

О Т З Ы В

официального оппонента на диссертационную работу Пороховиновой Елизаветы Александровны по теме "Генетическая коллекция льна (*Linum usitatissimum* L.): создание, анализ и перспективы использования представленную на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальностям 03.02.07 – Генетика и 06.01.05 – Селекция и семеноводство сельскохозяйственных растений.

Актуальность исследования. Проблема создания и изучения генетических коллекций культурных растений является фундаментальной по своей сути, поскольку сохранение и селекционное использование биологического разнообразия растений на генетическом и видовом уровнях представляет собой научную основу устойчивого развития цивилизации.

Рассматриваемая диссертационная работа посвящена важному аспекту изучения частной генетики льна как ценной прядильной и масличной культуры. Известно, что среди прядильных растений лен-долгунец занимает четвертое место в мире по площади возделывания, а лен масличный – десятое среди масличных. Хотя геном льна уже секвенирован, процесс насыщения генетической карты локусами с известными функциями идет медленно, поскольку не имеется достаточного количества информации о результатах классического гибридологического анализа признаков.

Генетические коллекции льна имеются в ряде стран. В настоящее время ВИР обладает самой крупной из них.

Научная новизна. Создана генетическая коллекция, включающая 317 инбредных линий. Впервые идентифицирован 41 ген, контролирующий морфологические признаки льна, восемь из которых характеризуются множественным аллелизмом. Описано шесть ранее не известных генов. Установлено взаимодействие генов между собой. Выявлены четыре группы сцепления. Впервые предложена схема взаимодействия генов, контролирующих морфологические признаки льна. Она включает шесть групп (основные гены, влияющие на несколько частей цветка и семена; гены, работающие только в семенах; гены, определяющие окраску пыльников; восстановители фертильности пыльцы при ЦМС; усилители окраски цветка; гены, контролирующие биосинтез хлорофиллов) и пять отдельных генов.

Предложенная схема взаимодействия генов льна на данный момент является наиболее детальной. Впервые на большой выборке (33 линии) с использованием экспресс метода изучен полиморфизм углеводного состава слизи семян и более подробно – полисахаридный и белковый состав слизи и ее реологические свойства у 18 линий. Установлены корреляции этих признаков между собой и с другими хозяйственно ценными характеристиками.

Впервые установлено, что у средне- и низколиноленовых линий из-за резкого снижения синтеза линоленовой кислоты непропорционально меняется соотношение всех жирных кислот в масле, что подтверждается их общим факторным и корреляционным анализом каждой из групп высоко- средне и низколиноленовых линий. Выявлено достоверное влияние генотипа и места выращивания на содержание пальмитиновой, олеиновой и линоленовой кислот в масле семян льна, а также его йодное число. При эколого-географических испытаниях линий льна показано, что погода в год выращивания может быть более значима, чем географические условия, что не согласуется с данными других авторов.

Впервые показана возможность использования рангового критерия U Манна-Уитни для выявления ассоциации морфологических признаков, генотипа и родословной линий с хозяйственно ценными признаками (продолжительность фаз вегетационного периода, высота, углеводный состав слизи семян, устойчивость к ржавчине).

Теоретическая и практическая значимость. Создана и изучена по морфологическим и хозяйственно ценным признакам генетическая коллекция льна, включающая 317 инбредных линий. В коллекции представлена большая часть известного в мире биологического разнообразия льна по исследуемым признакам. У 73 линий с помощью классического генетического анализа изучен контроль морфологических признаков. Шестьдесят линий – гомозигот по нескольким генам морфологических признаков создано в результате длительного отбора из гибридов от скрещивания контрастных линий.

