

Отзыв официального оппонента
на диссертационную работу Клименко Натальи Станиславовны
**«Генетическое разнообразие сортов картофеля отечественной селекции, изученное
с использованием различных типов ДНК-маркеров»**
по специальности 03.02.07 – Генетика.

В диссертационной работе Клименко Н.С. проведены исследования по изучению генетического разнообразия у широкой выборки сортов картофеля отечественной селекции по типам цитоплазмы и генам устойчивости к различным патогенам картофеля, а именно картофельным нематодам (*Globodera rostochiensis* и *G. pallida*), фитофторозу (*Phytophthora infestans*) и Y вирусу с помощью различных молекулярных маркеров.

Актуальность темы исследования.

Картофель является одной из основных продовольственных культур, как в мире, так и в Российской Федерации. Устойчивость к болезням и вредителям определяет конкурентоспособность сортов картофеля, в связи с чем, создание устойчивых сортов, является приоритетным направлением современной селекции. Доля устойчивых к болезням сортов картофеля, зарегистрированных в Государственном реестре селекционных достижений, с каждым годом увеличивается. Для успешного отбора генотипов с функциональными аллелями генов устойчивости, скрининга большого количества сортов и селекционных клонов картофеля и ускорения селекционного процесса в ведущих селекционных учреждениях активно используются ДНК-маркеры генов, детерминирующих устойчивость к различным патогенам. Молекулярные маркеры особенно незаменимы для выявления образцов, устойчивых к карантинным объектам, для которых затруднено фенотипирование, таким, например, как бледная картофельная нематода (*Globodera pallida*). В настоящее время в мире насчитывается более 7300 селекционных сортов картофеля. Разработка методов изучения генетического разнообразия и генотипирования сортов существенно расширяет возможности регистрации, систематизации и сохранения сортового генофонда в генбанках, и его рационального использования в селекции и семеноводстве. SSR генотипирование необходимо для генетически обоснованного подбора исходного материала для скрещиваний, а также целенаправленного расширения генетического

разнообразия в коллекциях. Таким образом актуальность работы не вызывает сомнений.

В диссертации Клименко Н.С. представлены результаты, обладающие научной новизной и имеющие большую практическую значимость.

В работе впервые получены данные о генетическом разнообразии обширной выборки сортов картофеля отечественной селекции с использованием различных типов ДНК-маркеров по генам устойчивости и типам цитоплазмы что, несомненно, несет как фундаментальный, так и практический интерес. Выявлены сорта картофеля с маркерами генов, контролирующими устойчивость к цистообразующим нематодам, вирусу Y картофеля, а также сорта с внутригенными маркерами доминантных аллелей генов *RB/Rpi-blb1/Rpi-sto1*, детерминирующих устойчивость к широкому спектру рас возбудителя фитофтороза, что представляет несомненный интерес для селекции.

Также впервые выявлены сорта картофеля отечественной селекции с W/γ-типом цитоплазмы, что позволит использовать данные сорта в селекции как материнские формы. В работе впервые получены молекулярно-генетические паспорта отечественных сортов картофеля, которые могут служить в качестве эталонных образцов, что, несомненно, важно как для селекционного процесса, так и для анализа идентичности и однородности образцов в генбанках и определяет практическую значимость работы.

Краткая характеристика основного содержания диссертации.

Структура диссертации.

Диссертация Клименко Н. С. изложена на 225 страницах. Состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, результатов и обсуждения и заключения. Список литературы включает 430 источников, в том числе 332 – на иностранном языке. Текст диссертации содержит 47 таблиц и 15 рисунков.

В разделе «**Введение**» отмечена актуальность работы, сформулированы цели и задачи исследования, разъяснены научная новизна и практическая значимость. Цель работы соответствует поставленным задачам.

