ОТЗЫВ

официального оппонента Ильницкой Елены Тарасовны на диссертационную работу Агаханова Магамедгусейна Магамедганифовича «Генетическое разнообразие и селекционная ценность образцов ампелографической коллекции ВИР», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 06.01.05 – Селекция и семеноводство сельскохозяйственных растений.

Диссертационная работа Агаханова Магамедгусейна Магамедганифовича посвящена изучению и анализу генетического разнообразия коллекции генетических ресурсов винограда ВИР для последующего использования генофонда в селекции.

Актуальность темы. Тема диссертации, её актуальность не вызывает сомнений поскольку изучение существующих генетических коллекций винограда, в том числе с привлечением молекулярно-генетических методов, создаёт основу для дальнейшей селекционной работы и совершенствования сортимента винограда, а также расширяет знания о сохраняемом генофонде культурных растений.

Новизна исследований. Диссертантом получены новые знания о биологических признаках образцов винограда из коллекции ВИР в условиях Северного Кавказа. Выявлен сорт, проявляющий высокую устойчивость к болезням милдью и оидиум, созданы гибридные популяции с использованием данного образца в качестве родительской формы, выполнено генотипирование популяций с использованием микросателлитных маркеров. Выборка сортов винограда оценена по эффективности введения в культуру *in vitro*. Впервые выполнено высокопроизводительное секвенирование и предложен первый вариант сборки генома устойчивого к грибным заболеваниям сорта ‘Dixie’ – представителя вида *V. rotundifolia.*

Теоретическая и практическая значимость. Полученные данные о фенотипическом и генетическом разнообразии коллекции имеют как теоретическое, так и прикладное значение. Так, данные об устойчивости сортов к грибным заболеваниям, сроках созревания будут востребованы селекционерами при подборе пар для скрещиваний. Созданные автором гибридные популяции могут быть использованы для дальнейшей

селекционной работы, а также для картирования генов устойчивости. Созданный в ходе исследования и депонированный в базу данных NCBI вариант сборки генома образца *V. rotundifolia* сорта 'Dixie' служит инструментом для дальнейших исследований по идентификации локусов устойчивости и выявления интрогрессированных фрагментов в геномах отдалённых гибридов.

Публикации. По результатам работы опубликовано 14 научных работ, в том числе пять статей, две из которых опубликованы в изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки России.

Соответствие диссертации заявленной научной специальности. Диссертационная работа Агаханова М.М. по научной концепции, содержанию и результатам исследований соответствует паспорту специальности 06.01.05 – Селекция и семеноводство сельскохозяйственных растений.

Степень обоснованности и достоверности научных положений, выводов и рекомендаций. Научные положения, выводы и практические рекомендации диссертации обоснованы результатами исследований. Исследования основывались на анализе отечественных и зарубежных литературных источников в области сортоизучения, селекции и генетики винограда. В работе автор применял современные методы геномного анализа, полевых и лабораторных исследований, провел статистический анализ полученных результатов, что позволяет считать научные положения, выводы и рекомендации обоснованными и достоверными.

Структура диссертационной работы. Работа состоит из введения, трёх глав (обзор литературы, материалы и методы, результаты и обсуждение), заключения и приложений. Диссертация изложена на 160 страницах компьютерного текста, содержит 23 таблицы, 32 рисунка и 7 приложений. Список литературы включает 367 наименований, в том числе 303 зарубежных, 7 электронных ресурсов.

Во введении автор раскрывает актуальность темы диссертационной работы, цель и задачи исследования, отражает новизну, теоретическую и практическую значимость результатов исследований.

В литературном обзоре, которому посвящена первая глава, опираясь на отечественную и зарубежную научную литературу, автор на 37-ми страницах приводит современную классификацию винограда, обзор сохраняемого генофонда культуры в различных коллекциях мира, в том числе и дает

описание коллекции винограда, сохраняемой в ВИР. Приведены описания наиболее значимых патогенов виноградной лозы (милдью, оидиум, филлоксера), а также представлены актуальные в настоящее время результаты идентификации локусов устойчивости у винограда к данным вредным организмам. Далее автор уделяет внимание теме молекулярных методов в изучении винограда. Завершает автор обзор литературы анализом вопроса сохранения образцов винограда в дублетных коллекциях, в том числе с привлечением методов *in vitro* и криоконсервации.

