

**МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**



**Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова
Российской академии наук
(ИОГен РАН)**

ул. Губкина, д. 3, г. Москва, ГСП-1, 119991
Тел.: (499) 135-62-13, (499) 135-20-41
Факс: (499) 132-89-62

E-mail: iogen@vigg.ru
[http: www.vigg.ru](http://www.vigg.ru)

УТВЕРЖДАЮ:



Директор ИОГен РАН
Член-корр. РАН А.М. Кудрявцев

А.М. Кудрявцев
_____ 2021

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

Федерального Государственного Бюджетного учреждения науки Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук на диссертационную работу Корзуна Виктора Николаевича «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 и 06.01.05 – селекция и семеноводство сельскохозяйственных растений.

Диссертация Корзуна В. Н. посвящена разработке и применению геномных технологий в практической селекции таких зерновых культур как пшеница, рожь и ячмень. Автором проведены обширные исследования по определению молекулярно-генетических маркеров и на

их основе созданы молекулярно-генетические карты пшеницы, ржи и ячменя. При этом исследовалась перспективность в использовании разработанных маркеров в исследовании генетических ресурсов мягкой и твердой пшеницы, ржи и ячменя по хозяйственно-ценным признакам, а также устойчивости к фитопатогенам и абиотическим факторам внешней среды. Все это, вне всякого сомнения, может быть положено в основу дальнейшей разработки инновационных подходов к оптимизации генетических основ селекции зерновых культур.

Структура и содержание диссертации. Диссертация Корзуна В.Н. построена по традиционному плану и состоит из: введения, обзора литературы, описания материалов исследования и методов, результатов и обсуждения, заключения, списка цитируемой литературы и двух приложений. Работа изложена на 281 странице, содержит 83 рисунка и 10 таблиц. Список литературы включает 1365 источников, из них 124 с участием диссертанта.

Во введении рассмотрены актуальность и степень разработанности проблемы, сформулирована цель и задачи исследований. Отмечены требующие разрешения вопросы, определена научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы, представлены основные положения, выносимые на защиту. Автором указаны обоснование степени достоверности и апробация работы.

Глава 1. «Обзор литературы». Глава посвящена анализу современного состояния и проблемам в селекции зерновых культур, а также анализу применения современных молекулярных технологий в решении задач в селекции. Показаны успехи мировой практики в области получения молекулярно-генетических маркеров, составления генетических карт, картирования генов и QTL. Показано, что построение консенсус-карт основано на использовании общих маркеров в качестве якорей и экстраполировании позиций маркеров, отображаемых между общими маркерами. А развитие технологий сканирования в настоящее время обеспечивает получение неограниченного числа молекулярных маркеров (тип SNP) и позволяет проводить молекулярно-генетические исследования на растениях ячменя, ржи и

пшеницы с комплексными генами.

Автором указано, что все это, в свою очередь, явилось основой развития альтернативных способов картирования генов, таких как ассоциативное картирование, выявляющее гены, детерминирующих фенотипическое варьирование признаков. Молекулярные маркеры обеспечивают возможность использования маркер-поддерживающую селекцию (MAS) зерновых культур путем интрогрессии важных генов от родителя-донора в элитный сорт, что чрезвычайно важно в современных условиях. MAS позволяет на основе выявления связей между генами, контролирующими агрономические признаки, и молекулярными маркерами, значительно ускорить селекционный процесс. Показано, что отбор с помощью молекулярных маркеров позволяет выделять (разделять) растения на ранних стадиях развития. При этом следует учитывать, что в последние десятилетия на смену RFLP и SSR маркеров пришли молекулярные системы, основанные на SNP (single nucleotide polymorphism) и не имеющие ограничений в количестве получаемых маркеров.

Отдельное внимание уделено геномной селекции, являющейся в настоящее время альтернативой традиционной селекции, и включающей способность генерировать и использовать генетическую информацию для планирования новых комбинаций скрещиваний, а также для предсказания урожая и связанных с ним признаков. Большое внимание уделено автором функциональному геномному анализу таких агрономических признаков как устойчивость к абиотическому стрессу и фитопатогенам.

Вопросы, изложенные в обзоре литературе, полностью относятся к тематике исследования и свидетельствуют о глубокой проработке автором научной литературы.

В главе 2 «Материалы и методы» четко описан материал, использовавшийся в работе на различных ее этапах, а так же объемный методический аппарат, адекватный поставленным в работе задачам и включающий как классические методы генетики и селекции, так и новейшие методы молекулярно-генетического анализа.