«**Обзор литературы**» состоит из 3 глав и занимает 47 страниц машинописного текста. Обзор изложен интересно, полно, и отражает высокий уровень знаний автора в исследуемых вопросах. Следует отметить, что автором проработано очень большое количество отечественных и зарубежных источников. Дано подробное описание и систематизация молекулярных маркеров, использующихся для идентификации генов устойчивости картофеля. Особое внимание уделено интрогрессии генов,

детерминирующих устойчивость к вредным организмам от диких видов картофеля в селекционные сорта. Достоинства обзора – краткий вывод после каждой главы и иллюстрации таблицами и рисунками, существенно дополняющими текст. В целом обзор охватывает все проблемы, затронутые в работе диссертанта. Есть мелкие недочеты такие, как мелкие опечатки (стр. 29) но они, безусловно, не умаляют основных достоинств обзора – объема, четкости и информативности в изложении материала.

В главе **«Материалы и методы»** подробно описан взятый в анализ растительный материал – это выборка из 214 сортов картофеля, созданных в СССР, РФ и странах СНГ. Также подробно описаны основные методы, использованные в работе: методы выделения ДНК, проведения ПЦР анализа, статистические методы, методы оценки фертильности пыльцы и создания генетических паспортов сортов картофеля. В работе были использованы различные типы ДНК маркеров, включая SSR маркеры из набора PGI (potato genetic identification).

В главе **«Результаты и обсуждение»** даны основные результаты исследования с кратким заключением по каждой главе. Результаты представлены четко и ясно, автором проведен большой объем работы. По направлению исследований, проведенных автором, главу «Результаты и обсуждение» можно условно разделить на три части. В первой части излагаются результаты оценки генетического разнообразия российских сортов картофеля по типам цитоплазм. В результате в выборке из 214 сортов картофеля впервые были идентифицированы четыре типа цитоплазм: D, T, W/ γ и A. Большим плюсом работы является то, что данные молекулярного скрининга подтверждаются результатом анализа фертильности пыльцы, а также анализа родословных исследуемых сортов. Диссертантом получены, несомненно, значимые фундаментальные результаты. Данные, полученные автором, с одной стороны подтверждают литературные данные о тетрадной стерильности пыльцы сортов с W/ γ -типом цитоплазмы и присутствии среди сортов с T-типом цитоплазмы фертильных генотипов. Однако данные об ассоциации D-типа цитоплазмы с мужской стерильностью в настоящей работе не подтвердились. Это очень интересные результаты и хотелось бы, чтобы автор делал по ним более развернутые фундаментальные выводы. Полученные в работе данные генетического разнообразия российских сортов картофеля по типам цитоплазмы имеет большое значение для селекции, что, безусловно, определяет большую практическую значимость работы. Далее представлены результаты молекулярного скрининга генов устойчивости

картофеля к различным патогенам (цистообразующим нематодам, возбудителю фитофтороза и Y вирусу) причем с привлечением данных по устойчивости взятых в анализ сортов, что является несомненным достоинством работы. В работе подтверждена высокая специфичность маркеров 57R и N195 гена *H1* к патотипу Ro1 золотистой цистообразующей картофельной нематоды (*Globodera rostochiensis*). В связи с низким уровнем устойчивости отечественных сортов к этому патогену тем более значимы полученные результаты по выявлению устойчивых сортов, таких как 'Даная' и 'Вымпел', устойчивых как к патотипам Ro1 и Ro5 *G. Rostochiensis*, так и к патотипу Pa3 бледной картофельной нематоды *G. Pallida*, являющейся карантинным объектом. Были выявлены 15 сортов с маркерами генов *Rysto/Ry-fsto*, детерминирующих устойчивость к Y вирусу картофеля и выявлены сорта с маркерами генов *RB/Rpi-blb1/Rpi-sto1*, контролирующими устойчивость к широкому спектру рас возбудителя фитофтороза (*Phytophthora infestans*). Надо отметить, что автор не остановился на простой идентификации генов устойчивости, а провел структурный анализ участков генов *RB/Rpi-blb1* и *Rpi-sto1* отобранных устойчивых сортов и выявил их гомологию с представленными в GeneBank нуклеотидными последовательностями функциональных аллелей этих генов у устойчивых образцов диких мексиканских видов *S. bulbocastanum* и *S. Stoloniferum*, что также является большим достоинством работы. В заключительной части результатов представлены данные SSR генотипирования и разработка молекулярно-генетических паспортов сортов Ленинградского НИИСХ «Белогорка» с привлечением данных по генам устойчивости. Использование данных генетических паспортов как эталонных образцов для проверки подлинности и однородности образцов белогорских сортов, полученных из различных источников, которое было проведено диссертантом, является наглядным примером большой практической значимости данной работы. Кроме того, надо отметить, что в работе большое внимание уделяется сравнению полученных автором результатов с данными полученными ранее в других работах, что, несомненно, является большим достоинством работы.

