

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор Федерального государственного

бюджетного научного учреждения

НАЦИОНАЛЬНЫЙ ЦЕНТР ЗЕРНА

ИМЕНИ П.П. ЛУКЬЯНЕНКО»

академик РАН А.А. Романенко



А.А. Романенко
ноября

2022 г.

Отзыв

ведущей организации

ФГБНУ «Национальный центр зерна имени П.П. Лукьяненко» на диссертационную работу Макуха Юлии Александровны «Молекулярное маркирование в селекции *Brassica oleracea* L. на устойчивость к сосудистому бактериозу и фузариозу», представленную на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 4.1.2 - Селекция, семеноводство и биотехнология растений.

Актуальность темы исследования определяется необходимостью улучшения одной из самых востребованных овощных культур - капусты белокочанной, относительно её устойчивости к таким вредоносным и широко-распространённым заболеваниям как сосудистый бактериоз и фузариоз. Наиболее эффективным и экологически безопасным, с точки зрения сохранения природных ресурсов, способом борьбы с болезнями является создание устойчивых сортов и гибридов. Однако традиционные методы селекции на устойчивость осложняются значительными временными затратами, требуют создания инфекционных фонов и трудоемкую оценку материала. Использование ДНК-маркеров в классических селекционных схемах позволяет идентифицировать хозяйственно-ценные гены и контролировать их перенос в сорта и гибриды сельскохозяйственных культур, тем самым способствуя ускоренному созданию генотипов с заданными свойствами.

Таким образом диссертационная работа Макуха Ю.А. направленная на создание, с помощью ДНК-маркеров, устойчивого к сосудистому бактериозу и фузариозу исходного селекционного материала капусты белокочанной несомненно является актуальным исследованием.

Цель исследований диссертационной работы Ю.А. Макуха заключалась в разработке технологического регламента ускоренного создания устойчивого к сосудистому бактериозу и фузариозу селекционного материала капусты белокочанной на основе технологии молекулярного маркирования с использованием микросателлитных SSR-маркеров.

В связи с поставленной целью диссертантом были сформулированы основные задачи исследований и обоснована их новизна.

В задачи исследований входило:

1. Подобрать пул информативных ДНК-маркерных систем, позволяющих четко идентифицировать целевые гены и их аллельное состояние в исходном и гибридном материале капусты белокочанной.
2. Провести гибридизацию контрастных линий капусты белокочанной по устойчивости к сосудистому бактериозу и фузариозу для получения гибридных потомств (F_1 , F_2 -поколение).
3. С использованием отобранных(ого) SSR-маркеров(а) установить их сонаследуемость с признаком устойчивости к сосудистому бактериозу и фузариозу на полученной сегрегирующей популяции (F_2 -поколение) методом фитопатологического тестирования и сравнить его результаты с результатами ПЦР-анализа.
4. Определить кандидатные ДНК-маркерные системы локусов устойчивости к сосудистому бактериозу *Xcc* и гена устойчивости к фузариозу *Foc1* и рекомендовать их в селекционный процесс для ускоренного создания устойчивых генотипов к данным болезням, с повышенной урожайностью и отличными потребительскими свойствами, которые позволят решить проблему импортозамещения и получения продуктов здорового питания

(экологически безопасной продукции, выращенной с применением пониженного количества средств химической защиты).

Новизна. Автором, на основе применения методов молекулярного маркирования, предложен технологический регламент селекционной схемы капусты белокочанной для ускоренного создания конкурентоспособных гибридов, устойчивых к сосудистому бактериозу и фузариозу. Впервые в России изучена эффективность и наследование ряда ДНК-маркеров, маркирующих устойчивость к сосудистому бактериозу и фузариозу на сегрегирующих популяциях капусты белокочанной. Отобраны информативные кандидатные маркерные системы: Ol10-C01 – для локуса устойчивости к сосудистому бактериозу *Xcc* и Ol10-D01 – для гена устойчивости к фузариозу *Foc1*, которые рекомендованы в селекционный процесс для ускоренного создания устойчивых к сосудистому бактериозу и фузариозу форм капусты белокочанной.

