

**Отзыв официального оппонента Матвеевой Татьяны Валерьевны
на диссертацию Карабициной Юлии Игоревны
на тему «Генетическое разнообразие линий и наследование признака восстановления
фертильности пыльцы подсолнечника (*Helianthus annuus* L.) при ЦМС-РЕТ1»,
представленную на соискание степени
кандидата биологических наук по специальности 03.02.07. – Генетика**

Актуальности избранной темы

Подсолнечник *Helianthus annuus* L. является одной из основных масличных культур. Современной тенденцией является возделывание высокопродуктивных гибридов подсолнечника, устойчивых к болезням и вредителям. В семеноводстве гибридов подсолнечника важную роль играет использование явления цитоплазматической мужской стерильности (ЦМС), а именно наиболее распространенной ее разновидности РЕТ1-типа. Получение материнских линий с ЦМС и отцовских линий известных генотипов по локусам восстановления фертильности является важной задачей в селекции подсолнечника. Эта длительная кропотливая работа может быть упрощена при условии использования ДНК-маркеров, сцепленных с изучаемыми признаками, чему и посвящена данная работа. Таким образом, ее актуальность не вызывает сомнений.

Научная новизна

Впервые с использованием молекулярных ДНК-маркеров, гибридологического и цитологического анализов изучено генетическое разнообразие линий коллекции подсолнечника ВИР по способности к восстановлению фертильности цитоплазматической мужской стерильности РЕТ1-типа. Получены профили молекулярных маркеров (ММ), сцепленных с изучаемым признаком, у 75 линий коллекции ВИР. Предпринята попытка систематизации данных молекулярного маркирования. Идентифицированы и охарактеризованы новые аллельные варианты микросателлитных локусов ORS224 и ORS511, сцепленные с геном Rf1.

Впервые для двудольных растений изучены особенности наследования морфометрических показателей пыльцы при межлинейных скрещиваниях, в ходе этой работы охарактеризован цитологически признак «малопыльцовости» подсолнечника, проявляющийся на фоне доминантной аллели гена Rf1 в расщепляющихся гибридных популяциях F2.

Значимость работы

Изучение изменчивости и характера наследования признака восстановления фертильности пыльцы подсолнечника является чрезвычайно важным для планирования генетических экспериментов, в работах по созданию нового селекционного материала для гетерозисной селекции подсолнечника, а в будущем и для контроля распространения ГМО. Молекулярные маркеры, охарактеризованные в данной работе, упростят работы по идентификации доминантной аллели Rf1 у линий генетической коллекции ВИР и их гибридов, Уточненные данные о генетических расстояниях между локусами в пределах группы сцепления 13, несущей гены восстановления фертильности пыльцы, устойчивости к возбудителю ржавчины и ложной мучнистой росы важны для понимания особенностей организации и изменчивости этой части генома *H. annuus*.

Основное содержание

Диссертационная работа изложена на 134 страницах, содержит 26 таблиц, иллюстрирована 25 рисунками и состоит из введения, обзора литературы, описания материала и методов исследований, результатов и обсуждения, заключения, списка сокращений и списка использованной литературы, включающего 206 источников, в том числе 160 ссылок на английском языке.

В обзоре литературы автор знакомит читателя с явлением цитоплазматической мужской стерильности у растений, излагает известные к настоящему моменту факты о генетическом контроле и механизмах, лежащих в основе ЦМС и восстановления фертильности. Завершает обзор литературы раздел, посвященный ЦМС у подсолнечника.

Структура обзора представляется достаточно удачной и логично подводит к задачам исследования представленной диссертации.

К обзору литературы есть одно небольшое **замечание**: не совсем удачно сформулирована информация о природе необычных продуктов генов *Rf* на стр. 16. Для части даны названия кодируемых белков, для части – просто аббревиатуры.

Глава «Материал и методы» написана достаточно подробно. Все использованные методы представлены адекватно. Перечень методов широк, включает как классические генетические, так и цитологические и молекулярные методы.

Глава «Результаты исследований и их обсуждение» представлена на 51 странице и последовательно описывает все этапы эксперимента. Поражает объем проделанной работы, подробное описание результатов, удачно проиллюстрированное таблицами и схемами.

В разделе 3.1 подробно описаны генотипы линий в отношении маркеров ассоциированных с ЦМС-Rf и PPR генами, а также с генами устойчивости к болезням, локализованным в той же группе сцепления.

В разделе 3.2 автор приводит данные генетического анализа признака восстановления фертильности пыльцы, которые свидетельствуют о его моногенном характере наследования в проанализированных комбинациях скрещивания.

