

## ОТЗЫВ

официального оппонента Беспаловой Людмилы Андреевны,  
доктора сельскохозяйственных наук, профессора, академика РАН на  
диссертацию **Корзуна Виктора Николаевича** на тему  
**«РАЗРАБОТКА И ПРИМЕНЕНИЕ ГЕНОМНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ ДЛЯ  
МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО КАРТИРОВАНИЯ И ПРИКЛАДНОЙ  
СЕЛЕКЦИИ ЗЕРНОВЫХ КУЛЬТУР»**, представленную на соискание ученой  
степени доктора биологических наук по специальностям:

03.02.07 – Генетика

06.01.05 – Селекция и семеноводство сельскохозяйственных растений

Нобелевский лауреат Норман Борлауг свою жизнь посвятил борьбе с голодом, создавая новые высокоурожайные сорта пшеницы. Он говорил: «Чтобы было больше мира на планете, дайте больше хлеба». Это стратегическое послание остается актуальным сегодня и будет важным через 50 и более лет, поскольку прогрессивно увеличивающееся народонаселение мира требует увеличения продуктов питания к 2050 году в 2 раза. Два глобальных вызова, стоящих перед сельским хозяйством в настоящее время – глобальное изменение климата и обеспечение человечества питанием в значительной степени могут решаться генетикой и селекцией растений. При этом дальнейшее увеличение валовых сборов зерна должно достигаться за счет роста урожайности с единицы площади посредством управления генетикой продуктивности и генотип-средовыми взаимодействиями, которые позволяют с наибольшей эффективностью использовать разнообразные почвенно-климатические ресурсы конкретных регионов. Это позволит в дальнейшем обеспечить продовольственную безопасность и экономическую стабильность в мире и в Российской Федерации. К настоящему времени самые действенные и простые пути повышения урожайности уже задействованы, поэтому дальнейший прогресс требует применения более сложных решений, разработки и внедрения новых инновационных подходов. Особое значение приобретают новые знания в области структурной организации геномов зерновых культур, разработка и применение геномных технологий, молекулярного маркирования не только для фундаментальных исследований, но и для практической селекции. Решению этих очень важных актуальных вопросов посвящена диссертационная работа соискателя.

**Актуальность работы.** Работа носит стратегический характер и актуальность темы не вызывает сомнения. Использование диких и культурных сородичей в традиционной селекции зачастую отнимает много

времени. Современные эффективные программы селекции зерновых культур требуют открытия «черных ящиков» генетических банков для направленного использования генетического разнообразия, интрогрессии новой генплазмы в генофонд зерновых культур. Исследования структуры ДНК позволили сделать большой рывок к ДНК-маркерам и молекулярным маркерным технологиям. MAS – селекция явилась новым инновационным методом повышения эффективности создания принципиально новых сортов и гибридов.

**Цель исследования** диссертанта выходит далеко за рамки докторской диссертации. Она определена как создание инновационных молекулярно-генетических технологий и их использование для генетического картирования хозяйственно-ценных признаков, изучения генетических ресурсов, эффективной оценки и отбора селекционного материала для создания перспективных сортов и гибридов зерновых культур. Причем поставлена цель разработать инновационные технологии не в размахе одной культуры (одного вида), а исследования проведены сразу по нескольким очень важным зерновым культурам (ржи, ячменю, пшеницам диплоидным, тетраплоидным, гексаплоидным и их диким родичам), что ставит эту работу в разряд **уникальных**.

**Научная новизна.** Все разделы экспериментальной части диссертации содержат новые знания по генетике пшеницы, ржи, ячменя и вносят огромный революционный вклад в мировую биологическую и сельскохозяйственную науку.

Впервые в мире проведена полная расшифровка генома ржи (*Secale cereale* L.) и создан первый масштабный набор SNP-чипов для этой культуры. Найдены маркеры, которые тесно связаны с геном восстановления фертильности пыльцы *Rfp1* у ржи, разработаны маркерные анализы для маркер-поддерживающей селекции на основе ПЦР.

Впервые определены количество, местоположение и структура геномных регионов, участвующих в устойчивости к низким температурам в F2 популяции озимой ржи с помощью анализа QTL оценена структура популяции европейского селекционного материала и генетических ресурсов по локусам *Fr R2* и *Fr1* для определения их потенциала для QTL устойчивости к низким температурам. Впервые разработаны модели геномного прогнозирования, присваивающие большой вес локусу *Fr2* и позволяющие увеличить интенсивность отбора на устойчивость к низким температурам у ржи.

Впервые в мире была создана наиболее полная молекулярно-генетическая карта мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) с использованием SSR-

маркеров. Эта работа явилась основой для молекулярно-генетического картирования признаков у пшеницы и имеет более 2200 научных цитирований.