В главе «**Заключение**» суммированы результаты исследования. Однако стоит отметить, что лучше было бы отдельно выделить главу «**Выводы**», а в главе «**Заключение**» кратко суммировать полученные результаты.

Достоверность полученных результатов определяется использованием проверенных методик исследований, широкой апробацией результатов эксперимента на научно-практических конференциях, применением методов статистического анализа

экспериментального материала, публикацией научных статей в центральных журналах, освещающих с достаточной полнотой содержание диссертации.

Замечания и вопросы

1. Замечание к обзору литературы (стр 29) - когда возбудитель фитофтороза *Phytophthora infestans* (Mont.) De Bary упоминается впервые лучше дать его полное латинское название и далее – сокращенное.
2. В работе автор пишет, что «оценить результативность маркеров гена Gro1-4, контролирующего устойчивость к патотипу Ro1 *G. rostochiensis*, не представлялось возможным». Будет ли продолжена работа по верификации данных маркеров на расширенной выборке устойчивых сортов, носителей гена Gro1-4?
3. В работе не приведены данные анализа полиморфизма SSR маркеров, взятых для генотипирования, и подробно не даны основания выбора именно этих маркеров для работы. Являются ли они международным стандартом?

Общее заключение. Основные результаты диссертации опубликованы в 10 научных статьях, из них 6 – в журналах, рекомендованных ВАК РФ и 7 – в журналах, индексируемых в Web of Science и Scopus. Результаты исследования широко апробированы на различных российских и международных конференциях.

В целом следует отметить, что в работе приведен большой фактический материал, изученный на современном уровне с использованием передовых молекулярно-генетических методов. Достоверность результатов, полученных автором в рамках проведенных исследований, не вызывает сомнений. Выводы, сделанные автором, соответствуют поставленным задачам, автореферат полностью отражает содержание диссертации. Еще раз хочу подчеркнуть, что данное исследование является интересной, объемной и важной работой и все высказанные замечания ничуть не умаляют ее высокой научной и практической значимости.

На основании вышеизложенного считаю, что диссертация Клименко Натальи Станиславовны является завершенной научно-квалификационной работой, выполненной на хорошем методическом уровне с использованием современных молекулярно-генетических методов, а ее содержание полностью соответствует всем требованиям, представленным в «Положении о присуждении ученых степеней»,

утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 № 842 (ред. от 01.10.2018 г).

Таким образом, Клименко Наталья Станиславовна несомненно заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – Генетика.

Официальный оппонент:
ведущий научный сотрудник лаборатории
иммунитета растений к болезням
«Всероссийского научно-исследовательского
института защиты растений»

кандидат биологических наук
по специальностям 06.01.11 - Защита растений, 03.00.15 – Генетика

Баранова Ольга Александровна

29 августа 2022 г.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений» (ФГБНУ
ВИЗР)

196608 Санкт-Петербург, Пушкин, ш. Подбельского, д.3, тел.470-43-84, info@vizr.spb.ru

Подпись руки

Удостоверяю

Секретарь
директора



Баранова О.А.

М.А. Кашталова