением методов молекулярного маркирования появляется возможность проводить диагностику сортовой принадлежности и чистоты коммерческих партий гибридных семян в год их производства, что очень важно для оригинатора.

Созданная автором диссертации ДНК-паспортизация штаммов возбудителя пирикуляриоза может использоваться для изучения их генетического сходства с вновь выделенными полевыми штаммами патогена.

Работа Е.В. Дубина является новаторской, она достаточно широко известна научной общественности, так как её результаты многократно докладывались на различных научных конференциях. Основное содержание диссертационной работы опубликовано в 95 научных публикациях, 76 из которых входят в базу РИНЦ, из них 45 статей изданы в реферируемых ВАКом журналах, в том числе 1 научная работа, входит в базу данных статей Web of Sciences и 3 – Scopus; 1 методических рекомендациях, 2-х

свидетельствах на «Базы данных» и 4 заявках на селекционные достижения и патенты.

Диссертация является научно-квалифицированной работой, в которой на основании исследований разработаны теоретические положения и решена крупная проблема, имеющая важное значение для растениеводства.

Выполненная диссертационная работа «ДНК-технологии (молекулярное маркирование) в селекции риса и семеноводстве овощных культур» соответствует требованиям, предъявляемым к докторским диссертациям (пп. 9-11, 13, 14 «Положения о присуждении ученых степеней»), а её автор Елена Викторовна Дубина заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 06.01.05 – Селекция и семеноводство сельскохозяйственных растений.

15.08.2019 г.

Надыкта Владимир Дмитриевич,
доктор технических наук, академик РАН, профессор, главный научный консультант Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт биологической защиты растений».

350039, Россия, г. Краснодар, п/о 39, ВНИИБЗР
Тел.: (861) 228-17-76; e-mail: vnadykta@mail.ru

Подпись Владимира Дмитриевича Надыкты заверяю:
Секретарь Ученого совета ФГБНУ «ВНИИБЗР»,
к.б.н.

Е.А. Есауленко



Отзыв

На автореферат диссертационной работы Дубина Елены Викторовны по теме: «ДНК-технологии (молекулярное маркирование) в селекции риса и семеноводстве овощных культур», представленной на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 06.01.05 – селекция и семеноводство сельскохозяйственных растений.

Диссертационная работа Дубина Елены Викторовны посвящена созданию сортов и линий риса с генами устойчивости к биотическим и абиотическим факторам среды, значительно снижающих затраты рисопроизводителей при их возделывании.

Актуальность представленной к защите научной работы не вызывает сомнений, поскольку она направлена на поиск путей наращивания сельскохозяйственной продукции при сокращении потребления ресурсов и затрат на ускорение селекционного процесса за счет использования новейших биотехнологических подходов и молекулярно-генетических методов.

Цель научной работы – разработать на основе использования методов молекулярного маркирования комплексную систему идентификации генов устойчивости к био- и абиотическим стрессорам риса для ускоренной селекции, а также для изучения генетической структуры гибридного фитопатогена *Pyricularia oryzae* Cav. и оценки уровня гибридности овощных культур для их эффективного семеноводства.

Научная новизна исследований состоит в том, что впервые в селекционной практике риса в Российской Федерации на основе метода молекулярного маркирования создан селекционный материал риса, устойчивый к пирикуляриозу, и гены толерантности к длительному затоплению как фактору борьбы с сорной растительностью. Проведен анализ сонаследование SSR-маркера Sub1A203 с геном *Sub1A*.

Впервые на основе методов ПЦР разработана методическая схема контроля генетической однородности семян гибридов F1 капусты белокочанной (*Brassica oleracea* L.) и перца сладкого (*Capsicum annuum* L.) на образцах коллекции ВНИИ риса.

Автореферат достаточно полно отражает суть проведенных научных исследований, доведенных до практического применения. Представленные в научной работе предложения для практической селекции и семеноводства обоснованы. Работа прошла достаточно широкую апробацию на научно-практических и международных конференциях. Основные результаты научных исследований по диссертации опубликованы в 95 научных работах, из которых 4 статьи опубликованы в журналах, входящих в перечень международных реферативных баз данных (WOS и Scopus), а также 45 статей ВАК РФ и 46 статей в других научных изданиях.

В целом, диссертационная работа Дубина Елены Викторовны является законченной научно-квалифицированной работой. Выполнена она на высоком научно-методическом

уровне. По актуальности, научной новизне, теоретической и практической значимости она соответствует требованиям пп.9 – 11, 13. 14 «Положения о присуждении ученых степеней» ВАК РФ, предъявляемым к докторским диссертациям, а соискатель заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 06.01.05 – селекция и семеноводство сельскохозяйственных растений.

Доктор сельскохозяйственных наук, профессор,
академик РАН, заслуженный деятель науки
Российской Федерации, главный научный сотрудник
Федерального государственного бюджетного
научного учреждения « Всероссийский научно-
исследовательский институт орошаемого земледелия»,
Шифр специальности: 06.01.02 - Мелиорация,
рекультивация и охрана земель»
Кружилин Иван Пантелейевич
400002, Волгоград, ул. им. Тимирязева, 9,
тел. +7 8(8442) 60-24-33, 89023631201,
e-mail: yniioz@yandex.ru;

Кандидат технических наук,
старший научный сотрудник,
зав. сектором орошения риса Федерального
государственного бюджетного
научного учреждения « Всероссийский научно-
исследовательский институт орошаемого земледелия»,
Ганиев Муслим Абдулаевич
400002, Волгоград, ул. им. Тимирязева, 9,
тел. +7 8(8442) 60-24-33;
e-mail: yniioz@yandex.ru;

Подписи Кружилина Ивана Пантелейевича и
Ганиева Муслима Абдулаевича
заверяю: Учёный секретарь
ФГБНУ ВНИИОЗ, к.с.-х.н.

Комарова Ольга Петровна

20 августа 2019 г.



ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Дубина Елены Викторовны на тему: «ДНК-технологии (молекулярное маркирование) в селекции риса и семеноводстве овощных культур», представленной на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 06.01.05 – селекция и семеноводство сельскохозяйственных растений

Представленная Е.В. Дубина диссертационная работа «ДНК-технологии (молекулярное маркирование) в селекции риса и семеноводстве овощных культур» посвящена актуальной проблеме современного сельскохозяйственного производства – созданию сортов риса с хозяйственными признаками и устойчивостью к био- и абиотическим стрессорам, а также изучению генетического разнообразия штаммов грибов и разработке укороченных семеноводческих схем получения гибридных семян овощных культур посредством ДНК-маркирования. Это способствует повышению экономической эффективности селекционного и семеноводческого процессов.