Впервые была оценена возможность применения геномного отбора по двенадцати признакам качества солода в двух коммерческих программах селекции ярового и озимого ячменя. Использование геномного отбора при селекции пивоваренного ячменя имеет огромный потенциал для снижения затрат на фенотипирование признаков качества, увеличения интенсивности отбора и сокращения циклов размножения.

Впервые при использовании полногеномной ассоциации в сочетании с надёжной стратегией перекрёстной проверки был определен один локус устойчивости к заморозкам с основным эффектом, расположенным на хромосоме 5В. Показано также, что он не находится в генетическом сцеплении с известными локусами устойчивости к заморозкам *Fr-B1* и *Fr-B2*. Впервые показано, что применение подходов геномной селекции, которые учитывают локусы с небольшими размерами эффекта, позволили значительно улучшить прогнозирование генетической вариации устойчивости к заморозкам у пшеницы. Разработанная модель прогнозирования представляет большую ценность для селекции на устойчивость к низким температурам.

Впервые показано важное значение разработанных молекулярных маркеров ключевых генов для анализа генетических ресурсов по устойчивости пшеницы к низкотемпературному, осмотическому стрессам и засухе. Генотипы с длинными корнями, колеоптилем и флаговым листом, как это определено аллельным статусом *Rht1*, в не стрессовых условиях имели самый высокий индекс толерантности и сохраняли это преимущество при стрессе, в то время как генотипы с более низкой энергией прорастания были более сильно подвержены воздействию стресса.

Впервые доказана возможность использования высокополиморфных SSR-маркеров, локализованных на геноме D мягкой пшеницы (*T. aestivum* L.) для анализа 113 образцов *Aegilops tauschii* (Coss.) Schmal.

Показана возможность исследования диплоидных видов пшеницы при помощи 25 SSR-маркеров для оценки генетической дивергенции их генофонда, а также для таксономических и эволюционных исследований.

В отзыве, имеющем ограниченные рамки, невозможно отразить все стороны инновационной научной работы. Она стоит на самых высоких позициях мировой биологической науки и *определяет дальнейшее развитие исследований в этом направлении.*

**Теоретическая и практическая значимость работы.** Опубликованные соискателем результаты, созданный генетический материал и молекулярные маркеры ключевых генов, определяющих хозяйственно-ценные признаки используются в научных исследованиях и в селекционном процессе основных зерновых культур в мире. Экспериментально доказана

эффективность геномных технологий и MAS отбора в практической селекции зерновых культур. Проведено всестороннее изучение, детальное картирование с определением генов-кандидатов и создание нового улучшенного генетического материала с геном восстановления фертильности пыльцы *Rfpl* у озимой ржи. Эти работы послужили важнейшей теоретической предпосылкой прорыва в улучшении селекции гибридной ржи на устойчивость к спорынье (*значительного* уменьшения риска токсичности продовольственного зерна) и повышения стабильности урожая гибридной ржи.

**Степень достоверности и апробация работы. Основные научные положения, выносимые на защиту, заключение и рекомендации селекции** подтверждены многолетними исследованиями. Они базируются на огромном экспериментальном материале, полученном при создании и использовании самых передовых генетических и биотехнологических инструментов, современного лабораторного оборудования, статистически проанализированы с использованием современных методов анализа. Подтверждаются высокой степенью цитирования опубликованных автором 170 научных работ в ведущих научных (80% в Q1 и 20% в Q2) изданиях. Результаты исследований доложены автором на 115 международных конференциях, съездах и совещаниях. Научные и селекционные достижения защищены тремя патентными заявками.

**Общая характеристика работы.** Объем, структура, содержание и оформление работы соответствуют современным требованиям, предъявляемым к докторским диссертациям. Диссертационная работа состоит из введения, обзора современной научной литературы, одной структурированной главы экспериментальной части, обсуждения, заключения, списка сокращений и списка цитируемой литературы (1365 источников). Диссертация изложена на 281 странице машинописного текста, иллюстрирована 10 таблицами и 83 рисунками.

Во **введении** соискатель обосновывает актуальность темы, ставит основную цель и задачи, характеризует научную новизну и практическую значимость исследований, декларирует основные положения, выносимые на защиту, а также формы апробации результатов и личное участие в исследованиях. Соискателем подчеркивается, что создание инновационных молекулярно-генетических технологий и их использование для генетического картирования хозяйственно-ценных признаков, изучения генетических ресурсов, эффективной оценки и отбора селекционного материала является одним из главных прорывных направлений увеличения урожайности, качества конечной продукции и валовых сборов зерна.

Системность применения новых молекулярно-генетических инструментов и методов в селекционно-генетических и семеноводческих исследованиях приводит к значительному прогрессу в познании растительного организма и в селекции.