Вторая глава посвящена объектам и методам исследований. Краткая характеристика объектов исследования (сортов винограда из коллекции ВИР используемых в данной работе) представлена в Приложении 1. Приведено описание методов исследования и статистических методов обработки данных.

В шести разделах третьей главы представлены экспериментальные данные и их анализ. Выполнены фенологические наблюдения на 73 сортах винограда, произрастающих на ампелографической коллекции Дагестанской опытной станции ВИР, по результатам исследований определены группы сортов всех сроков созревания - от сверхранних до очень поздних. Далее представлены результаты оценки устойчивости образцов коллекции к милдью и оидиуму, а также характеристика образцов по силе роста. Определено, что 93 % изученной выборки восприимчивы в средней и высокой степени к поражению данными патогенами, однако были выделены и устойчивые генотипы. По совокупности показателей, высокой устойчивостью и силой роста, выделяется группа межвидовых комплексных гибридов с американскими видами. Наибольший интерес вызывает сорт Кара яй изюм, который проявил абсолютную устойчивость в годы наблюдений. Далее автор указывает, что данный сорт был использован для создания гибридных популяций в качестве отцовской формы, приведены схемы скрещиваний и первые результаты фенотипической оценки устойчивости F1 гибридов, с использованием микросателлитных маркеров проведено генотипирование гибридных популяций для определения их генетической структуры. Следующий раздел главы посвящен изучению генетического разнообразия коллекции винограда: 73 сорта из коллекции Дагестанской опытной станции ВИР были проанализированы с использованием восьми микросателлитных маркеров. Представлены результаты статистической обработки данных микросателлитного анализа. Далее автором подробно изложена работа

проведённая по полногеномному секвенированию образца *V. rotundifolia* (сорта 'Dixie'). Последний раздел третьей главы посвящен микроклональному размножению образцов коллекции и содержит результаты сортспецифичного подбора питательных сред для ряда образцов различного генетического происхождения.

В заключении представлены основные научные выводы по результатам проведённых исследований.

Оценка языка и стиля диссертации и автореферата. Диссертация написана научным языком, результаты и выводы изложены доступно. В работе достаточно подробно рассмотрены все аспекты изучаемых вопросов. Автореферат соответствует содержанию и главам диссертации.

Личный вклад автора. Автором самостоятельно получены основные результаты, изложенные в работе. Автор провёл анализ литературных данных, планирование экспериментов, лабораторные исследования, обработку и систематизацию экспериментальных данных.

Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертационных исследований в практической работе. Результаты работы, в первую очередь, будут интересны селекционерам винограда. Полученные данные об устойчивости образцов коллекции к грибным заболеваниям в условиях Северного Кавказа могут быть успешно использованы при создании новых сортов винограда, автор рекомендует девять выделенных высокоустойчивых к милдью и оидиуму генотипов для селекции. Разделение сортов по срокам созревания будет ценно при разработке схем скрещиваний по созданию сортов различных сроков созревания. Подобранная питательная среда для микроразмножения шести сортов винограда может быть использована для ускоренного микроклонального размножения этих сортов.

Работа является завершенным научным исследованием в свете поставленных задач, достаточно хорошо оформлена, подтверждена опубликованными материалами. Основные результаты работы опубликованы в научных журналах, сборниках и доложены на конференциях, результаты впервые секвенированного генома образца *V. rotundifolia* сорта 'Dixie' представлены в международных базах данных.

При этом к работе имеются отдельные замечания:

1. В Приложении 1 – Характеристика изученного материала, под номером 7 указан сорт «Красностоп золотистый». Вероятно, наименование сорта указано с ошибкой и имелся ввиду сорт «Красностоп золотовский».