Идентифицированы три системы ЦМС и семь генов восстановителей фертильности, установлено их взаимодействие с морфологическими признаками. Выявлено разнообразие линий льна по жирнокислотному составу масла семян и его зависимость от условий среды. У девяти контрастных форм уровень пальмитиновой, стеариновой и олеиновой кислот различался более чем в два, линолевой – в шесть, линоленовой в 12, а соотношение линолевой и линоленовой в – 60 раз. Из 267 линий, различающихся по морфологическим признакам, выявлено 117 полностью устойчивых к ржавчине (*M. lini*).

С использованием критерия U Манна-Уитни показано, что линии, гомозиготные по гену *s1* (*star 1*), более высокорослы и поздно зацветают; *wf1* (*white flower 1*) – скороспелые; *fe* и *dlb1* (*dilution blue 1*) – высокорослые и скороспелые; *ysed2* (*yellow seed 2*) – позднеспелые; *ygp1* (*yellow green plant 1*) – более высокорослые, поздно зацветающие, но быстрее созревающие после цветения. Установлено, что гибриды, в родословной которых имеются линии гк-65 и 109 – более скороспелые; гк-124 – более высокорослые, быстро созревающие и скороспелые; гк-1, 2, 124 – более высокорослые и скороспелые; гк-221 – поздно зацветающие, но быстро созревающие и др.

Показано, что у желтых семян достоверно выше содержание ксилоты и фукозы и ниже – пектинов, гомогалактуронанов, галактуронозой кислоты.

Линии, рецессивные гомозиготы по гену *sl*, имеют достоверно больше глюкозы, арабиноксиланов, арабинозы и ксилозы и меньше галактозы, пектинов, рамнозы и галактуроновой кислоты, чем доминантные гомозиготы.

Три группы линий: с синим венчиком, деформированными тычиночными нитями, гомозиготные по гену *CSB1*, более других устойчивы к ржавчине. Все линии, в родословной которых присутствует линия гк-132, полностью устойчивы к ржавчине.

Разработаны CAPS маркеры для идентификации аллелей гена *LuFAD3A*. Установлено, что все имеющиеся в коллекции ВИР низколиноленовые формы несут одинаковую мутацию (замену) в первом экзоне этого гена. Тест-система, разработанная для мутации в первом экзоне гена *LuFAD3B* генотипа 593-708, может быть применена и для идентификации мутации во втором экзоне у линии гк-391 и др. С использованием этих маркеров отобраны средне- и низколиноленовые гибриды от скрещивания гк-391 x гк-109, гомозиготные по обоим генам и созревающие на 8-10 дней раньше родительской низколиноленовой линии гк-391.

Объём и структура диссертации. Диссертация состоит из введения, трех глав, заключения, выводов, практических рекомендаций для селекции, списка сокращений, списка литературы и приложений. Работа изложена на 370 страницах. Список использованной литературы включает 331 наименование, из них – 173 иностранных авторов. Имеется 107 таблиц, 46 рисунков, 7 приложений.

Апробация и публикация работы. Результаты работы были широко представлены на международных и всероссийских съездах, симпозиумах, конгрессах, конференциях, в том числе: *Bast fibrous plants today and tomorrow, breeding, molecular biology and biotechnology beyond 21st century* (St. Petersburg, 1998); II съезде Вавиловского общества генетиков и селекционеров (Санкт-Петербург, 2000); *Second global workshop bast plants in the new millennium* (Borovets, Bulgaria, 2001); *FAO workshop of the FAO European co-operative research network on flax and other bast plants dedicated to the 60th anniversary of AGRITEC Ltd.* (Sumperk, Czech Republic, 2002); *International conference of FAO/ESCORENA European cooperative research network on flax and other bast plants "Flax and allied fibre plants for human welfare"* (Cairo, Egypt, 2003); «*Innovative technologies for comfort*» *FAO/Escorena European cooperative research network of flax and other bast plant* (Arad, Romania 2007); Международной научной конференции «Генетика и биотехнология на рубеже тысячелетий», посвященной 45-летию основания Института генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси (Минск, Беларусь, 2010); Международном научно-практическом семинаре «Роль льна в улучшении среды обитания и активном долголетии человека» (Тверь, 2012); III Вавиловской международной конференции «Идеи Н.И. Вавилова в современном мире» (Санкт-Петербург, 2012), VI съезде ВОГиС (Ростов-на-Дону, 2014); Международной научной конференции