Научно-практическая значимость работы заключается в отборе эффективных кандидатных ДНК-маркерных систем для локуса устойчивости к сосудистому бактериозу *Xcc* и гена устойчивости к фузариозу *Foc1*, которые могут использоваться в MAS, направленной на ускоренное создание гибридов и сортов нового поколения капусты белокочанной, обладающих устойчивостью к перечисленным болезням. Полученный в работе селекционный материал (растения F₂ гибридных комбинаций 269-Яс-12п x Пи714, ДТ-46 x Кб1П) может быть использован как исходный для дальнейшей селекционной работы. Отобранные линии, несущие донорный аллель устойчивости и имеющие наибольший гетерозисный эффект от скрещивания с тестером, будут вовлечены в скрещивания для определения специфической комбинационной способности и выявления комбинаций с лучшей продуктивностью.

Апробация результатов. Основные положения диссертационной работы изложены и одобрены на заседаниях методической комиссии ФГБНУ «ФНЦ риса» (2018-2022 гг.), а также были представлены на Международных

научно-практических конференциях. Результаты работы представляют теоретическую и практическую ценность. По материалам исследований автором опубликовано 5 научных работ, 1 из которых входит в базу РИНЦ, 2 – в периодических изданиях, рекомендованных ВАК, 2 – входит в базу Web of Science.

Структура и объем диссертации. Диссертационная работа Ю.А. Макуха изложена на 119 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследований, результатов и их обсуждения, выводов, рекомендаций селекционной практике и списка литературы. Содержит 9 таблиц, 58 рисунков, 1 приложение. Список использованной литературы включает 105 источников, в том числе - 62 иностранных авторов.

Личный вклад автора состоит в теоретической подготовке и разработке плана исследований, постановке и проведении научных экспериментов, опытов, синтезе и анализе полученных результатов, в частности: непосредственном участие в проведении научных исследований, сборе экспериментальных данных, их анализе и обработке; апробации результатов исследований; подготовке и опубликованию результатов исследований в научных изданиях, включая рекомендуемые перечнем ВАК Минобрнауки РФ и WOS. Экспериментальные результаты получены автором лично при совместном сотрудничестве с селекционерами и фитопатологами отдела овощекартофелеводства ФГБНУ «ФНЦ риса».

Оценка содержания диссертации

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

В первой главе автор приводит описание морфологических признаков и биологических свойств капусты белокочанной. Отражает проблему поражения изучаемой культуры основными и широко распространёнными

болезнями, такими как сосудистый бактериоз и фузариоз. Описывает симптомы, расовый состав и устойчивость к этим болезням. Также в данной главе приводятся подробная методика проведения ПЦР (Полимиразная цепная реакция) и основные типы ДНК-маркеров.

В главе 2 представлен материал исследования - контрастные по устойчивости к сосудистому бактериозу и фузариозу формы капусты белокочанной изогенные линии: 269-Яс12п-2, Пи714, ДТ-46 и Кб1П. На основе гибридных комбинаций этих линий получен исходный материал - растения поколения F₁ и F₂. Далее описываются условия проводимых методов таких как выделение ДНК, ПЦР, электрофорез. Подробно характеризуются специализированные ДНК-маркеры, ассоциированные с устойчивостью к сосудистому бактериозу и фузариозу. Приводится методика иммунологической оценки селекционного материала, а также используемые статистические методы исследования.

Знание методики проводимых исследований, а также грамотное планирование экспериментов позволило соискателю успешно решить поставленные задачи и получить практические результаты.