Глава 3 «Результаты и обсуждения» состоит из пяти разделов. В первом разделе представлены результаты по применению автором современных подходов к анализу генетических ресурсов зерновых культур. В частности, эффективность использования SSR-маркеров была показана автором при выявлении генетической изменчивости у 23 образцов *Triticum urartu*, 26 – *Triticum monococum* и 24 – *Triticum boeoticum* различного географического происхождения. Следует согласиться с автором, что метод использования SSR-маркеров полезен для описания образцов пшеницы в генбанках. Использование высоко полиморфных SSR-маркеров, локализованных в геноме D *Triticum aestivum*, оказалось весьма успешным для анализа 113 образцов *Aegilops tauschii*. Интересно, что число аллелей на маркер варьировало от 11 до 25. В результате наибольшее количество аллелей было найдено у образцов эгилопса с Кавказа, а наименьшее – из Средней Азии. Эти данные вносят дополнительные доказательства в гипотезу происхождения мягкой пшеницы из Средней Азии, а Кавказ – местом ее распространения.

Использование 32 SSR-маркеров, распространенных по всем хромосомам ржи, позволило автору прийти к выводу и многократном происхождении зерновых и кормовых популяций этой культуры. Большой интерес представляют также данные по изучению образцов и популяций ржи из различных генетических коллекций, показывающих непрерывное изменение частот изучавшихся аллелей.

Важными являются успешные результаты автора по использованию SSR-маркеров для определения достоверность замещенных хромосом у линий пшеницы. Это важно, так как самые современные методы цитогенетического анализа не всегда позволяют получить достоверные результаты, когда речь идет о хромосомах одного вида. Хромосомы других видов цитогенетическими методами хорошо различимы. Но на это уходит слишком много времени.

Второй раздел посвящен результатам оценки методами молекулярной биологии устойчивости зерновых к фитопатогенам. Подобное направление в селекции в настоящее время

является приоритетным. Поэтому исследования автора по использованию маркерных систем для картирования генов и QTL, определяющих устойчивость у фитопатогенам следует признать чрезвычайно важным. В результате исследований выявлены локусы, которые не только определяют устойчивость озимой пшеницы к фузариозу колоса (хромосомы 7A, 1B, 5D), но и локусы, снижающие эту устойчивость (хромосомы 1A, 3A, 5D). Показано также, что ген *Sr 3* и выявленные локусы QTL имеют высокий потенциал для использования в программах селекции пшеницы. Чрезвычайный интерес представляют данные, показавшие влияние генов *Ppd-G1* и *Rht-D1* на устойчивость растений пшеницы к фузариозу колоса (*Fusarium head blight*), а также связь этих же генов с устойчивостью к септориозу (*Srptoria tritici blotch*).

Не менее важные результаты получены В.Н. Корзуном при изучении устойчивости растений ржи к стеблевой ржавчине. Автором создан SNP-маркер, являющийся диагностическим для гена *Sr3*. А если учитывать выявленные в процессе исследований дополнительные локусы QTL, то в совокупность, как указывает автор, они имеют высокий потенциал при использовании в селекции гибридов ржи на устойчивость к стеблевой ржавчине. В этом же разделе диссертации приведены весьма интересные данные автора по применению маркерных систем к идентификации генов и QTL, определяющих устойчивость к церкоспореллёзу и пиренофорозу у пшеницы, мучнистый росе у ячменя и таким вирусным заболеваниям у ржи и пшеницы как SBCMV и WSSMV.

В третьем разделе представлены результаты по использованию маркерных систем для характеристики и картирования генов и QTL, детерминирующих устойчивость к низким температурам и засухе зерновых культур. Автором на основе данных, полученных в полевых условиях, определены участки генома ржи, несущие гены устойчивости к низким температурам. Эти данные позволили автору на основе анализа QTL предсказать направление отбора форм устойчивых к низким температурам, а так же дать оценку селекционного материала на наличие генов устойчивости *FrR2* и *Fr1*. Важным является и факт установления трех QTL на

хромосомах 4R, 5R и 7R. Относительно исследований автора в этом плане по озимой пшенице следует отметить обнаруженный им новый локус детерминирующий устойчивость к низким температурам, расположенный на хромосоме 5B и не сцепленный с генами *Fr-B1* и *Fr-B2*.

В четвертом разделе приведены весьма важные данные автора по картированию признаков продуктивности и качества. Это определяется тем, что в целом, в этом направлении до работ автора, получено сравнительно мало результатов. Автором проанализировано 440 линий из двух популяций ржи с использованием маркеров DArT, SSR и SNP. В результате по признакам: урожай зерна, высота растений, масса 1000 зерен, масса зерна с колоса, натура зерна, число падения, содержание общих и растворимых пентозанов, содержание крахмала и белка установлено от 0 до 9 QTL на каждый признак. В свою очередь, эти данные позволили автору высказать предположение о возможности прогнозирования результатов селекции гибридов ржи на основе использования геномного анализа и родословных.

