

«Утверждаю»

Директор ФГБНУ  
«Федеральный научный  
центр лубяных культур»,  
д.т.н. Р.А. Ростовцев



### **ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ**

**Федерального государственного бюджетного научного учреждения  
«Федеральный научный центр лубяных культур» о диссертации  
Пороховиновой Елизаветы Александровны «Генетическая коллекция льна  
(*Linum usitatissimum* L.): создание, анализ и перспективы использования»,  
представленной к защите на соискание ученой степени доктора  
биологических наук по специальностям 03.02.07 – Генетика, 06.01.05 –  
Селекция и семеноводство сельскохозяйственных растений**

#### **Актуальность избранной темы**

Разнообразие и ухудшение агроклиматических условий в России и льносеющих странах определяют необходимость комплексного изучения мирового исходного материала. Селекция льна предусматривает широкое вовлечение в гибридизацию лучших современных сортов, кряжей, местных образцов и селекционных форм. Сегодня актуальна идентификация морфологических хозяйственно-ценных признаков в сочетании с параметрами урожайности, устойчивости и качества.

Диссертационная работа Пороховиновой Е.А. посвящена созданию и изучению генетической коллекции льна по традиционным и современным направлениям селекции. Данная работа актуальна, так как паспортизация генколлекции позволит интенсифицировать селекционный процесс. Применение комплекса математических, биохимических и молекулярно-генетических методов обеспечит развитие культуры льна.

#### **Научная новизна**

В результате многолетних исследований диссертантом создана генетическая коллекция, включающая 317 инбредных линий. По результатам генетического анализа идентифицирован 41 ген, контролирующий морфологические признаки льна, 8 из которых имеют множественный аллелизм. Описано шесть ранее не известных генов. Выявлены 4 группы сцепления. Впервые предложена детальная схема взаимодействия генов морфологических признаков льна, включающая 6 групп и 5 отдельных генов.

Из 33 линий разного эколого-географического происхождения изучен полиморфизм углеводного состава слизи семян и более подробно – полисахаридный и белковый состав слизи и ее биохимические, биофизические, физико-химические и органолептические показатели, которые решают глубокое изучение сущности процессов, участвующих в структурообразовании функциональных продуктов и свойств у 18 линий. Дополнительно изучены урожайные и морфометрические свойства образцов семян, а также скороспелость форм. Примерно 30 % из 45 признаков идентифицированы у льна впервые.

Особое внимание было уделено эколого-географическим испытаниям образцов льна, контрастных по жирнокислотному составу. Выявлено, что из-за резкого снижения синтеза линоленовой кислоты меняется соотношение всех жирных кислот в масле. Установлено, что не все жирные кислоты подвержены сильному влиянию условий внешней среды, например, определено, что для жирнокислотного состава масла погода в год возделывания культуры может быть более значима, чем географические условия выращивания.

### **Теоретическая и практическая значимость работы**

В диссертации проведено комплексное изучение по морфологическим и хозяйственно ценным признакам 317 линий генколлекции, созданной соискателем. В коллекции представлено практически все известное разнообразие льна по исследуемым признакам. У 73 линий изучен контроль морфологических признаков. Автором создано 60 линий – гомозигот по нескольким генам морфологических признаков. Идентифицированы 3 системы ЦМС и 7 генов восстановителей фертильности, а также установлена их связь с морфологическими признаками.

Выявлено разнообразие образцов льна по жирнокислотному составу масла семян в зависимости от условий среды. Показано, что у контрастных линий по насыщенным и мононенасыщенным жирным кислотам различия могут быть более чем в два раза, тогда как по линолевой в 6, а по линоленовой в 12 раз.

Из 267 линий, различающихся по морфологическим признакам, выявлено 117 – устойчивых к ржавчине (*Melampsora lini* (Pers.) Lev.). Показана связь некоторых морфологических признаков с хозяйственно ценными признаками. Определены линии с хорошими донорскими свойствами, а также разнообразие по углеводному составу льна, что может послужить для дальнейших исследований хлебопекарных свойств семян и связующих свойств слизи при производстве биоразлагаемых композитов.