Высоко вредоносным заболеванием для риса является пирикуляриоз. Дубина Е.В. на протяжении 12 лет провела масштабные работы по созданию генресурсов риса, устойчивых к данному стресс-фактору, путём введения в отечественную генплазму генов расоспецифической устойчивости к пирикуляриозу и генов широкого спектра резистентности. Длительная и стабильная устойчивость к заболеванию может быть обеспечена путём объединения данных генов в одном генотипе. Диссертант выполнила программу по пирамидированию целевых генов. Для повышения экономической эффективности маркерной селекции соискателем разработан ряд мультиплексных ПЦР-систем, позволяющих идентифицировать в гибридном материале одновременно два гена резистентности к пирикуляриозу, что значительно удешевляет ДНК-анализы, повышая тем самым экономическую эффективность маркер-опосредованной селекции. Данные системы внедрены в селекционный процесс и на их основе получен исходный материал, который изучается по хозяйственno-ценным признакам в селекционном процессе.

В рисоводстве актуальной проблемой является также засорение производственных посевов сорняками, которые конкурируют с растениями риса за элементы минерального питания, свет и пространство. Соискателем выполнены работы по созданию предселекционных ресурсов с генами толерантности к длительному погружению растений риса под воду *Sub* как фактору борьбы с сорно-полевой растительности в рисовых агроценозах. Диссертант провела интрогрессию данного гена в отечественные сорта риса, имеющие в генотипе гены устойчивости к пирикуляриозу (*Pi*), которые она сама и создала. Для идентификации целевого гена в исходном материале автор путём апробации 71 SSR выявила эффективные кодоминантные микросателлитные маркеры, позволяющие методом электрофореза визуализировать в гибридном материале донорные и рецессивные аллели.

Автором получены формы с совмещенными генами *Sub* и *Pi*. Это позволит совершенствовать способы борьбы с пирикуляриозом и сорняками.

Е.В. Дубина были идентифицированы аллель-специфичные ДНК-маркеры на гены толерантности к низким положительным температурам в период прорастания семян. Они внедрены в селекционный процесс, и на их основе получен исходный материал, который изучается по хозяйственно-ценным признакам. Лучший образец будет передан в ГСИ.

Автором на основе полиморфизма 41 микросателлитного локуса ДНК проведена генетическая паспортизация штаммов патогена *Pyricularia oryzae* Cav., и, в результате, создана база данных, которая может использоваться для изучения и контроля новых выделенных полевых изолятов патогена.

Разработанная Е.В. Дубина схема контроля генетической однородности гибридных семян овощных культур на основе методов молекулярного маркирования может использоваться в практическом семеноводстве гетерозисных культур.

Представленная диссертационная работа, несомненно, обладает высоким уровнем научной новизны, актуальности, имеет высокий уровень практической значимости и соответствует требованиям, предъявляемым к докторским диссертациям (пп. 9-11, 13, 14 «Положения о присуждении ученых степеней»), а сама автор - Дубина Елена Викторовна заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 06.01.05 – селекция и семеноводство сельскохозяйственных растений.

09.08.2019 г.

Шилов Илья Александрович,
доктор биологических наук по специальности 03.00.23 – биотехнология,
заведующий лабораторией анализа геномов
Федерального государственного бюджетного научного учреждения
«Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной
биотехнологии (ФГБНУ «ВНИИСБ»),
профессор РАН

Адрес: 127550 г. Москва, ул. Тимирязевская, д. 42,
тел.: +7(499) 976-65-44, электронный адрес: ishilov@rambler.ru

Подпись Ильи Александровича Шилова заверяю:
Секретарь Учёного совета ФГБНУ «ВНИИСБ»,
кандидат биол. наук

Е.И. Федина



**МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
(МИНОБРНАУКИ РОССИИ)**

**Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Федеральный научный центр агробиотехнологий Дальнего Востока
им. А.К. Чайки»
(ФГБНУ «ФНЦ агробиотехнологий Дальнего Востока им. А.К. Чайки»)**

Воложенина ул., д. 30, пос. Тимирязевский, г. Уссурийск, Приморский край, 692539. Тел. (4234) 39-27-19, факс (4234) 39-24-00.
<http://primnii.ru>; e-mail: fe.smc_rf@mail.ru ОКПО 00668206, ОГРН 1022500864099, ИНН/КПП 2511032119/251101001

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Дубина Елены Викторовны
«ДНК-технологии (молекулярное маркирование) в селекции риса и семено-
водстве овощных культур», представленной на соискание ученой степени
доктора биологических наук по специальности 06.01.05 –
селекция и семеноводство сельскохозяйственных растений

Маркер вспомогательная селекция является мощным современным инструментом повышения эффективности селекционного процесса, что блистательно продемонстрировано диссертационной работой Е.В. Дубина при создании новых перспективных сортов риса, иммунных к пирикуляриозу и селекционного материала, устойчивого к затоплению и пониженным положительным температурам в период прорастания семян. Актуальность исследований в этом направлении в не вызывает сомнения.

Дальневосточным селекционерам хорошо известно большинство публикаций автора автореферата, они взяты на вооружение в нашей работе. Представляет новый интерес информация о двух выявленных информативных SSR-маркерах для идентификации донорных аллелей толерантности к низким положительным температурам.

Судя по автореферату, диссертация имеет достаточно большой объем экспериментальных данных, графического материала и список литературы на соискание ученой степени доктора биологических наук. Текст автореферата логически выстроен, написан грамотным языком. Рисунки и графики информативны, легкодоступны для восприятия.

Замечания в автореферате не отмечены.

Подглава об овощах здесь избыточна. Работа целостана, объемна и является законченной без них. Главным достоинством исследований является практический результат: есть ряд перспективных сортов, устойчивых к пирикуляриозу и ценный селекционный материал.

Высокий научно-методический уровень, актуальность, теоретическая и практическая значимость результатов, аргументированность полученных выводов не вызывают сомнения. Диссертационная работа Дубина Елены Викторовны отвечает требованиям положения «О порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. №842, предъявляемым к докторским диссертациям; автор заслуживает присуждения

ученой степени доктора биологических наук по специальности 06.01.05 – селекция и семеноводство сельскохозяйственных растений.

