

УТВЕРЖДАЮ

Врио директора

ФГБНУ «АНЦ «Донской»,

кандидат сельскохозяйственных наук,

А. С. Попов



ОТЗЫВ

ведущей организации ФГБНУ «АНЦ «Донской» на диссертационную работу Микова Дмитрия Сергеевича «Селекционно-генетическое изучение интрагрессивных линий мягкой пшеницы с генетическим материалом *Aegilops speltoides*», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 06.01.05 – селекция и семеноводство сельскохозяйственных растений

Рецензируемая диссертационная работа изложена на 109 страницах текста в компьютерном исполнении, состоит из введения (4-9 страницы), обзора литературы (9-32 страницы), материалов и методов (33-41 страницы), анализа устойчивости к болезням интрагрессивных линий мягкой пшеницы с генетическим материалом *Aegilops speltoides* (42-63 страницы), хозяйственно-биологической оценки интрагрессивных линий (64-81 страницы), цитологического анализа интрагрессивных линий (82-86 страницы), заключения (87-88 страницы), предложений для селекционной практики (88 страница) и списка литературы (89-109 страницы).

Актуальность темы исследования определяется необходимостью расширения генетического разнообразия и улучшения генофонда мягкой пшеницы.

Пшеница – одна из широко распространенных в мире продовольственных культур. Она является ключевым фактором обеспечения продовольственной безопасности в России. Для получения высоких урожаев пшеницы необходимо создавать новые сорта, обладающие генами устойчивости к основным листовым болезням, и оптимальными размером и массой 1000 зерен.

Одним из способов решения данной проблемы является вовлечение в селекционный процесс диких сородичей мягкой пшеницы, обладающих ценностными хозяйственными признаками.

Диплоидный вид *Ae. speltoides* (геном SS) является источником многих генов, детерминирующих ценные хозяйственные признаки. Например, в их число входят гены устойчивости к бурой ржавчине *Lr35*, *Lr47*, *Lr51*, *Lr66* и к стеблевой ржавчине *Sr39*. Также в геноме S присутствуют гены-супрессоры системы *Ph* мягкой пшеницы, благодаря которым возможна гомеологическая конъюгация хромосом. Именно поэтому интrogессивные линии озимой мягкой пшеницы с генетическим материалом *Ae. speltoides* могут являться ценным селекционным материалом.

Целью диссертационной работы Микова Д.С. являлось селекционно-генетическое изучение интrogессивных линий мягкой пшеницы с генетическим материалом *Ae. speltoides* для определения наиболее перспективных для селекции линий. В связи с поставленной целью, автору было необходимо решить следующие задачи:

- провести оценку интrogессивных линий мягкой пшеницы с генетическим материалом *Ae. speltoides* на устойчивость к болезням;
- с помощью гибридологического анализа линий установить природу устойчивости к бурой ржавчине;
- использовать ДНК-маркеры для идентификации генов устойчивости к бурой ржавчине в образцах *Ae. speltoides*, синтетической форме Авродес и интrogессивных линиях, полученных на их основе;
- провести хозяйственно-биологическую оценку отобранных перспективных интrogессивных линий;
- установить форму передачи генетического материала от *Ae. speltoides* в интrogессивные линии мягкой пшеницы с использованием цитологических методов.

Научная новизна и теоретическая значимость. Решение поставленных задач дало автору работы возможность впервые оценить 39

интрагрессивных линий озимой мягкой пшеницы по устойчивости к комплексу основных листовых болезней – бурой и желтой ржавчине, мучнистой росе; а также провести анализ технологических свойств их зерна и оценить по компонентам продуктивности.

В результате проведенных цитологических анализов линий озимой мягкой пшеницы автором было установлено наличие в них двух новых, ранее не описанных в литературных источниках, транслокаций от *Ae. speltoides*. В линиях 4909, 4915, 5041 идентифицирована транслокация T5BS.5BL-5SL, в линиях 5047 и 5053 – транслокация T2DL.2DS-2SS, а у линии 5047 установлено замещение хромосомы 5B хромосомой 5S.

