

ОТЗЫВ

официального оппонента Кузнецовой Тамары Евгеньевны, доктора сельскохозяйственных наук, на диссертацию Жилина Николая Александровича «Создание исходного материала для селекции ярового ячменя в условиях Волго-Вятского региона с использованием мутагенеза», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности: 06.01.05 – селекция и семеноводство сельскохозяйственных растений.

1. Структура. Диссертация является законченной научной работой, изложена на 171 страницах в компьютерном исполнении. Состоит из введения, трех глав, посвященных изложению результатов исследования, которые представлены в 32 таблицах, 18 рисунках и 21 приложении, заключений, практических рекомендаций, списка литературы, состоящего из 317 наименований, в том числе 124 на иностранных языках.

2. Актуальность темы исследований. Мутагенез и рекомбиногенез являются основным двигателем эволюции всего живого на Земле, причем мутации – изначальный источник всей генетической изменчивости. Великий русский ученый, лауреат Нобелевской премии в области физики, П.П. Капица говорил, что основной задачей генетики является изменение организма согласно запросам практики. Экспериментальный мутагенез в сотни раз увеличивает частоту появления изменённых форм, и поэтому он признан эффективным методом создания генетической variability у растительных организмов. В условиях повышенного требования к возделываемым сортам метод индуцированного мутагенеза становится весьма актуальным. Диссертант Николай Александрович Жилин 10 лет посвятил этому уникальному методу создания ценного исходного материала. У селекции всегда будут оставаться потребности в источниках с максимальным и сверхмаксимальным проявлением одного признака или с наиболее благоприятным сочетанием нескольких признаков. Сейчас коллекционные питомники включают большое разнообразие мутантных форм. Но важно иметь не просто новые, а ценные комбинации признаков, использование которых уменьшит затраты и сократит сроки выведения новых более продуктивных сортов. При мутагенезе создается возможность усиления определенного признака на фоне хорошо адаптированного генотипа.

В настоящее время методом экспериментального мутагенеза получены селекционные мутанты, представляющие компоненты для гибридизации, а также много перспективных сортов, изучающихся в Государственном сортоиспытании.

За 58 лет (1963-2020 гг.) в ФГБНУ «НЦЗ им. П.П. Лукьяненко» методом экспериментального мутагенеза создано множество сортов, однако всего 5 сортов-мутантов (Темп, Секрет, Павел, Хуторок и Серп) успешно прошли Государственное сортоиспытания и включены в Госреестр селекционных достижений РФ. В родословную 90% сортов озимого ячменя входят от одного до четырех мутантов.

В мире среди группы зерновых культур на долю гамму мутантов приходится 70,3%, хемо-мутантов – 11,5%, нейронных мутантов – 7,5% и 2,3% мутантов приходится на другие виды.

Последние годы большой интерес ученых вызывает применение малотоксичных высокоэффективных мутагенов: солей натрия и неионизирующего излучения, в особенности лазерного красного света. Актуальность диссертационной работы Жилина Н.А. связана с изучением эффективности Na_2CO_3 , лазерного излучения в отдельности и комплексного мутагенного действия на выход мутантных форм, созданием ценного исходного материала для селекционной практики.

3. Новизна и значимость исследований. В результате обработки семян ярового ячменя сорта Биос 1 раствором карбоната натрия (Na_2CO_3) и в сочетании с лазерным красным светом (ЛКС) и дальним красным светом (ДКС) впервые научно обоснована их эффективность в создании исходного материала для селекционной практики. Методика обработки оформлена патентом РФ по номером 2464779 от 27.10.2012 г. Создано 190 мутантов, выделены генотипы, представляющие селекционную ценность по скороспелости, элементам продуктивности растения и урожайности. Семнадцать образцов переданы в генколлекцию ФГБНУ ФИЦ «Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова». Создан (в авторстве) и передан в 2020 году на Государственное сортоиспытание сорт-мутант ярового ячменя Памяти Дудина (М 8-3-013, заявка на патент №82980 от 30.11.2020 г.)

Научно обосновано депрессирующее действие мутагенных факторов на содержание хлорофилла «а», каратина, энергию прорастания семян, длину зародышевых корней на первых этапах органогенеза растений ярового ячменя.

4. Степень обоснованности и достоверности выводов и результатов. Представленный большой экспериментальный материал довольно полно и объективно рассмотрен и обсужден. В таблицах представлена математическая обработка, позволяющая судить о достоверности полученных результатов. Автор продемонстрировал хорошее знание методов математической статистики, применив в своих исследованиях коэффициенты корреляции, вариации, депрессии, наследования и наименьшей существенной разности. Таким образом, практические результаты, представленные в таблицах,

рисунках, выводах и предложениях являются достоверными и сомнений не вызывают.