Илюшко Марина Владиславовна

М. Илюшко

Старший научный сотрудник лаборатории с.-х. биотехнологии
ФГБНУ «ФНЦ агробиотехнологий
Дальнего Востока им. А.К. Чайки»,
кандидат биологических наук по специальности 03.00.05 – ботаника (диплом
КТ №040012),
доцент по кафедре земледелия и растениеводства (Аттестат ДЦ №047271)
Тел. +7 950 28 40 983,
e-mail: ilyushkoiris@mail.ru

Подпись М.В. Илюшко старшего научного сотрудника
лаборатории с.-х. биотехнологии Федерального бюджетного научного учре-
ждения «Федеральный научный центр агробиотехнологий Дальнего Востока
имени А.К. Чайки», кандидата биологических наук, заверяю.
Заместитель директора ФГБНУ «ФНЦА агробиотехнологий
Дальнего Востока им. А.К. Чайки»,
канд. сельскохозяйственных наук

12.08.2019 г.



О.В. Мохань

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Дубина Елены Викторовны на тему:
«ДНК-технологии (молекулярное маркирование) в селекции риса и
семеноводстве овощных культур», представленной на соискание ученой
степени доктора биологических наук по специальности 06.01.05 – селекция
и семеноводство сельскохозяйственных растений

Основной целью диссертационного исследования Е.В. Дубина является разработка комплексной системы идентификации генов устойчивости к био- и абиотическим стрессорам для ускоренной селекции риса, а также изучения генетической структуры грибного фитопатогена *Pyricularia oryzae* Cav. и оценки уровня гибридности овощных культур для их эффективного семеноводства на основе методов молекулярного маркирования.

Прогресс молекулярной генетики дал толчок к развитию различных типов ДНК-маркеров, основанных на анализе полиморфизма нуклеотидной последовательности ДНК. Их использование коренным образом изменило методы селекции и отбора растений с интересующими генами, повысив, тем самым, эффективность селекционных схем, направленных на создание современных сортов сельскохозяйственных культур. Дальнейший прогресс в области ДНК-технологий содействует практическому использованию маркерной селекции, придавая им очевидные преимущества.

В настоящее время уже ни у кого не вызывает сомнения, что маркерное сопровождение селекционного процесса значительно ускоряет и упрощает создание современных сортов и гибридов сельскохозяйственных культур. Это и определят актуальность представленной работы.

Еленой Викторовной на генетической основе районированных отечественных сортов риса с применением современных методов молекулярного маркирования созданы сорта и селекционный материал с интродуцированными и пирамидированными генами устойчивости к пирикуляриозу *Pi-1*, *Pi-2*, *Pi-33*, *Pi-ta*, *Pi-b*, *Pi-40*. Для повышения экономической эффективности маркерной селекции соискателем разработаны мультиплексные ДНК-маркерные системы, позволяющие за одну реакцию амплификации идентифицировать в одном генотипе одновременно два гена устойчивости к пирикуляриозу. Они успешно внедрены в селекционный процесс и на их основе получены линии с искомыми генами.

Диссертантом на основе ПЦР-анализа разработана методическая схема оценки селекционных линий и сортов риса на устойчивость к затоплению в период получения всходов, как фактору борьбы с сорно-полевой растительностью в рисовых агрофитоценозах. Это позволяет выявлять исходный материал для создания сортов риса, возделываемых по экологически безопасным безгербицидным технологиям. С целью идентификации генов устойчивости к длительному затоплению *SubIA* соискателем выявлены эффективные SSR, позволяющие контролировать не только целевой ген в анализируемом гибридном материале, но и его аллельное состояние. Данные микросателлитные маркеры внедрены в селекционный процесс и на их основе с использованием метода ПЦР получен исходный материал с целевым геном в гомозиготном состоянии.

Большой вклад диссертантом внесен в изучение биоразнообразия высоковариабельного грибного патогена *Pyricularia oryzae* Cav. Проведена паспортизация штаммов патогена по 41 микросателлитному локусу. Создана База данных, содержащая информацию о полиморфизме ДНК-локусов штаммов *P. oryzae*, выделенных с поражённых пирикуляриозом растений риса, собранных на полях рисосеющих хозяйств юга России. Генетическая паспортизация штаммов *Pyricularia oryzae* Cav. необходима для грамотного её использования в иммунологических исследованиях, а также для защиты авторских прав держателей коллекции.

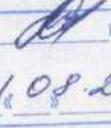
Кроме исследований в области рисоводства Е.В. Дубина на основе ДНК (микросателлитного)-анализа было изучено биологическое разнообразие овощных культур (капусты белокочанной и перца сладкого) с целью проверки семян гибридов F1 на генетическую однородность. Оптимизирована методическая схема контроля генетической чистоты производимых отделом овощекартофелеводства ВНИИ риса коммерческих партий гибридных семян данных культур вне зависимости от сезона их вегетации.

В целом работа выполнена на высоком научно-методическом уровне. Выводы, сформулированные в диссертации, обоснованы.

Значение полученных Е.В. Дубина результатов исследований для науки и практики подтверждается экономическим эффектом, а также 4 заявками на патенты и 2 свидетельствами на Базы данных, изданными методическими рекомендациями, научными статьями, наградами различного уровня.

Считаю, что диссертационная работа является весомым вкладом в совершенствование селекции риса и семеноводстве овощных культур, а также наглядной демонстрацией плодотворного сотрудничества классических селекционных способов и современных биотехнологических подходов при работе с растительными ресурсами, соответствует требованиям, предъявляемым к докторским диссертациям (пп. 9-11, 13, 14 «Положения о присуждении ученых степеней»), а её автор заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 06.01.05 – Селекция и семеноводство сельскохозяйственных растений.

Усенбеков Бакдаulet Наубаевич

Колы  күзгандыру
01.08.2019 ж.

канадидат биологических наук по специальности 03.00.12 - физиология и биохимия растений, ассоциированный профессор, заведующий лаборатории физиологии и биохимии растений Института биологии и биотехнологии растений Комитета науки МОН РК,

050040, Республика Казахстан, г.Алматы, ул. Тимирязева, 45.

РГП ИББР КН МОН РК, тел.8 (727) 394-75-63; 8-707-554-63-78

e-mail: bakdaulet7@yandex.ru

ОТЗЫВ
на автореферат диссертации Дубина Елены Викторовны на тему:
«ДНК-технологии (молекулярное маркирование) в селекции риса
и семеноводстве овощных культур»,
представленной на соискание ученой степени доктора биологических наук
по специальности 06.01.05 — Селекция и семеноводство сельскохозяйственных растений

Использование технологий ДНК-маркерного анализа в селекции и генетике сельскохозяйственных культур позволяет значительно расширить область научных исследований - от оценки генетического разнообразия и вопросов паспортизации сортов до защиты авторских прав селекционеров и определения генетической чистоты селекционного материала.