Практическая значимость. Наиболее значимым практическим результатом проведенных исследований является отбор линий для дальнейшего селекционного процесса: 16 интрагрессивных линий в качестве доноров групповой устойчивости к мучнистой росе, желтой и бурой ржавчинам; линия 5047 с замещенной хромосомой 5D на 5S может быть использована для получения новых транслокаций от *Ae. speltoides*; линии с новыми транслокациями от *Ae. speltoides* 4909, 4915, 5041, 5047 и 5053, которые сочетают устойчивость к комплексу болезней, высокое содержание белка и клейковины, могут быть рекомендованы для включения в селекционные программы в качестве исходного материала.

Апробация работы, публикации автора. Результаты работы были представлены автором на 6 всероссийских и международных научных конференциях. Материалы исследований представлены в 20 публикациях, среди которых 5 входят в рецензируемые издания ВАК, 4 – в системы SCOPUS и Web of Science.

Личное участие автора в получении результатов диссертации. Все результаты, представленные в работе, получены лично автором, или при его непосредственном участии. Автор принимал непосредственное участие в проведении экспериментов, в том числе сборе полевых материалов и их лабораторном анализе, статистической обработке экспериментального

материала. Изложенные в работе положения сопровождаются графиками и табличным материалом, обработанным разными методами статистического анализа.

Основное содержание работы.

Во введении обоснована актуальность темы, автор дает анализ состояния изученности вопроса передачи генетического материала от *Ae. speltoides* в мягкую пшеницу, указывает, что первые работы по переносу генов устойчивости были начаты Sears E. R. в 1961 г. за рубежом, а в 80-х годах 20 века в КНИИСХ (сейчас НЦЗ им. П. П. Лукьяненко) под руководством Жирова Е. Г. была получена геномно-добавленная форма Авродес, от скрещивания которой с сортом Аврора Давоян Р. О. (2006) получил интrogессивные линии озимой мягкой пшеницы. Представлены цель и задачи исследования; основные положения, выносимые на защиту, научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы.

В первой главе «Улучшение мягкой пшеницы (*Triticum aestivum*) с помощью генетического материала *Aegilops speltoides* L. (Обзор литературы)» соискатель проработал большой объем информации по теме исследования и провел анализ литературных данных, на основе чего им были обусловлены актуальность и задачи исследований.

В главе 2 «Материал и методы исследования» автор указывает в качестве объекта исследования 10 образцов *Ae. speltoides*, 39 интrogессивных линий мягкой пшеницы с генетическим материалом *Ae. speltoides* и сорта Аврора и Краснодарская 99; характеризует полевые (оценка устойчивости к болезням, хозяйственно-ценных признаков) и лабораторные методы исследования (выделение ДНК, ПЦР-анализ, цитологические методы исследований), а также статистические методы анализа, чем демонстрирует знание методики экспериментов и планирования исследований. Это позволило соискателю успешно провести исследования, решить поставленные задачи, добиться практических результатов и сделать выводы, логически вытекающие из проведенной работы.

В главе 3 «Анализ устойчивости к болезням интrogессивных линий мягкой пшеницы с генетическим материалом *Aegilops speltoides*» автор излагает результаты собственных исследований по оценке устойчивости интrogессивных линий озимой мягкой пшеницы к бурой ржавчине, желтой ржавчине и мучнистой росе. Отмечает, что особый интерес представляют образцы, имеющие устойчивость к комплексу болезней. Им было установлено, что высокой устойчивостью к 3 заболеваниям обладают 16 интrogессивных линий озимой мягкой пшеницы, что составляет 42% от общего числа изученных образцов.