5. Достоинства и недостатки по содержанию и оформлению диссертации.

Диссертация оформлена в соответствии с предъявленными ВАК требованиями. Большой фактический материал доступно и всесторонне рассмотрен, написан грамотным научным языком, читается легко.

В первой главе автор уделит внимание мутагенам в селекции растений и истории их применения. Особо полно представлено физиологическое и мутагенное действие электромагнитного излучения красного диапазона и солей натрия на высшие растения. Изучив большое количество научных статей, автор диссертационной работы смог их проанализировать, интерпретировать содержащихся в них сведения, использовать нужные сведения при написании обзора литературы.

Во второй главе представлены условия проведения исследований за 10 лет (2009-2019 годы), объект исследования (Na_2CO_3 , ЛКС, ДКС), схема и методика выделения мутаций и наблюдений, цитологические и биохимические методы выявления изменений *Waxy*-генов в пыльцевых зернах, ГОСТовские методы по определению и накоплению K^+ и Na^+ в проростках растений и ряд других методик.

Третья глава посвящена результатам исследований. С использованием чувствительный к изменениям тест-системы рецессивной аллели локуса *Waxy* установлена мутабельность карбоната натрия, лазерного красного и дальнего света. Максимальный выход мутантных пыльцевых зерен выявлен в вариантах обработки семян в 0,01н и 0,1н растворе Na_2CO_3 , ДКС+0,1н Na_2CO_3 +ЛКС и ЛКС+0,1н Na_2CO_3 .

Лабораторными исследованиями выявлено депрессивное действие мутагенных факторов на энергию прорастания, всхожесть семян, длину корней, проростков и накопление в проростках количества хлорофилла и карантина.

Существенное снижение полевой всхожести семян наблюдалось при увеличении концентрации раствора карбоната натрия до 1н и облучением дальним красным светом семян, замоченных в дистиллированной воде. Стимулирующее действие мутагенов обнаружено во всех вариантах опыта, кроме варианта 0,1н Na_2CO_3 +ДКС – на общую кустистость и варианта ДКС+0,1н Na_2CO_3 – на продуктивную кустистость.

Длина стебля незначительно отличалась от контрольного варианта. Следовательно, изучаемые мутагены недостаточно эффективны в выделении короткостебельных форм. Рассматриваемые факторы отрицательно оказали влияние на длину колоса, количество колосков и зерен в колосе. В

большинстве вариантов опыта выявлено достоверное снижение массы зерна с колоса от 0,13 до 0,29 грамм, за исключением вариантов $0,1\text{н Na}_2\text{CO}_3$ и $\text{СЗ}+\text{ДКС}$. Наиболее вариабельным признакам были общая ($\text{CV}=38,5-73,0\%$) и продуктивная ($\text{CV}=40,9-68,4\%$) кустистость. Более стабильным был «длина стебля». Максимальная частота хлорофильных мутаций в M_1 отмечена в комплексном варианте $\text{ДКС}+0,1\text{н Na}_2\text{CO}_3+\text{ЛКС}$ – 3,09%. Частота морфологических и физиологических мутаций варьировала от 4,55% до 15,27%. Наибольшее количество семей с изменениями (53) было в варианте с замачиванием семян в $0,1\text{н Na}_2\text{CO}_3$. Индивидуальное облучение замоченных семян лазером красным или дальним светом обеспечивает практически в 2 раза ниже частоту и спектр изменений, чем $0,1\text{н Na}_2\text{CO}_3$.

Изучением характера наследования морфологических и физиологических изменений в M_3 установлена мутантная природа у 60,7% семей, выделенных во втором поколении. Высокая преобладанность отмечена по признакам: низкий стебель – 53,49%, длина колоса – 69,20%, череззерница – 57,17%, раннеспелость – 53,85%, сильная антоциановая окраска остей – 54,55%. Максимальный процент наследуемости морфофизиологических признаков отмечен в вариантах $\text{ЛКС}+0,1\text{н Na}_2\text{CO}_3+\text{ДКС}$ – 73,3%, $\text{СЗ}+\text{ДКС}$ – 71,4%, $1\text{н Na}_2\text{CO}_3$ – 69,4%. Наиболее широкий спектр мутационных изменений выявлен в варианте с обработкой семян раствором $0,01\text{н Na}_2\text{CO}_3$ – 13 типов и частота мутаций составила – 10,66%.

Очень важным для селекции ярового ячменя является выделение раннеспелых форм мутантов с большим количеством зерен в колосе. Установлена тесная связь ($r=0,73$) между уровнем мутирования *Waxy*-гена и морфофизиологическими мутациями. Соответственно, с использованием тест-метода (*Waxy*-гена в пыльцевых зернах) возможно предварительно установить эффективность того или иного препарата на ранних этапах его изучения.