В связи с тем, что применение молекулярных маркеров не зависит от фенотипа растения, этапа вегетационного периода и их использование позволяет напрямую характеризовать генотип, они приобретают все большую ценность при оценке степени генетического разнообразия, а также в исследованиях, направленных на идентификацию генов, участвующих в детерминации хозяйствственно-ценных признаков. Особенно актуально использование ДНК-маркеров при идентификации генов устойчивости к заболеваниям, что подтверждает новизну и научно-практическую значимость данной работы.

Автором проведены исследования в лаборатории биотехнологии и молекулярной биологии, на вегетационных и лизиметрических площадках ФГБНУ «Всероссийского научно-исследовательского института риса» в 2007-2018 гг. Полевые опыты проводили на рисовой оросительной системе ФГУЭСП «Красное» ВНИИ риса в 2010-2018 гг.

На основе результатов исследований диссертант предложил для практической селекции и семеноводства рекомендовать созданные образцы риса с генами устойчивости к пирикуляриозу и обладающие комплексом признаков, соответствующих агроклиматическим условиям юга России для использования в селекции на устойчивость к заболеванию. Полученный в работе селекционный материал с генами толерантности к длительному затоплению и низким положительным температурам в fazu всходов рекомендовать к использованию для дальнейшей работы, направленной на создание образцов, устойчивых к данным стрессорам. Разработанные мультипримерные системы по идентификации одновременно двух и трех генов резистентности к пирикуляриозу в одном генотипе рекомендовать для селекционных программ по созданию перспективных форм, устойчивых к пирикуляриозу, с целью контроля целевых генов в гибридном материале. Использовать созданные базы данных для анализа и мониторинга популяций и патотипов возбудителя пирикуляриоза в рисосеющих регионах юга России. Разработанные маркерные системы по оценке генетической однородности семян гибридов F₁ капусты белокочанной и перца сладкого рекомендовать для практического использования в семеноводческом процессе.

Выводы по данной работе и предложения производству основаны на большом объеме экспериментальных, статистически обработанных данных, полученных с использованием современных методов и оборудования.

Стоит подчеркнуть, что исследования проводились в рамках проектов, поддержанных Российской фондом фундаментальных исследований (2016-2018гг.) и контрактов по программе «У.М.Н.И.К.» (2010-2011гг.).

Материалы диссертации докладывались и обсуждались на международных научно-практических конференциях, совещаниях и форумах различного уровня. По результатам

исследований опубликовано 95 научных работ, 76 из которых входит в научную базу РИНЦ, из них 45 — в периодических изданиях, рекомендованных ВАК, в том числе 1 научная работа, входящая в базу данных статей Web of Science и 3 — Scopus, 1 методические рекомендации.

Существенных замечаний к качеству изложения материала и оформлению автореферата не имею.

В целом данная работа является самостоятельным законченным исследованием, имеет важное научно-практическое значение, полностью соответствует требованиям, предъявляемым к докторским диссертациям (пп. 9-11, 13, 14 «Положения о присуждении ученых степеней»), а ее автор Дубина Елена Викторовна заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 06.01.05 — Селекция и семеноводство сельскохозяйственных растений.

Иваненкова Анастасия Олеговна
кандидат биологических наук

06.01.04 — агрохимия (биологические науки)

Нижегородский научно-исследовательский институт сельского хозяйства — филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный аграрный научный центр Северо-Востока им. Н.В. Рудницкого»
старший научный сотрудник отдела земледелия и кормопроизводства
607686, Нижегородская область, Кстовский район, п. Селекционной станции
тел. 8(83145)65-377, e-mail:pnovniish@rambler.ru

Подпись руки А.О. Иваненковой заверяю:
инспектор по кадрам

Н.В. Полянова

19.08.2019 г.



КУБАНСКАЯ ОПЫТНАЯ СТАНЦИЯ
ФИЛИАЛ
ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО
БЮДЖЕТНОГО НАУЧНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ
ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ЦЕНТР
ВСЕРОССИЙСКИЙ ИНСТИТУТ
ГЕНЕТИЧЕСКИХ РЕСУРСОВ РАСТЕНИЙ
имени Н.И.ВАВИЛОВА



KUBAN EXPERIMENT STATION
BRANCH
OF THE FEDERAL STATE BUDGETARY
SCIENTIFIC INSTITUTION
FEDERAL RESEARCH CENTER
THE N.I.VAVILOV ALL-RUSSIAN INSTITUTE
OF PLANT GENETIC RESOURCES

Ул. Центральная, 2, пос. Ботаника, Гулькевичский р-н,
Краснодарский край 352183 Россия

Дирекция: Тел.: +7 (86160) 9-84-14
kos-vir@yandex.ru

2, Centralnaya Str., Botanika village, Gulkevichy District,
Krasnodar Territory, 352183 Russia

Management: Tel.: +7 (861) 609-8414
kos-vir@yandex.ru

21.08.2019 № 624

На № _____

ДС 006.026.01, ФГБНУ
«Всероссийский научно-
исследовательский институт риса»

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Дубина Елены Викторовны на тему: «ДНК-технологии (молекулярное маркирование) в селекции риса и семеноводстве овощных культур» представленной на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности: 06.01.05 – селекция и семеноводство сельскохозяйственных растений.

Диссертация посвящена важнейшей проблеме в селекции риса и гибридном семеноводстве овощных культур целью которой является разработка на основе методов молекулярного маркирования комплексной системы идентификации генов устойчивости к био- и абиотическим стрессорам у риса для ускоренной селекции, изучения генетической структуры грибного фитопатогена Pyricularia oryzae Cav., а также оценка уровня гибридности овощных культур для их эффективного семеноводства.

Научная новизна исследований, их теоретическая и практическая значимость не вызывает сомнений. Поставленная цель успешно выполнена диссидентом, решением наиболее актуальных задач, относящихся к селекции риса и семеноводству овощных культур.