Разработаны молекулярные маркеры для идентификации аллелей гена *LuFAD3A*, контролирующего синтез линоленовой кислоты. Показана возможность использования тест системы, созданной ранее для второго гена *LuFAD3B*. После проведенных скрещиваний и анализа гибридов с помощью маркеров среди раннеспелых потомств отобраны гомозиготные средне- и



низколиноленовые гибриды.

### Апробация результатов работы

Результаты работы представлены на более чем 20 международных и всероссийских съездах, симпозиумах, конгрессах, конференциях. По результатам исследования по теме диссертации опубликована 61 работа, включая сборники трудов конференций, в том числе 18 статей в изданиях, рекомендованных Перечнем ВАК РФ.

Диссертация изложена на 370 страницах, состоит из введения, трех глав (обзора литературы, материалов и методов, результатов исследования и их обсуждения), заключения, выводов, практических рекомендаций для селекции, списка сокращений, списка литературы и приложения. Список цитируемой литературы включает 331 источник, из которых 172 на иностранных языках. Диссертация содержит 107 таблиц и 46 рисунков. Автореферат соответствует содержанию диссертации.

Введение диссертации посвящено рассмотрению актуальности представленной темы, характеристике объекта исследований. Сформулированы цель и задачи работы, представлены научная новизна, теоретическое и практическое значение, методология и методы исследования, основные положения, выносимые диссертантом на защиту, места апробации, характеристика публикаций автора, декларация личного вклада диссертанта, структура и объем работы.

Обзор литературы посвящен обсуждению исторических и современных данных основных направлений генетики и селекции льна и состоит из четырех разделов. В них рассмотрены внутривидовая изменчивость *L. usitatissimum* L. и существующие в мире генетические коллекции льна, описаны биохимические основы формирования морфологических признаков, их генетический контроль с точки зрения Менделевской генетики и с молекулярно-генетических позиций как на модельных объектах, так и на льне. Определены основные направления селекции льна и подробно освещены те, которые включены в диссертацию (устойчивость к ржавчине, жирнокислотный состав льняного масла, полисахаридный состав слизи оболочки семян).

В главе «Материал и методы» приводится характеристика линий, участвующих в каждом из экспериментов, подробно описана методика создания и полевого изучения линий, оценки устойчивости к ржавчине на искусственном инфекционном фоне, биохимические методики определения состава семян, выделения и анализа нуклеотидных последовательностей генов. Подробно описаны статистические методы, используемые для обработки полученных результатов. Все выполненные автором фенологические, биометрические, биохимические и молекулярно-генетические исследования, а также комплексная оценка генетической коллекции проводились с использованием современных методов.



Глава «Результаты и обсуждение» состоит из шести разделов.

В разделе 1 представлены результаты изучения линий генколлекции ВИР по морфологическим признакам (по окраске и форме цветка, коробочек и семян, всего растения), размерам цветка коробочки и семян, охватывающий все известное разнообразие вида. Выявлены закономерности сочетания морфологических признаков между собой.

В разделе 2 рассмотрено разнообразие линий генколлекции ВИР по хозяйственно ценным признакам (общая высота, техническая длина, длина соцветия, продолжительность фаз вегетационного периода) и определена связь последних с морфологическими признаками. Из 363 изученных линий 53 выделены по одному или нескольким хозяйственно ценным признакам. В каждой группе льна, сформированной по морфологическим признакам, показаны линии с минимальными и максимальными для всей выборки значениям по высоте растения, технической длине и длине соцветия, а также продолжительности фаз вегетационного периода, а также линии, выделившиеся по комплексу признаков. С помощью непараметрического критерия U-Манна-Уитни, показано, что некоторые морфологические и хозяйственно ценные признаки связаны между собой, что облегчит первичный отбор. На основе анализа гибридов выявлены несколько линий, которые могут быть донорами ценных признаков.