Анализ запасных белков выделенных мутантов с хозяйственно-ценными признаками методом электрофореза в крахмальном геле выявлено соответствие их формул гордеинов с формулой исходного сорта Биос 1 (Hrd A2 B8 F2), что свидетельствует об происхождении от данного сорта. Следовательно, изучаемые мутагены вызвав хлорофильные, морфологические и физиологические мутации не затронули гены, контролирующие синтез запасных белков.

Подглаве 3.7 представлены результаты изучения перспективных мутантных линий в питомниках предварительного и конкурсного сортоиспытания. Максимальную прибавку урожайности показал мутант 8-3-0 13, выделенный в парном варианте $\text{ЛКС}+0,1\text{н Na}_2\text{CO}_3$. По результатам

конкурсного сортоиспытания (2016-2019 гг.) в 2020 году он передан на Государственное испытание под названием Память Дудина.

Таким образом, использование разработанного автором способа создания нового исходного материала повышает эффективность получения перспективного селекционного материала, а включение в комбинацию скрещиваний мутантов с усиленным признаком или комплексом хозяйственно полезных свойств значительно ускорит селекцию по выведению высокоадаптированных урожайных сортов ярового ячменя.

В общем, материалы и обобщения, содержащихся в диссертации, могут быть весьма полезными для селекционеров, генетиков и преподавателей сельскохозяйственных ВУЗов.

В целом к диссертации больших нареканий нет, но в тоже время в работе встречаются некоторые погрешности:

1. Стр. 43 В таблице 12 данные «Сумма поглощенных оснований» с 2016 по 2019 год, вероятно, ошибочные.

2. Стр. 48 В полевых опытах не указана площадь делянки в контрольном питомнике и в питомниках предварительного и конкурсного сортоиспытания.

3. В названии большинства таблиц как в диссертации, так и в автореферате не указан в каком питомнике и в каком году получены данные. Так, в таблицах диссертации 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21; автореферата – 1,2 отсутствует год исследований. В таблицах 22, 23, 24, 25, 26, 28 (диссертация) и 3, 4 (автореферат) не указан питомник и год изучения.

4. Восприятие эффективности разработанного метода по созданию исходного материала было бы значительно выше, если автор в таблицах 29, 30, 31 и 32 представил данные по исходному родительскому сорту Биос 1.

5. В годы исследований погодные условия были благоприятными (2009-2012, 2014 – в фазе кущения; 2015, 2017, 2018 – в течении всей вегетации) для развития и распространения возбудителей болезней ярового ячменя. К сожалению, в работе отсутствуют данные созданного исходного материала по отношению к распространенным болезням.

Эти замечания не влияют на значимости диссертационной работы, выполненной на высоком методическом уровне и легко устранимы. Некоторые замечания учесть в дальнейшей кропотливой селекционной работе.

Диссертация Жилина Н.А., несомненно, представляет собой интересную работу теоретического и практического значения.

6. Полнота публикаций основных результатов диссертации в научной печати. По материалам научных исследований опубликовано 23 работы, 5 из них в изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ. Все работы отражают

результаты диссертации. Его результаты докладывались на 7 международных и на 7 всероссийских конференциях. В 2010 году работа по теме диссертации стала победителем гранта, в 2012 году на международной научно-практической конференции была отмечена дипломом I степени.

7. Соответствие диссертации предъявленным требованиям. Рецензируемая работа является законченным научно-исследовательским трудом. Соискатель продемонстрировал способность ставить научные задачи, успешно и самостоятельно их решать. В целом диссертация соответствует требованиям ВАК МР РФ, предъявляемым к кандидатским диссертациям. Содержание диссертации соответствует автореферату.

8. Мнение о работе и соискателе в целом. Диссертация по своей актуальности, научной новизне, практической значимости полученных результатов позволяет мне высказаться за присуждение Жилину Николаю Александровичу ученой степени кандидата биологических наук по специальности 06.01.05 – Селекция и семеноводство сельскохозяйственных растений.

Кузнецова Тамара Евгеньевна

Доктор сельскохозяйственных наук по специальности 06.01.05 «Селекция и семеноводство сельскохозяйственных растений»

Главный научный сотрудник отдела селекции и семеноводства ячменя

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Национальный центр зерна имени П.П. Лукьяненко»

350012, г. Краснодар, Центральная Усадьба КНИИСХ

8 (861)222-27-09

E-mail:8612222709@mail.ru

Подпись Т.Е. Кузнецовой заверяю:

Ученый секретарь

ФГБНУ «НЦЗ им. П.П. Лукьяненко»

Кандидат сельскохозяйственных наук



/Колесникова

Ольга Федоровна/

10.08.2021 г.