Впервые в селекционной практике риса в России методом маркерной селекции, на основе отечественной генплазмы созданы сорта риса Альянс, Ленарис, Капитан с геном устойчивости к пирикуляриозу Pi-ta, сорт риса Пируэт с тремя генами устойчивости к пирикуляриозу (Pi-1, Pi-2, Pi-33), пентаген с пятью генами устойчивости к пирикуляриозу Pi-1, Pi-2, Pi-33, Pi-ta, Pi-b, линии риса КП-575, КП-153, КП-154 с геном Pi-2, которые готовятся для передачи на Государственное сортоиспытание. Создано более 150 селекционных форм риса с генами резистентности к пирикуляриозу Pi-1, Pi-2, Pi-33, Pi-ta, Pi-b, P-40, которые при

фитопатологическом тестировании оценены как устойчивые к краснодарской популяции патогена *P.oryzae*.

Разработаны мультипраймерные системы для идентификации двух генов устойчивости к пирикуляриозу Pi-1+Pi-2, Pi-ta+Pi-33, Pi-ta+Pi-b, позволяющие определить в гибридных растениях одновременно два гена устойчивости к патогену и, таким образом, сократить время и затраты на ПЦР-анализ и повысить эффективность используемого метода.

Впервые в селекционной практике риса в России на основе метода молекулярного маркирования создан селекционный материал риса, совмещающий в себе гены устойчивости к пирикуляриозу и гены толерантности к длительному затоплению как фактору борьбы с сорной растительностью. Создан селекционный материал, устойчивый к низким положительным температурам в период прорастания семян риса.

Созданные сорта и линии риса с генами устойчивости к биотическим и абиотическим факторам среды значительно снижают затраты рисопроизводителей при их возделывании за счет сокращения использования гербицидов и фунгицидов, а также позволяют избежать загрязнения экосистемы и получать экологически чистую продукцию.

Особый интерес представляют сорта и линии риса с тремя и пятью пирамидированными генами резистентности к патогену, как ценный исходный материал для использования в качестве доноров в создании устойчивых к пирикуляриозу сортов риса. Селекционный материал с генами толерантности к длительному затоплению и низким положительным температурам в фазу всходов рекомендуется для использования в работе при создании образцов, устойчивых к данным стрессорам.

Разработанные мультипраймерные системы по идентификации одновременно двух и трех генов резистентности к пирикуляриозу в одном генотипе предложены для селекционных программ по созданию перспективных форм, устойчивых к пирикуляриозу и контролю целевых генов в гибридном материале.

Для практического использования в семеноводческом процессе разработаны маркерные системы по оценке генетической однородности семян гибридов F1 капусты белокочанной и перца сладкого. Это позволит получать данные о генетической однородности (гибридности) реализуемых партий семян в год их производства.

Исходя из вышеизложенного следует отметить, что диссертационная работа Дубина Е.В. выполнена на высоком научно-методическом уровне в основе которой служит системный анализ результатов исследований на стыке различных областей науки биотехнологии, генетики, селекции, семеноводства, защиты растений и фитопатологии).

Результаты исследований достоверны, что подтверждается статистической обработкой многолетних данных, полученных в работе.

По результатам исследований опубликовано 95 научных работ, 76 из которых входит в базу РИНЦ, из них 45 – в периодических изданиях, рекомендованных ВАК, в том числе научная работа, входящая в базу данных статей Web of Sciences и 3 – Scopus, 1 методические рекомендации.

Результаты исследований ежегодно докладывались и были одобрены на заседаниях методической комиссии и ученого Совета ФГБНУ «ВНИИ риса» в 2007-2018гг., а также на многих научно-практических конференциях.

Научные разработки соискателя по созданию резистентных сортов риса с генами устойчивости к пирикуляриозу были высоко оценены на Всероссийском выставочном центре (ВВЦ, г. Москва) с вручением золотой медали. Получен диплом Российской академии сельскохозяйственных наук за лучшую завершенную научную разработку, на 19-й и 20-й Российской агропромышленной выставке «Золотая осень» в номинации «Инновационные разработки в области агробиотехнологии» соискатель получила золотые медали. В 2018г. соискатель в соавторстве с коллегами института стала лауреатом премии Правительства РФ в области науки и техники за работу «Создание и внедрение устойчивых к биотическим и абиотическим стрессорам генетических ресурсов риса с использованием постгеномных и клеточных технологий для решения проблемы импортозамещения и обеспечения продовольственной безопасности страны».

Следует отметить, что полученные результаты исследований, отраженные в автореферате диссертации написаны в хорошем стиле, наглядно оформлены рисунками и таблицами, приведены четкие обоснованные выводы и предложения для практической селекции и семеноводства. Стиль изложения материала и характер его оформления характеризует соискателя как специалиста высочайшей квалификации. Это подтверждается подробным анализом и обоснованием полученных данных в научно-исследовательской работе.

Резюмируя вышеизложенное необходимо отметить, что диссертационная работа Дубина Елены Викторовны вполне соответствует требованиям, предъявляемым к докторским диссертациям, и положения о присуждении ученых степеней, а ее автор несомненно заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 06.01.05 – Селекция и семеноводство сельскохозяйственных растений.

Ведущий научный сотрудник Кубанской ОС филиала ВИР,
доктор с-х наук
352183, Краснодарский край, Гулькевичский район,
пос. Ботаника, ул. Центральная, 2
e-mail: kos-vir@yandex.ru

Генрих Адамович
Теханович

Подпись Техановича Г.А. заверяю:
Специалист по кадрам Кубанской ОС филиала ВИР

Елена
Геннадиевна Аверина



Генрих

Г.А. Теханович

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Дубина Елены Викторовны на тему: «ДНК-технологии (молекулярное маркирование) в селекции риса и семеноводстве овощных культур», представленной на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 06.01.05 – селекция и семеноводство сельскохозяйственных растений

На современном этапе развития сельского хозяйства одним из приоритетов является экологизация и ресурсосбережение производства при одновременном повышении продуктивности и качества продукции. В связи с этим, представленная диссертационная работа Е.В. Дубина, посвященная созданию высокопродуктивных сортов риса нового поколения, устойчивых к биотическим и абиотическим стрессорам и разработке семеноводческих схем по оценки генетической однородности гибридных семян в коммерческих партий овощных культур на основе современных биотехнологических подходов, обладает высокой актуальностью и важностью. Внедрение таких сортов это оптимальный путь для экологизации отрасли рисоводства и повышения его экономической эффективности.