В третьем разделе проведена идентификация и систематизация взаимодействия генов льна с использованием классического генетического анализа. В 216 скрещиваниях между 73 линиями проанализировано наследование 41 гена, из которых 8 имело множественный аллелизм, а 6 идентифицированы впервые. Рассмотрено 3 системы ЦМС и 7 генов восстановления фертильности, альтернативные аллели которых при наличии стерильной цитоплазмы влияют на форму цветка и тычиночных нитей. Выявлено 11 пар сцепленных генов, образующих 4 группы сцепления. Разработана схема взаимодействия генов морфологических признаков, которая состоит из 6 групп и 5 отдельных генов. Это группа основных генов и генов снижающих окраску цветка, группа генов, контролирующей окраску пыльников, группа генов восстановителей фертильности при ЦМС, группа усилителей окраски венчика и группа генов, контролирующей хлорофильную окраску. Независимы от других меняющие форму стебля гены *cs1* и *dwl*, ген *CSB1* (бахромчатость коробочек), ген *sgh1* (окраска гипокотыля) и ген *FPI* (складчатые лепестки).

В четвертом разделе представлены результаты изучения линий генколлекции льна ВИР по устойчивости к ржавчине (*M. lini* (Pers.) Lev. Это изучение только 267 линий. Показано, что из них 117 линий полностью устойчивы к патогену, а 106 – максимально восприимчивы. Показано что линии с бахромчатыми перегородками коробочек, или с синим венчиком более устойчивы к патогену, имеющие реснички на перегородках коробочек более устойчивы к этому патогену, чем без них.



В пятом разделе рассмотрен полисахаридный состав слизи семян. Слизь льна с давних времен используется в медицине как обволакивающее средство при гастритах и других желудочно-кишечных заболеваниях, а также с их помощью добавляемая в хлеб льняная мука улучшает его органолептические и вкусовые свойства. Однако, химический состав слизи на сегодня недостаточно изучен. Это направление селекции стало активно развиваться с начала 1990х годов из-за ухудшения экологической обстановки на планете и как следствие возникновения потребности в «здоровом» питании и быстро разлагаемых биоконпозитах. Показано большое разнообразие линий генколлекции льна по биохимическому составу слизи. На выделенном материале осуществлено подробное исследование 45 признаков, определяющих ее свойства: скороспелость линий, размеры семян, химический состав и физические параметры слизи семян. С использованием корреляционного и факторного анализов выявлены закономерности сочетания различных свойств слизи в семенах между собой, а также показаны линии, выделенные по комплексу признаков.

Шестой раздел посвящен разностороннему изучению жирнокислотного состава масла семян льна. Показано, что у контрастных линий по пальмитиновой, стеариновой и олеиновой кислотам и йодному числу различия более чем в два раза, тогда как по линолевой в 6, а по линоленовой в 12 раз, а по соотношению линолевой и линоленовой кислот в 60 раз. Соотношение линолевой и линоленовой кислот должно быть оптимальным если использовать цельные семена или масло. Так для обычного питания оно составляет 5-10/1, а для лечебного 3-5/1, и этим характеристикам удовлетворяет лишь одна и две из исследованных линий, соответственно.

Параллельно, при эколого-географическом изучении линий льна установлено влияние окружающих условий на жирнокислотный состав масла семян, показано, что температура и влажность в год изучения играют большую роль в его изменчивости, чем география выращивания. Установлено, что селекция льна на низкое содержание линоленовой кислоты привела к изменению структуры корреляций между всеми жирными кислотами. Факторный анализ выявил, что и разделенные по уровню линоленовой кислоты группы не однородны. Соискателем созданы CAPS маркеры для идентификации аллелей гена *LuFAD3A* и определено, что все имеющиеся в коллекции ВИР низколиноленовые формы, несут мутацию в одном сайте первого экзона этого гена. Показана возможность нестандартного использования разработанной ранее тест системы (Vrinten et al., 2005) для других аллелей второго гена (*LuFAD3B*). На основе разработанных маркеров, среди скороспелых гибридов от скрещивания контрастных линий было отобрано несколько гомозиготных низколиноленовых линий, которые могут стать основой для будущего сорта. Также представляет интерес две среднелиноленовые линии гк-163 и 119 у которых уменьшение линоленовой кислоты идет не за счет линолевой, а олеиновой кислоты.