Диссертант приводит результаты гибридологического анализа устойчивости к бурой ржавчине потомства интrogессивных линий 4909, 4915 и 5053, выбранных в зависимости от типа проявляемого ими типа реакции на поражение патогеном. Им был установлен доминантный тип наследования устойчивости к бурой ржавчине в этих трех линиях; определено, что устойчивость контролируется одним геном в каждой линии с достоверностью 0,5-0,75; выполнен анализ идентичности генов, контролирующих устойчивость в каждой из линий и установлена идентичность для линий 4909 и 4915, и отличие для линии 5053. Благодаря использованию тестерных линий с известными генами устойчивости к бурой ржавчине *Lr28* и *Lr35* и изучению гибридов от скрещивания тестеров и интrogессивных линий озимой мягкой пшеницы, автор подтвердил достоверность различия генов, контролирующих устойчивость к бурой ржавчине в изучаемых линиях, от генов, имеющихся у линий-тестеров.

В результате проведенного скрининга образцов *Ae. speltoides*, синтетической формы Авродес и интrogессивных линий озимой мягкой пшеницы с генетическим материалом *Ae. speltoides*, на наличие девяти генов устойчивости к бурой ржавчине, выбранных для анализа с учетом родословной образцов, автор установил, что изучаемые линии не являются носителями генов, которые ранее были переданы от *Ae. speltoides* (*Lr28*, *Lr35*, *Lr47*, *Lr51*, *Lr66*). При оценке линий на наличие генов устойчивости к бурой

ржавчине, источником которых является *Triticum aestivum*, ген *Lr10* не был выявлен, а наличие гена *Lr34* было установлено в 17 исследуемых линиях. Оценка интrogессивных линий на наличие генов *Lr25* и *Lr26*, источником которых является *S. cereale* (через сорт Аврора), показала отсутствие гена *Lr25* у всех линий и выявила ген *Lr26* у 20 образцов. Автором также было идентифицировано 8 линий-носителей комбинации из двух генов устойчивости *Lr34+Lr26*.

В главе 4 «Хозяйственно-биологическая оценка интrogессивных линий» диссертант приводит результаты оценки интrogессивных линий озимой мягкой пшеницы по компонентам продуктивности в 2017 и 2018 годах. Он установил генотипические различия для признаков-компонент продуктивности (высота растений, длина колоса, количество колосков в колосе, число зёрен в колосе, масса зерна с колоса, масса 1000 зёрен, масса зерна с 1м², число продуктивных колосьев с 1м²). В ходе анализа характеристик интrogессивных линий по некоторым морфо-биологическим признакам (высота растения, форма колоса, длина колоса, число колосков в колосе, число зёрен в колосе) автор выявил линии, достоверно превышающие стандартные сорта Аврора и Краснодарская 99. По показателям продуктивности были установлены высокие значения признаков, но не превышающие значения сорта Краснодарская 99, однако значения сорта Аврора по количеству продуктивных колосьев на 1м² превысили 6 интrogессивных линий (4879, 4909, 4915, 5041, 5047, 5053). Автор приводит матрицу парных коэффициентов корреляций, в которой показано 14 достоверных корреляций между изучаемыми им хозяйственно-ценными признаками. В результате проведенного дискриминантного анализа групп, в качестве которых выступали интrogессивные линии, была выявлена разная степень различия групп. Автор установил, что наиболее похожими являются линии 4915 и 5041, а также – наиболее близкими к сорту Краснодарская 99 и модельному сорту. Кластерный анализ выявил 2 основные группы линий, к одной из которых относятся селекционная модель сорта, сорт Краснодарская

99, и 5 перспективных интрагрессивных линий (5053, 5047, 4909, 5041, 4915).

В результате оценки линий по содержанию белка, клейковины и хлебопекарным качествам автором работы были выделены линии 5053, 4909, 4915 и 5041, имеющие высокую итоговую хлебопекарную оценку.