Соискателем с использованием методов ДНК-маркерного анализа был создан широкий перечень высокопродуктивных сортов риса, обладающих высоким адаптивным потенциалом. Особо стоит отметить, что было создано новое поколение сортов риса, устойчивых к пирикуляриозу – одному из наиболее вредоносных заболеваний для данной культуры во всех регионах ее возделывания в мире. Наряду с этим, Е.В. Дубина создала сорта риса устойчивые к длительному затоплению, которые могут возделываться по безгербицидной технологии, а также селекционный материал, толерантный к низким положительным температурам в период прорастания семян. Внедрение данных сортов позволит повысить разнообразие отечественной рисовой продукции.

Очевиден существенный экономический эффект, достигаемый за счет внедрения сортов нового поколения в производство. Внедрение в производство сортов, устойчивых к биотическим и абиотическим стресс-факторам среды позволит дополнительно произвести более 600 тонн зерна риса с каждой тысячи гектаров на сумму 10 млн. рублей.

Следует отметить, что диссертационная работа Е.В. Дубина выполнена на высоком научно-методическом уровне, обладает высокой актуальностью, научной новизной, теоретической и практической значимостью.

Считаю, что представленная работа соответствует требованиям, предъявляемым к докторским диссертациям (пп. 9-11, 13, 14 «Положения о

присуждении ученых степеней»), а её автор, Елена Викторовна Дубина, заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 06.01.05 – Селекция и семеноводство сельскохозяйственных растений.

19.08.2019 г.

Гончаров Сергей Владимирович,

С.В. Гончаров

доктор биологических наук по специальности 06.01.05 – Селекция и семеноводство сельскохозяйственных растений, заведующий кафедрой генетики, селекции и семеноводства ФГБОУ ВО «Кубанский государственный аграрный университет имени И.Т. Трубилина».

350044, г. Краснодар, ул. Калинина, 13.

Тел. 8861 2215861

E-mail: goncharov.s@kubsau.ru



ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Дубина Елены Викторовны «ДНК-технологии (молекулярное маркирование) в селекции риса и семеноводстве овощных культур», представленной на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 06.01.05 – Селекция и семеноводство сельскохозяйственных растений.

Диссертация Дубина Елены Викторовны посвящена использованию методов молекулярного маркирования в селекции риса и семеноводстве некоторых овощных культур. Учитывая, что в России проходит северная граница выращивания риса, создание сортов устойчивых к болезням и абиотическим факторам является актуальной задачей.

Впервые в России метод молекулярного маркирования внедрен непосредственно в селекционную практику риса. Автором разработана схема введения генов устойчивости к одному из наиболее вредоносных заболеваний риса пирикуляриозу в отечественные сорта. Использованием молекулярных маркеров предполагается на каждом этапе бекроссирования до восстановлением генома сорта реципиента. В результате получен разнообразный селекционный материал с генами устойчивости к пирикуляриозу. В Государственное сортоиспытание переданы сорта риса Альянс, Ленарик и Капитан с одним или несколькими генами устойчивости к данному заболеванию.

Дубина Е.В. разработала и внедрила в систему маркерной селекции риса мультиплексную технологию идентификации нескольких генов устойчивости к патогену, на основе которой были отобраны линии с пирамидированными генами устойчивости к пирикуляриозу.

Помимо устойчивости к патогену, в работе представлены данные по маркированию генов устойчивости к пониженным температурам в период прорастания семян и отобраны линии с доминантными генами холдоустойчивости. Проведены исследования по внедрению гена устойчивости к длительному затоплению в отечественную генплазму риса и создан селекционный материал риса совмещающий гены устойчивости к пирикуляриозу и гены толерантности к длительному затоплению. Проведено генотипирование изолятов краснодарской популяции возбудителя пирикуляриоза *Pyricularia oryzae* с использованием мультипраймерной системы из 6 SSR-локусов, сформирована рабочая коллекция фитопатогена и сформирована База данных.

В диссертации также показана возможность использования микросателлитного анализа для определения уровня гибридности семян F₁ капусты белокочанной и перца сладкого. Разработанная схема рекомендована для использования в семеноводстве.

В целом, диссертационная работа Дубина Е.В. представляет пример успешного применения метода молекулярного маркирования в отечественной селекции риса.

Научные положения, выводы и рекомендации, изложенные в диссертации, подтверждены богатым экспериментальным и иллюстративным материалом отличного качества. Результаты исследований многократно докладывались на научных форумах различного уровня, включая международные. По результатам исследований опубликовано 95 работ, включая издания рекомендованные ВАК а также базы данных Web of Science и Scopus. Работы по созданию резистентных сортов риса с генами устойчивости к пирикуляриозу отмечены многочисленными наградами, включая премию Правительства РФ.

Диссертационная работа Е.В. Дубина полностью соответствует требованиям, предъявляемым к докторским диссертациям (пп. 9-11, 13, 14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней»), а ее автор заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 06.01.05 – Селекция и семеноводство сельскохозяйственных растений.

В.н.с. лаб. физиологии и биохимии
растений ФГБНУ ФНЦ ЗБК, д.с.х.н.

Е.В. Головина

Зав. лабораторией генетики и
биотехнологии ФГБНУ ФНЦ ЗБК, к.с.х.н.

Г.Н. Суворова

Подпись Е.В. Головиной и Г.Н. Суворовой заверяю

Ученый секретарь
ФГБНУ ФНЦ ЗБК, к.с.х.н.

А.А. Молошонок

Контактные данные:

ФИО: Головина Екатерина Владиславовна

Ученая степень: доктор сельскохозяйственных наук

Полное название организации: ФГБНУ «Федеральный научный центр зернобобовых и крупяных культур» (ФГБНУ ФНЦ ЗБК). Должность: ведущий научный сотрудник лаборатории биохимии и физиологии растений

Адрес: 302502 Орловская обл., Орловский р-н, п. Стрелецкий, ул. Молодежная кор. 1
тел. +7 9536211286, e-mail: kat782010@mail.ru

ФИО: Суворова Галина Николаевна

Ученая степень: кандидат сельскохозяйственных наук

Полное название организации: ФГБНУ «Федеральный научный центр зернобобовых и крупяных культур» (ФГБНУ ФНЦ ЗБК). Должность: заведующая лабораторией генетики и биотехнологии

Адрес: 302502 Орловская обл., Орловский р-н, п. Стрелецкий, ул. Молодежная кор. 1
тел. 4862 403751, e-mail: galina@vniizbk.ru

14 августа 2019 года

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Дубина Елены Викторовны на тему: «ДНК-технологии (молекулярное маркирование) в селекции риса и семеноводстве овощных культур», представленной на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 06.01.05 – селекция и семеноводство сельскохозяйственных растений

Отличительной особенностью современной мировой селекции риса является тесная связь с новой научной дисциплиной – геномикой риса, основное направление которой картирование, секвенирование, функциональный анализ генома риса и отдельных его сайтов. Разработана комплексная мировая стратегия – программа «Green super rice», включающая создание сортов риса нового поколения на основе современных достижений селекции и геномики. Поэтому не вызывает сомнений актуальность и научная новизна представленной Е.В. Дубина диссертационной работы, целью которой являлась разработка и обоснование целесообразности и эффективности методических схем, использующих молекулярное маркирование в практической селекции риса и семеноводстве овощных культур.