**Глава 1** носит обобщающий характер и посвящена анализу литературных источников по общему состоянию проблематики, связанной с изучаемыми соискателем вопросами. Причем количество цитированной литературы беспрецедентно, 1365, в том числе собственных работ- 124. Подробно рассмотрены вопросы развития молекулярно-генетических исследований во времени, анализ современного состояния развития технологий молекулярной биологии и их применение в селекции. Оценено состояние работ по составлению молекулярно-генетических карт и сравнительному, ассоциативному картированию. Проведен подробный анализ MAS-селекции, GWAS-технологии и общегеномному (GS) отбору используемых в селекционной практике. Творческий анализ современного состояния развития молекулярно-генетических технологий заслуживает самой высокой оценки и отдельных публикаций в виде монографий. Эти книги дадут новый толчок для интенсификации использования инновационных методов в селекции растений и дальнейшего развития исследований в этом направлении.

Во **второй главе** представлены растительный материал, популяции для картирования генов и локусов, методы генетического анализа, методы оценки фенотипирования по устойчивости к болезням и методы статистической обработки данных (построение молекулярно-генетических карт хромосом, групп сцепления и картирование генов; кластерный анализ; анализ генетической структуры популяций; определение расчетной селекционной ценности (GEBV). Необходимо подчеркнуть колоссальную масштабность экспериментальной работы соискателя.

**В третьей главе** сосредоточена вся экспериментальная часть работы.

Так, в разделе 3.1. показано творческое применение 25 SSR-маркеров на 23 образцах *Triticum urartu*, 26 - *Triticum monococcum* и 24 - *Triticum boeoticum* различного географического происхождения для выявления генетической изменчивости у диплоидных видов пшеницы. Дендрограмма, полученная на основе данных SSR-маркеров, показала разделение между *T. urartu* и *T. boeoticum*, что способствовало их таксономической дифференциации. Генетические дистанции использовались автором для создания дендрограммы, показывающей родство между образцами. Соискателем доказано, что метод использования SSR-маркеров полезен для рационализации материала в генетических банках, является надёжным

средством оценки генетического родства у диплоидных пшениц, а также представляет большие возможности для определения достоверности межсортовых хромосомных замещений.

Проведено исследование генетического разнообразия диких форм ржи из центра происхождения, а также популяций местных форм и современных сортов из Восточной и Центральной Европы, Средиземноморского бассейна и Америки. С помощью 32 SSR-маркеров, распределённых по всем хромосомам ржи, и компьютерного пакета STRUCTURE удалось установить различные уровни разнообразия среди исследуемых популяций. Самый высокий уровень характерен для популяций диких форм. Дополнительный анализ на основе Approximate Bayesian Computation позволил автору сделать вывод о многократном происхождении зерновых и кормовых популяций ржи, вероятно, в нескольких временных промежутках. Таким образом, получены новые знания об эволюционном развитии ржи. Расширение генетической базы гетеротических популяций является ключом к обеспечению дальнейшего генетического прироста в гибридной селекции и распространению гибридных сортов в новые регионы возделывания.

В разделе 3.2 представлен огромный экспериментальный материал по применению методов молекулярной биологии для решения проблемы устойчивости зерновых культур к болезням. Изучен эффект трёх QTL устойчивости к FHB (два QTL от Sumai 3, один QTL из сорта Frontana). Содержание DON и поражение колоса были оценены в полевом эксперименте при искусственном заражении *Fusarium culmorum*. Все три индивидуальных QTL оказали значительное влияние на содержание DON и степень поражения FHB по сравнению с классом QTL без аллелей устойчивости. Наибольший положительный эффект для содержания DON и поражения FHB оказали совмещённые 3B и 5A QTL. 3A QTL от сорта Frontana не улучшала оба признака в сочетании с другими QTL.

Изучение генетической архитектуры устойчивости к фузариозу колоса и предсказание генотипической вариации с помощью разнообразной коллекции из 372 европейских сортов пшеницы (*Triticum aestivum* L.) было проведено с помощью ассоциативного картирования генома. Доказана высокая достоверность предсказания выбора с помощью маркеров на основе обнаруженных QTL.

Также автором было успешно продемонстрировано, что маркеры, обнаруженные в коллекции пшеницы «GABI» и проверенные в популяциях скрещивания, являются пригодными для использования в селекции пшеницы на устойчивость к фузариозу колоса.

Новые подходы автора с помощью геномной селекции, специально разработанных для решения сложных агрономических признаков, приводят к удвоению точности для прогнозирования устойчивости к септориозу по сравнению с моделями, подходящими для обнаружения QTL с большими эффектами.

Впервые разработан SNP маркер для конкурентного аллель-специфического анализа генотипирования полимеразной цепной реакции (KASP), который может объяснить 73 и 97% генетической дисперсии в популяции для выявления устойчивости к стеблевой ржавчине (ген *Sr3* и дополнительно выявленные локусы количественных признаков).