«Генетические ресурсы растений – основа продовольственной безопасности и повышения качества жизни» (Санкт-Петербург, 2014); II Международной научной конференции «Проблемы эволюции и систематики культурных растений» (Санкт-Петербург, 2014); Международной конференции «Генофонд и селекция растений», посвященной 80-летию СибНИИРС. (Новосибирск, 2016); IV Вавиловской международной конференции «Идеи Н.И. Вавилова в современном мире» (Санкт-Петербург, 2017); IV международной научно-практической конференции ИЦиГ СО РАН «Генофонд и селекция растений» (Новосибирск, 2018).

Общее число работ по теме диссертации, включая сборники трудов конференций, составляет 61, в том числе 18 статей в изданиях, рекомендованных Перечнем ВАК РФ.

Достоверность и обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций. Все разделы работы отражают основные положения, выносимые на защиту, научную новизну, логично связаны и построены по принципу сочетания изложения результатов личных исследований автора и их обсуждения.

В биометрической области достоверность выводов обеспечена применением соответствующих методов статистического анализа полученных экспериментальных данных. Выводы и научные положения, выдвинутые соискателем, надежно обоснованы.

Рекомендации по использованию результатов. Практические разработки соискателя заслуживают широкого применения в сети селекционных центров в Российской Федерации, занимающихся улучшением льна по различным признакам как культурного растения.

Замечания. К недостаткам работы следует отнести следующее:

1. Ржавчина ошибочно названа патогеном льна (с.6).
2. По тексту диссертации (с. 8, 297, 310, 311 и др.) постоянно делается, вероятно, необоснованное различие между погодой и географическими условиями. По сути, на биосинтез жирных кислот при созревании семян модификационно влияет именно абиотические факторы в год испытания, а не вообще географические условия (или климат). Общеизвестно, что степень десатурации жирных кислот в значительной степени определяется конкретной температурой в период созревания семян. Однако в диссертации не приводятся данные о различиях в этом факторе погоды на налив семян при экологическом испытании в двух регионах, а только указывается на «жаркую погоду в год изучения» (с. 297).
3. Вызывают сомнения следующие выражения: «растение понимает» (с. 50) и «линоленовая кислота» есть «сильный антиоксидант» (с. 52).

Высказанные замечания носят дискуссионный характер и не оказывают влияния на высокий уровень диссертационной работы в целом.

Заключение. Диссертационная работа Пороховиновой Елизаветы Александровны по теме "Генетическая коллекция льна (*Linum usitatissimum* L.): создание, анализ и перспективы использования" полностью соответствует требованиям, предъявляемым ВАК к диссертациям на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальностям 03.02.07 – Генетика и 06.01.05 – Селекция и семеноводство сельскохозяйственных растений. Автор диссертации, Е.А. Пороховинова, заслуживает присвоения искомой степени.

Официальный оппонент:

Демури́н Яков Николаевич
главный научный сотрудник,
заведующий отделом биологических исследований,
доктор биологических наук, профессор,
03.00.15 – генетика, 06.01.05 – селекция и семеноводство,
Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Федеральный научный центр «Всероссийский научно-исследовательский
институт масличных культур имени В.С. Пустовойта» (ФГБНУ ФНЦ
ВНИИМК)

350038 Россия, г. Краснодар, ул. Филатова, д. 17

Тел. 8 988 2422180

e-mail: yakdemurin@yandex.ru

Я.Н. Демури́н

27.09.2019

Подпись Я.Н. Демурина заверяю
Учёный секретарь ФГБНУ ФНЦ ВНИИМК,
кандидат биологических наук



М.В. Трунова