Рецензируемая работа имеет некоторые несущественные недостатки, в частности:

1. Недостаточно полно описаны погодные условия при проведении полевых опытов и их отклонения от многолетних данных.
2. В разделе, посвященном последовательностям генов низколиноленовости, представляет интерес две среднелиноленовые линии гк-163 и 119, у которых уменьшение линоленовой кислоты идет не за счет линолевой, а олеиновой кислоты. Однако диссертант не до конца разобрался, чем это вызвано.
3. В целом, работа требует незначительной редакционной правки согласно терминологии классической генетики.
4. В разделе материалы и методы «Биохимический анализ жирнокислотного состава масла семян» не рассмотрена возможная связь данных таблиц 8 (изучение жирнокислотного состава масла семян льна в различных природно-климатических условиях) и 9 (жирнокислотный состав масла семян льна у контрастных групп по содержанию линоленовой кислоты).
5. В разделах, посвященным связям морфологических и хозяйственно ценных признаков, некоторые из связей могут быть вызваны артефактом, так как около десяти линий входят в генеалогию большинства гибридов, включенных в анализ.

### Заключение

Диссертационная работа Е.А. Пороховиновой является научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований создана, изучена и предложена для использования генетическая коллекция льна, внедрение результатов которой имеет хозяйственное значение. Разработаны теоретические положения, совокупность которых можно квалифицировать как научное достижение. Новизна научных исследований не вызывает сомнения. Выводы и рекомендации, сделанные автором, обоснованы и подтверждены экспериментально. Полученные соискателем результаты имеют высокую научную и практическую значимость для генетики и селекции. Опубликованные по теме диссертации 61 работа и автореферат отражают содержание диссертации. Отмеченные замечания не умаляют общей значимости работы и достоверности полученных данных.

Диссертационная работа Е.А. Пороховиновой на тему «Генетическая коллекция льна (*Linum usitatissimum* L.): создание, анализ и перспективы использования» является законченной научной работой и отвечает требованиям ВАК РФ «Положения о присуждении ученых степеней» от 24.09.2013 № 842, а ее автор Пороховинова Елизавета Александровна

заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальностям 03.02.07 – Генетика, 06.01.05 – Селекция и семеноводство сельскохозяйственных растений.

Отзыв рассмотрен на заседании научно-технического совета Института льна – филиала Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр лубяных культур» 30 сентября 2019 года, протокол № 4.

Председатель научно-технического совета  
Института льна – филиала ФГБНУ ФНЦ ЛК

**Понажев Владимир Павлович,**  
доктор сельскохозяйственных наук по специальности 06.01.05 – Селекция и семеноводство сельскохозяйственных растений, академик РАН, Заслуженный агроном РФ, директор Института льна – филиала Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр лубяных культур»

Адрес: Россия, г. Торжок, ул. Луначарского, д. 35, 172002 Тел. +7(48251) 9-16-45. E-mail: [vniil.sekretar@mail.ru](mailto:vniil.sekretar@mail.ru)



В.П. Понажев

Отзыв подготовил

**Жученко Александр Александрович,**  
доктор биологических наук по специальности 03.00.15 – Генетика (03.02.07 по номенклатуре научных специальностей 2009 г.), академик РАН, главный научный сотрудник лаборатории селекционных технологий Института льна – филиала Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр лубяных культур»

Адрес: Россия, г. Торжок, ул. Луначарского, д. 35, 172002 Тел. +7(48251) 9-18-44. E-mail: [vniil.sekretar@mail.ru](mailto:vniil.sekretar@mail.ru)

А.А. Жученко