На гомеологической группе *Triticeae* 5 впервые было обнаружено наличие гомологии основного QTL для *SBCMV* устойчивости к церкоспореллезу между геномами пшеницы и ржи. Эти результаты позволили заложить основу для выработки комплексной селекционной стратегии для борьбы с этим заболеванием.

В разделе 3.4 установлены через (почти) близко-изогенные линии надёжных QTL, которые влияют на урожайность, продолжительность green canopy, масса тысячи зёрен и ширину зерна обеспечивают важный первый шаг для продвижения понимания генетического механизма, регулирующего размер зерна и урожайность у полиплоидной пшеницы. Моделирование показало, что незначительные частоты аллелей, наряду с размерами и расстояниями между QTL для двух признаков, повлияли на способность различать генетическое сцепление и плейотропию.

Анализируя результаты исследований, важно выделить форму и стиль их изложения, как одну из сложнейших частей работы соискателя. Именно этот фактор характеризует умение диссертанта не только определять стратегию и грамотно формировать экспериментальную ее часть, но и его способность к обобщению и анализу данных, подаче информации для других. В этой части работы В.Н.Корзуна хотелось бы остановиться на таких моментах, как логичность подаваемой им информации, неперегруженность диссертации табличным материалом, но в то же время, приведенный иллюстративный ряд наглядно отражают полученные автором данные. По основным результатам исследований сделано четкое, отражающее суть исследований заключение, которое логически вытекает из текста диссертации. Содержание автореферата соответствует основным моментам и выводам диссертации.

Диссертацию В.Н. Корзуна мне трудно было оппонировать не только из-за того, что в ней представлены новые знания, но и сама работа мне представилась огромным айсбергом, основная часть которого находится «под

водой». В связи с этим у меня возникли некоторые вопросы, замечания и предложения:

1. Диссертационная работа выполнялась в течение почти 30 лет и разработанные автором новые подходы, технологии, методы, маркеры также создавались во времени. Поэтому для лучшего восприятия и оценки хотелось бы видеть в разделе «методология и методы» дизайн диссертации, что позволило бы проследить последовательное развитие исследований по этой проблеме.

2. В диссертации представлена глобальная цель исследований, которая достигнута, но сформулированные задачи, их всего три, на мой взгляд не соответствуют цели.

3. В работе отсутствуют предложения по селекционной практике зерновых культур, хотя в тексте диссертации и в заключении обозначено широкое использование полученных результатов при создании сортов и гибридов.

4. Очень хотелось бы увидеть эту работу в виде одной или двух монографий, которые очень нужны широкому кругу исследователей, селекционерам, а также в виде учебных пособий для студентов - будущих биотехнологов, селекционеров.

5. Для более широкого внедрения разработанных подходов, технологий в научных центрах России очень важно соискателю написать методические рекомендации для селекции и семеноводства на русском языке.

**Общая оценка.** Диссертация Корзуна Виктора Николаевича «Разработка и применение геномных технологий для молекулярно-генетического картирования и прикладной селекции зерновых культур» является завершённым научным трудом. В нём изложены разработки мирового уровня отличающиеся новизной: от молекулярно-генетических технологий, молекулярных маркерных карт, структурно-функциональной организации геномов до решения практических задач в селекции зерновых культур. Совокупность разработок диссертанта уникальна и вносит революционный вклад в теорию биологической и сельскохозяйственной науки.

Диссертационная работа соответствует критериям, установленным «Положением о присуждении учёных степеней», утвержденного Правительством РФ от 24.09.2013 г. №842 (в редакции 01.10.2018, с изменениями от 26.05.2020), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук, а ее автор, безусловно, заслуживает



присуждения ученой степени доктора биологических наук, по специальностям:

03.02.07 – Генетика

06.01.05 – Селекция и семеноводство сельскохозяйственных растений.

Беспалова Людмила Андреевна

академик РАН, профессор,  
доктор сельскохозяйственных наук по специальности 06.01.05  
«Селекция и семеноводство сельскохозяйственных растений»,  
заслуженный деятель науки РФ,  
заведующая отделом селекции и семеноводства  
пшеницы и тритикале Федерального государственного  
бюджетного научного учреждения  
«Национальный центр зерна имени П.П. Лукьяненко»

Почтовый адрес (рабочий):

350012, Россия, Краснодарский край, г. Краснодар,  
Центральная Усадьба КНИИСХ  
(861) 222-11-20, e-mail: [bespalova\\_l\\_a@rambler.ru](mailto:bespalova_l_a@rambler.ru)

Подпись Беспаловой Людмилы Андреевны заверяю:

заместитель директора по научной работе  
Федерального государственного  
бюджетного научного учреждения  
«Национальный центр зерна имени П.П. Лукьяненко»,  
кандидат с.-х. наук  
Николай Фёдорович Лавренчук

23 августа 2021г.