В разделе 3.3 изучены морфометрические параметры пыльцы и описаны монопыльцовые формы среди гибридов второго поколения. Количественные характеристики встречаемости таких форм в разных комбинациях скрещиваний наводят на мысль о более сложном генетическом контроле восстановления фертильности, чем считали ранее.

В разделе 3.4 автор пытается рассуждать о диагностической ценности использованных в работе маркеров. Это самый спорный раздел работы. К нему имеется следующее **замечание**. По мнению оппонента, если в работе использованы маркеры, которые сцеплены с изучаемым признаком, но степень сцепления не полная, не совсем корректно искать аллели ММ, которые всегда сопутствуют конкретному проявлению признака. Поскольку рекомбинация между генами возможна, то закономерности сцепления конкретных аллелей ММ и аллелей, отвечающих за конкретное проявление морфологического признака, в большей степени будет свидетельствовать о филогенетических связях конкретных линий, а не о ценности ММ. Обобщение данных, представленное ранее в работе на рисунке 15 является подтверждением этой идеи.

К другим разделам работы тоже есть **замечания и вопросы**.

1. Вынуждена отметить неаккуратное обращение автора с генетической терминологией по всему тексту работы. Понятия ген и аллель, признак и его конкретные проявления часто путаются. Обратите внимание, что аллели – это альтернативные состояния конкретного гена. Они могут быть доминантными и рецессивными. Говорить о доминантных генах не корректно.
2. На стр. 50 для отдельных аллелей указан диапазон длин. Что за ним стоит?
3. На стр. 53 написано: «У линии ВИР 740 присутствовали аллели 154 и 158 пн, а у линии ВИР 376 – 156 и 158 пн. Такие различия могут быть обусловлены специфической ошибкой амплификации, репликации ДНК (проскальзыванием матричной цепи).» Так все же о чем речь? Здесь описаны методические сложности, не решенные в работе, или различные аллели?

4. Интересно понять, с чем связано обилие нулевых аллелей у SSR-маркеров (табл. 8)? Не могло ли это быть связано с местами посадки праймеров, а вовсе не с повторами?

5. Высказывание на стр. 69: «Более эффективным маркером для прогнозирования наличия гена восстановления фертильности оказался маркер *orfH522*, идентифицирующий митохондриальный ген, ассоциированный со стерильностью РЕТ1-типа», - требует более обстоятельных пояснений, поскольку упомянутые тут маркеры являются ядерным и цитоплазматическим соответственно.

Заключение

Диссертационная работа Карабициной Юлии Игоревны «Генетическое разнообразие линий и наследование признака восстановления фертильности пыльцы подсолнечника (*Helianthus annuus* L.) при ЦМС-РЕТ1», представленная на соискание научной степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – генетика, является завершённой научно-исследовательской работой в области частной генетики подсолнечника. В результате выполнения работы с использованием молекулярных маркеров охарактеризованы линии подсолнечника генетической коллекции ВИР с ЦМС-РЕТ1 и восстановителями фертильности, описаны морфологические особенности пыльцы растений, характеризующихся различным сочетанием аллелей изучаемых генов. Проведен генетический анализ признака восстановления фертильности. Проведённая научная экспертиза диссертации, автореферата и списка опубликованных работ даёт основание положительно оценить выполненное исследование с точки зрения актуальности, степени обоснованности научных положений и выводов, степени их достоверности и новизны. Основные идеи исследования изложены ясно, выводы соответствуют полученным результатам. Все представленные в диссертационной работе результаты опубликованы в журналах из списка ВАК, а также обсуждены на международных и всероссийских конференциях. Тема диссертации, публикации по работе и положения, выносимые на защиту, полностью соответствуют специальности 03.02.07 – генетика.

Диссертационная работа Карабициной Юлии Игоревны на тему «Генетическое разнообразие линий и наследование признака восстановления фертильности пыльцы подсолнечника (*Helianthus annuus* L.) при ЦМС-РЕТ1» по своей актуальности, научной значимости и новизне полученных результатов, соответствует всем требованиям пп. 9-14 «Положения о присуждении научных степеней», утверждённого постановлением

Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 г. (в редакции с изменениями, утвержденными Постановлением Правительства РФ от 21 апреля 2016 г. №335), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, а ее автор, Карабицина Юлия Игоревна, заслуживает присуждения ей искомой степени кандидата наук по специальности 03.02.07 – генетика,

Профессор кафедры генетики и биотехнологии Федерального государственного бюджетного Образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет»,
199034, Санкт-Петербург, Университетская наб., 7/9, + 7 (812) 36 36 105
t.v.matveeva@spbu.ru
<https://bio.spbu.ru/faculty/departments/genetics/>

доктор биологических наук по специальности генетика

Матвеева Татьяна Валерьевна



2.02.2021