В главе 5 «Цитологический анализ интрагрессивных линий» диссертант приводит результаты цитологической характеристики 9 интрагрессивных линий с генетическим материалом *Ae. speltoides*, и дает оценку цитологической стабильности их потомства от скрещивания с сортом Краснодарская 99. Автором было установлено, что у большинства гибридов F₁ преобладала ассоциация хромосом 21^{II} (выше 70%), что свидетельствует о передаче генетического материала от *Ae. speltoides* в виде транслокации. У гибрида F₁ от комбинации 5047 x Краснодарская 99 была выявлена ассоциация хромосом 20^{II+21}, что свидетельствует о хромосомном замещении. По итогам проведенных исследований по дифференциальному окрашиванию хромосом и применения метода FISH автором работы были идентифицированы новые, ранее не описанные в литературных источниках транслокации (T5BS.5BL-5SL и T2DL.2DS-2SS), а также замещение хромосомы 5D у линии 5047 на гомеологичную от вида *Ae. speltoides*, что представляет собой большую теоретическую ценность для проведения дальнейших исследований.

Общие замечания. Отмечая достоинства диссертационной работы, ее практическую значимость и научную новизну, следует указать на замечания:

1. На с. 33 автор говорит об использовании шкалы Майнса и Джексона, но не приводит ссылку на источник литературы;
2. В таблице 3 (с.43) показано 19 линий с типом реакции 01 к бурой ржавчине, а в тексте – 18. У линии 4866 в таблице 3 – оценка 1, в то время как в тексте она описана как умеренно-устойчивая (оценка 2);
3. На с. 66 и 67 имеются две разные таблицы с одинаковым номером 11, из-за чего сбита нумерация последующих таблиц;

4. Рисунки 10 и 13, а также таблицу 14(15) следует располагать сразу же после ссылки на них в тексте;
5. Нет текста описания к таблице 11 – по дисперсионному анализу межсезонной изменчивости;
6. Отсутствует вывод по результатам проведенного детерминантного анализа линий.
7. В списке литературы отсутствуют приведенные в тексте источники: с. 24 – Pardue and Gall, 1970; с. 32 – Беспалова Л. А. и др., 2012; с. 51 – Kumar A. A. and Raghavaiah P.; источники литературы № 125 и 126 идентичны; отсутствуют ссылки в тексте на источники № 12, 169 и 173;
8. Оформление литературных источников с 2 и более авторами должно быть выполнено согласно ГОСТ Р 7.0.5 – 2008.

Заключение. Отмеченные замечания не затрагивают сути проведенного диссертантом исследования. Выводы, сформулированные в результате выполнения работы, в целом соответствуют полученным данным.

Знакомство с работой позволяет судить об авторе, как о достаточно подготовленном исследователе, владеющем современными методами исследований и научной литературой по данному вопросу. Работа выполнена на высоком методическом уровне. Полученные автором результаты имеют научную и практическую значимость. Опубликованные автором статьи и автореферат отражают основное содержание диссертации.

В связи с выше изложенным, считаем, что диссертационная работа Микова Дмитрия Сергеевича «Селекционно-генетическое изучение интровергессивных линий мягкой пшеницы с генетическим материалом *Aegilops speltoides*» соответствует требованиям ВАК РФ, 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 06.01.05 - Селекция и семеноводство сельскохозяйственных растений.

Отзыв на диссертацию Микова Д. С. рассмотрен и утвержден на заседании лаборатории маркерной селекции ФГБНУ «АНЦ «Донской» (протокол № 10 от 8 октября 2020 г.).

Старший научный сотрудник
лаборатории маркерной селекции
ФГБНУ «АНЦ «Донской», кандидат
с.-х. наук по специальности 06.01.05
– селекция и семеноводство
сельскохозяйственных растений,

Вожжова Наталия Николаевна

Подпись Вожжовой Н. Н. заверяю,
Ученый секретарь ФГБНУ «АНЦ
«Донской», кандидат с.-х. наук по
специальности 06.01.05 – селекция и
семеноводство
сельскохозяйственных растений,

Гуреева Алла Владимировна

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Аграрный научный центр
«Донской» (ФГБНУ «АНЦ «Донской»)

Почтовый адрес: 347740, Ростовская обл., г. Зерноград, Научный городок 3

Тел.: 8(86359) 41-4-68 (приемная)

E-mail: vniizk30@mail.ru