Ознакомление с авторефератом свидетельствует о высоком научно-методическом уровне и значительном объёме выполненных соискателем исследований, имеющих также важное практическое значение. Научные результаты в перспективе открывают возможности прикладного использования методов молекулярной помощи отбору (Marker – assisted selection – MAS) в качестве многофункционального мониторинга селекционного материала на геномном уровне, включая скрининг индивидуальный растений расщепляющихся популяций риса, что значительно сокращает время, необходимое для создания новых сортов.

Сорта риса, созданные автором с использованием новых технологий, устойчивы к ряду биотических и абиотических стрессоров (к болезням, длительному затоплению как фактору борьбы с сорными растениями и низким положительным температурам в период прорастания семян). Это позволяет минимизировать потери величины и качества урожая, получить экологически безопасную продукцию и обеспечить собственное производство в стране риса в необходимых объёмах.

Генотипирование штаммов *Pyricularia oryzae* Cav. на основании полиморфизма 41 микросателлитного локуса патогена, несомненно, внесло свой вклад в изучение биоразнообразия этого патогена на юге России.

Обоснована целесообразность использования полиморфизма ДНК (микросателлитных) – локусов для эффективного семеноводства овощных культур. При этом один из основных критерии подбора исходного материала в селекции на гетерозис – разнокачественность микросателлитных профилей родительских форм по большинству изученных локусов.

Считаю, что представленная работа соответствует требованиям, предъявляемым к докторским диссертациям (пп. 9-11, 13, 14 «Положения о присуждении ученых степеней»), а её автор, Елена Викторовна Дубина, заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 06.01.05 – Селекция и семеноводство сельскохозяйственных растений.

16.08.2019 г.

Артемьева Анна Майевна.

Mal

Кандидат сельскохозяйственных наук по специальности 06.01.05 – Селекция и семеноводство сельскохозяйственных растений, руководитель отдела генетических ресурсов овощных и бахчевых культур Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И.Вавилова (ВИР)».

190000 Санкт-Петербург, Большая Морская ул., 42-44
Телефон: (812) 5718539, e-mail: akme11@yandex.ru

Подпись Анны Майевны Артемьевой заверяю:

Ухамба Куре Василеви
Ченов скрипте ВИР



ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Дубина Елены Викторовны на тему:
«ДНК-технологии (молекулярное маркирование) в селекции риса и
семеноводстве овощных культур», представленной на соискание ученой
степени доктора биологических наук по специальности 06.01.05 – селекция
и семеноводство сельскохозяйственных растений

В селекционной работе с рисом используются в основном количественные признаки, непосредственно влияющие на продуктивность. Однако, в отличие от качественных, они имеют значительную параптическую изменчивость, что требует существенного увеличения объемов работ. Для улучшения и облегчения селекции риса и семеноводства овощных культур большую роль может сыграть использование ДНК-маркеров – фрагментов ДНК, сцепленных с нужными генами. Маркерная селекция значительно упрощает процесс создания сортов, устойчивых к биотическим и абиотическим стрессовым факторам.

Диссертационная работа Дубина Елены Викторовны посвящена разработке методологических подходов использования молекулярно-генетических методов оценки разнообразия и отбора исходного материала для селекции. Тема исследований, безусловно, является актуальной.

В процессе работы впервые проведено изучение биоразнообразия гриба *Pyricularia oryzae* Cav. на юге России на основе микросаттелитных профилей ДНК патогена. Проведена оценка генетического родства выделенных из поражённых растений риса штаммов патогена. Эта работа очень важна, как для фитопатологов, так и для селекционеров, т.к. позволяет вести контроль за изменчивостью возбудителя пирикуляриоза.

Разработана методическая схема оценки генетической однородности гибридных семян F1 капусты белокочанной и перца сладкого, что позволит вести контроль за сортовой принадлежностью и чистотой производимых отделом овощекартофелеводства ВНИИ риса коммерческих партий гибридных семян данных культур вне зависимости от сезона их вегетации.

По теме диссертации опубликовано 95 научных статей, 1 методические рекомендации, 2-х свидетельства на «Базы данных» и 4 заявки на селекционные достижения и патенты.

Несмотря на некоторые редакционные неточности, считаю, что диссертационная работа «ДНК-технологии (молекулярное маркирование) в селекции риса и семеноводстве овощных культур» соответствует требованиям, предъявляемым к докторским диссертациям (пп. 9-11, 13, 14 «Положения о присуждении ученых степеней»), а её автор Елена Викторовна Дубина заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 06.01.05 – Селекция и семеноводство сельскохозяйственных растений.

20.08.2019 г.

Кизинёк Сергей Владимирович

Доктор сельскохозяйственных наук, директор Рисоводческого племенного завода «Красноармейский» имени А.И. Майстренко – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт риса»

353814 Краснодарский край, Красноармейский район, п.Октябрьский, ул.Красная,33

Тел 88616591219 и e-mail оппонента rgpzkr@mail.kuban.ru

Подпись С.В. Кизинька заверю.

Начальник отдела кадров РПЗ «Красноармейский»-
филиал ФГБНУ «ВНИИ риса»

Капустянова С.М.



ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Дубина Елены Викторовны на тему: «ДНК-технологии (молекулярное маркирование) в селекции риса и семеноводстве овощных культур», представленной на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 06.01.05 – селекция и семеноводство сельскохозяйственных растений

Известно, что на создание современных сортов и гибридов сельскохозяйственных культур, как правило, уходит немало лет. Маркерное сопровождение селекционного процесса значительно ускоряет и упрощает этот процесс, делая более эффективным отбор растений с интересующими селекционера генами на основе молекулярного изучения исходного материала.

Основной целью и новизной исследования Дубина Е.В. являлась разработка и обоснование эффективности методических схем, использующих современные биотехнологические подходы (молекулярное маркирование) в практической селекции риса для создания устойчивых к биотическим и абиотическим стрессорам сортов риса, а также в семеноводстве овощных культур, что способствует значительному повышению их конкурентоспособности.