В главе 3 автором показаны собственные результаты селекционного процесса капусты белокочанной на устойчивость к сосудистому бактериозу и фузариозу с применением молекулярных маркеров. На первом этапе соискателем была проведена гибридизация контрастных по устойчивости форм капусты белокочанной и получено поколение F₁. Параллельно с этим проводилась апробация молекулярных маркеров на контрастных изогенных линиях, в результате чего были отобранные наиболее полиморфные из них. Следует отметить, что для решения этой задачи автор использовал достаточно широкий набор молекулярных маркеров, которые отбирались на основании литературных данных: электронной базы www.VegMarks.ru (30 ДНК-маркеров), разработанные N. Tonu (5-ДНК-маркеров), 9-ДНК-маркеров разработанных Afrin, (2018), а также маркеры созданные Hong hao Lv (2011, 2013, 2014) и Liu (2017).

Параллельно с анализом ДНК растений F₂ проводилось их фитопатологическое тестирование. На основе сопоставления результатов молекулярного и фитопатологического методов анализа было изучено сонаследование отобранных маркеров с признаками устойчивости к сосудистому бактериозу и фузариозу. Установлено, что изученные SSR-маркеры O110-C01 и O110-D01 являются сонаследуемыми с признаками устойчивости к сосудистому бактериозу и фузариозу соответственно. Достоверность полученных результатов соискатель подтверждает статистической обработкой полученных данных с помощью метода хи-квадрата (χ^2). Автором установлено, что расщепление в F₂-популяции по локусам O110-C01, O110-D01 соответствует менделевскому в отношении 1:2:1, а для беккросной популяции по локусу O110-D01 - 1:1.

Общие замечания. Отмечая достоинства диссертационной работы её практическую значимость и новизну, следует указать на некоторые замечания.

1. В главе 1 «Обзор литературы» для большей полноты изложения, следовало бы привести мировые достижения относительно применения молекулярных маркеров в селекции капусты белокочанной.

2. В главе 3 «Результаты и обсуждение» на рисунке 18 и далее, аналогично, на рисунках 23, 73, 42, 45 показана визуализация продуктов ПЦР, при этом автором было установлено, что донорный аллель устойчивости имеет ПЦР - продукт размером 567 п.н., а аллель восприимчивости – 533 п.н., однако из текста диссертации неясно как определяли точный размер диагностических фрагментов. Возможно это литературные данные? Если таковые исследования не проводились правильнее было бы писать - размер около или приблизительно 567 п.н. и 533 п.н соответственно.

3. В предложениях для практической селекции формулировка «Рекомендовать выявленные информативные маркерные системы по идентификации целевых генов» не совсем корректна в случае маркера O110-C01 – для локуса устойчивости к сосудистому бактериозу Xcc.

Заключение. Отмеченные замечания являются не значительными и не затрагивают сути проведённого исследования. Сделанные автором выводы научно обоснованы и вытекают из полученных результатов. Необходимо отметить прекрасное знание диссертантом изучаемого материала и владение используемыми молекулярными и селекционными методами. Результаты, полученные в данной работе, имеют важное теоретическое и практическое значение для селекции капусты белокочанной. Работа выполнена на высоком методическом уровне. Публикации и автореферат отражают основное содержание диссертации.

В связи с вышеизложенным считаем, что диссертационная работа Макуха Юлии Александровны «Молекулярное маркирование в селекции *Brassica oleracea* L. на устойчивость к сосудистому бактериозу и фузариозу», соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям (пп. 9-11, 13, 14 «Положения о присуждении учёных степеней»), а её автор заслуживает присуждения учёной степени кандидата биологических наук по специальности 4.1.2. Селекция, семеноводство и биотехнология растений.

Ведущий научный сотрудник отдела
биотехнологии ФГБНУ "НЦЗ им.

П.П.Лукьяненко"

кандидат биологических наук

по специальности 06.01.05

Селекция и семеноводство

сельскохозяйственных растений


Давоян Эдвард Румикович

davayan@rambler.ru, 8918 0880 757

350012 г. Краснодар Центральная усадьба КНИИСХ

Подпись Э.Р. Давояна заверяю
Учёный секретарь ФГБНУ "НЦЗ
им. П.П.Лукьяненко", кандидат с.-х. наук




О.Ф. Колесникова