Автором впервые проведены важные исследования по оценке применения геномного отбора по двенадцати признакам качества солода ярового и озимого ячменя. Использование этого метода весьма перспективно для снижения затрат на фенотипирование признаков качества.

Пятый раздел. Интересными и важными являются полученные результаты по восстановлению фертильности у гибридов ржи. Автором найдены маркеры, связанные с генами восстановления фертильности ржи, а также определены гены- кандидаты для *Rfp*-генов.

Научная новизна диссертационного исследования автора определяется рядом приоритетных результатов, полученных при выполнении работы. Это – создание широко информативной молекулярно-генетической карты мягкой пшеницы с использованием SSR-маркеров, расшифровка генома ржи, научное обоснование метода геномной селекции для отбора генотипов пивоваренного ячменя, создание маркеров для определения генов *Rfp* восстановления фертильности ржи, разработка маркеров ключевых генов для анализа

генетических ресурсов устойчивости к биотическим и абиотическим факторам внешней среды.

Обоснованность и достоверность научных положений и выводов диссертационной работы. Работа В.Н. Корзуна выполнена на высоком научно - методическом уровне с использованием современных молекулярно-генетических и классических селекционно-генетических методов, полностью соответствующих поставленным задачам, что и определяет достоверность результатов. Особо следует отметить, что в необходимых случаях результаты исследований подвергнуты статистической обработке.

Результаты работы автора опубликованы более чем в 170 работах.

Выводы, представленные в «Заключении» основаны на полученных экспериментальных данных и сомнений не вызывают.

Практическая значимость работы неоспорима и заключается в экспериментальном обосновании применения молекулярных маркеров и маркерных систем в селекционных программах, таких культур как пшеница, рожь и ячмень. Особую важность имеет и выявленная возможность использования SSR-маркеров для идентификации хромосом замещенных линий пшеницы.

Работа В.Н. Корзуна написана хорошим научным языком, свидетельствующим о высокой профессиональной подготовке автора. По работе имеются следующие замечания:

1. стр.47 (абз.1) Автор ошибочно указывает ревенство диплоидного набора хромосом основному числу хромосом у твердой и мягкой пшеницы.
2. стр. 50 (абз. 5) Следовало указать метод подсчета числа спор изолятов в суспензии.
3. стр.57 (3 абз.3) Говоря о происхождении культуры ржи, автор пишет «Изменение метода уборки урожая в Доримский железный век рассматривается в качестве основной причины выращивания ржи. Археологические записи подтверждают, что с

этого момента рожь постоянно была представлена в семенной кукурузе, в наборе зерен зарезервированных для посева». Но в этот временной период рожь и кукуруза произрастали на разных континентах ?!

4. стр. 62 (абз.3) Требуется дополнительное пояснение, что является причиной различий между замещениями у линий А и В.
5. стр.65 -66 (рис.36) Автор констатирует факт нахождения генов пшеницы *MSH2*, *MSH3* и *MSH6* в геноме ржи, но не дает объяснения почему это произошло. Может это гены ржи и они «обосновались» в процессе эволюции в геноме пшеницы ?
6. стр.91 (абз.2) Не ясно как понимать выражение «удаленный конец хромосомы»?
7. стр. 110 (абз.2) Как понимать выражение «...расположение генов регулированных засухой...»?
8. стр. 114 (абз.1) Нет описания промотора *AtNCED* у трансгенных линий ячменя.

Указанные замечания не снижают теоретическую и научно-практическую ценность работы.

Диссертация В.Н. Корзуна «Разработка и применение геномных технологий для молекулярно-генетического картирования и прикладной селекции зерновых культур» является законченной научно-квалификационной работой, полностью отвечающей критериям п.п. 9-14 «Положение о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ № 842 от 24 сентября 2013 года, а её автор, Виктор Николаевич Корзун, заслуживает присуждения ему ученой степени доктора биологических наук по специальностям 03.02.07 – генетика и 06.01.05 – селекция и семеноводство сельскохозяйственных растений.

Отзыв был заслушан и одобрен на заседании Отдела генетики растений ИОГен РАН

(протокол № 1 от 12 июля 2021 года).

Отзыв на диссертационную работу В.Н. Корзуна «Разработка и применение геномных технологий для молекулярно-генетического картирования и прикладной селекции зерновых культур» составил главный научный сотрудник Лаборатории генетики растений, д.б.н., профессор В.А. Пухальский. Специальность Генетика (03.02.07).

Главный научный сотрудник
лаборатории генетики растений
д.б.н., профессор

В. А. Пухальский

Подпись
удостоверяю

ВРУСКИН С. А.

Зам. директора
по научной работе