Соискателем методом маркерной селекции на генетической основе отечественной генплазмы риса созданы сорта риса с генами устойчивости к различным стресс-факторам: с пирамидированными генами *Pi*, обеспечивающие резистентность к наиболее опасному заболеванию риса – пирикуляриозу; с генами *Sub*, обеспечивающие толерантность к длительному затоплению, как фактору борьбы с сорными растениями рисовых полей; с генами *Cts-1*, *Cts-2(t)* – устойчивость к пониженным положительным температурам на стадии проростков.

В рамках выполненных исследований Дубина Е.В. разработала мультипраймерные ПЦР-системы по идентификации в одном генотипе одновременно двух генов устойчивости к пирикуляриозу *Pi-ta+Pi-b*, *Pi-ta+ Pi-33*, *Pi-1+ Pi-2*, что значительно повышает экономическую эффективность селекции и снижает трудозатраты.

Значение полученных Е.В. Дубина результатов исследований для науки и практики подтверждается тем, что разработанная ускоренная схема создания высокопродуктивных, устойчивых к неблагоприятным стресс-факторам сортов риса уже успешно внедрена в селекционную практику. На её основе получены сорта риса, которые переданы в ГСИ и проходят испытания. Дубина Е.В. является автором и соавтором четырёх сортов риса (Альянс, Ленарис, Капитан и Пируэт).

Следует также отметить значимость разработанных соискателем семеноводческих схем контроля по определению генетической чистоты коммерческих партий семян гибридов F1 капусты белокочанной и перца сладкого на основе ДНК анализа. Данная методическая схема позволяет проводить оценку генетической однородности коммерческих партий гибридных семян в год их производства, что очень важно для оригиналатора.

Соискателем выполнены исследования биоразнообразия самого вредоносного практически для всех рисосеющих зонах мира гриба – *Pyricularia oryzae*. Проведено подробное описание штаммов патогена, собранных на юге Европейской части России, составлены их «ДНК-паспорта». Дубина Е.В. провела масштабные работы по определению эффективных для юга Европейской России генов устойчивости к *P. oryzae*. Это позволит вести целенаправленную селекцию по созданию резистентных сортов риса к пирикуляриозу.

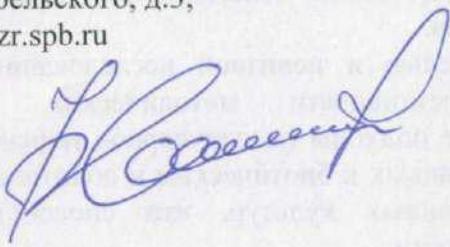
Работа является завешённой, собравшей в себе как основные научно-обоснованные теоретические выводы, так и доказательные экспериментальные данные, основанные на многолетнем практическом опыте.

В целом, судя по автореферату, считаю, что представленная Дубина Е.В. диссертационная работа «ДНК-технологии (молекулярное маркирование) в селекции риса и семеноводстве овощных культур» соответствует требованиям, предъявляемым к

докторским диссертациям (пп. 9-11, 13, 14 «Положения о присуждении ученых степеней»), а сам автор заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук. Работа соответствует специальности 06.01.05 – Селекция и семеноводство сельскохозяйственных растений.

Ганнибал Филипп Борисович,
кандидат биологических наук по специальности 03.00.24 – микология,
директор,
Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений» (ФГБНУ ВИЗР),
196608, г Санкт-Петербург, ш. Подбельского, д.3;
тел. (812)470-43-84, e-mail: info@vizr.spb.ru

23 августа 2019 г.



Подпись руки Ф.Б.Ганнибала

Удостоверяю

Секретарь
директора

Коновалова



Отзыв

на автореферат диссертации Дубины Елены Викторовны на тему: «ДНК-технологии (молекулярное маркирование) в селекции риса и семеноводстве овощных культур» на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 06.01.05 – селекция и семеноводство сельскохозяйственных растений

Современная селекция риса требует от селекционеров создания сортов и гибридов, которые, наряду с высокой устойчивостью к стресс-факторам должны обладать хорошей урожайностью. Поэтому создание высокоурожайных форм, сочетающих высокую устойчивость к болезням и другие хозяйствственно-ценные признаки, является вполне актуальной проблемой.

Цель и задачи, поставленные автором в работе, ясны и охватывают большую часть проблемных мест для различных селекционных программ. Результаты проведенного исследования являются ценным вкладом в современную молекулярную генетику растений, и имеют новшества, которые могут быть применены в производстве. Выводы изложены лаконично и достаточно обоснованы.

В решении этой проблемы достигнуты существенные результаты и установлены важные закономерности. Исследования, проведенные Дубиной Е.В., позволили выявить генотипы с SSR маркерами, связанными с локусами, определяющими хозяйствственно ценные признаки, что позволяет вести эффективную маркерную селекцию на изученные признаки, в том числе проводить интродукцию ценных аллелей из выявленных доноров в перспективные сорта риса. Предложенные в работе методы анализа и выявленные эффективные гены устойчивости к биотическим (пирикуляриоз) и абиотическим стрессам (длительное затопление водой) можно использовать в программах селекционных работ. Кроме того, создана маркерная система, позволяющая идентифицировать растения с нужными аллелями генов.

Практическое значение работы заключается в том, что созданы сорта риса Альянс, Ленарис, Капитан, Пируэт, Пентаген, несущие от одного до пяти генов устойчивости к пирикуляриозу.

По значимости решенных задач, объему проведенных исследований, обоснованности выводов и результативности исследований работа Дубины Елены Викторовны соответствует требованиям п.7 ВАК РФ, предъявляемым к докторским диссертациям, а её автор заслуживает присуждения искомой ученой степени доктора биологических наук по специальности 06.01.05 – селекция и семеноводство сельскохозяйственных растений.

Костылев Павел Иванович, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Аграрный научный центр «Донской» (ФГБНУ «АНЦ «Донской») 347740, г. Зерноград Ростовской обл., Научный городок, 3. Телефон 8(86359) 43050, p-kostylev@mail.ru

Г.н.с. лаборатории селекции и семеноводства
риса АНЦ «Донской», д.с.-х.н., профессор

П.И. Костылев

Подпись П.И. Костылева удостоверяю,
ученый секретарь АНЦ «Донской», к.с.



А.В. Гуреева

6.08.2019