2. В примечании табл.1 автореферата, примечании рисунка 11 и Приложения 3 диссертации приведены группы сортов по происхождению. Названия групп сортов приведены не совсем корректно. Автору следует быть внимательнее с правильностью написания названий групп сортов: «Восточная группа», «Бассейна Черного моря», «Западноевропейская группа» и указывать принадлежность к виду *Vitis vinifera,* тем более, что уже, например, в примечании к рисунку № 3 автореферата приведены корректные наименования групп с использованием систематики на латыни (convar *orientalis* Negr. — восточная, convar *pontica* Negr. — бассейна Черного моря и convar *occidentals* Negr. — западноевропейская). Группу «внутривидовые гибриды», также корректнее было бы обозначить «внутривидовые гибриды *V. vinifera*», а «межвидовые гибриды» в данном случае как «межвидовые гибриды с участием северо-американских видов», так как автор отдельно выделяет «европейско-азиатские гибриды». Также в работе автор разделяет сорта на «смешанно-комплексно устойчивые», «европейско-азиатские гибриды» и «межвидовые гибриды» - необходимы пояснения как именно распределяли сорта по группам в данном случае.

3. В тексте работы и автореферате указано «..SSR-анализ с использованием 10 микросателлитных праймеров», «…были проанализированы с использованием восьми микросателлитных праймеров…» — в данном случае термин «праймеры» применяется не корректно, правильным будет выражение «SSR-анализ с использованием 10 микросателлитных маркеров» или «SSR-анализ по десяти микросателлитным локусам».

4. Не совсем понятно каким методом проводили определение размеров амплифицированных фрагментов при генотипировании образцов. Так, на стр. 52 диссертации указано: «продукты амплификации разделяли электрофорезом в 1 % агарозном геле…», на стр. 54 – «электрофоретический анализ геномной ДНК, продуктов ПЦР проводили в 1 % агарозном геле…», при этом на стр. 54 ниже автор пишет, что «Анализ размеров амплифицированных фрагментов проводили на генетических анализаторах…».

5. Возникает вопрос о фитопатологической оценке гибридов F1. Автор указывает, что в 2020 году были проведены скрещивания для получения исследуемых гибридных популяций, при этом уже в 2021 году проведена оценка устойчивости гибридов «к оидиуму и милдью гроздей» (стр. 74 диссертации), а также «….выявлены гибридные сеянцы с иммунитетом к оидиуму листьев и гроздей….» (стр. 104 диссертации, стр. 23 автореферата).

6. При представлении данных по фенотипической оценке устойчивости образцов винограда к милдью и оидиуму, принято указывать погодные условия; при этом, кроме показателей температурных условий, приводят сведения о количестве осадков, что даёт более полное понимание об условиях для развития исследуемых болезней.

7. Раздел 1.3 «Наиболее распространённые болезни винограда» в главе 1 Обзор литературы следовало назвать «Наиболее распространённые болезни и вредители винограда», так как в данном разделе, кроме описания милдью и оидиума, автор приводит описание филлоксеры (насекомого-вредителя).

8. В подразделе Обзора литературы, посвященному SSR-маркерам, считаем, что следовало бы указать, что в настоящее время именно эта ДНК-маркерная система является общепринятой для фингерпринтинга генотипов винограда и существует стандартный набор SSR-маркеров, утверждённый международной организацией винограда и вина, для ДНК-профилирования сортов винограда.

Указанные замечания не влияют на общую положительную оценку диссертации как научного исследования. В целом, рецензируемая работа, написанная автором на основании экспериментальных исследований и их научного обобщения, является законченным научным трудом и вносит вклад в развитие генетики и селекции винограда. Диссертационная работа имеет научное и практическое значение. На основании проведённых исследований автор сформировал предложения для практической селекции.

Диссертационная работа Агаханова М.М. по актуальности, новизне исследований и значимости полученных результатов соответствует критериям, которым должны отвечать диссертации на соискание ученых степеней в соответствии с Положением о присуждении ученых степеней,

предъявляемых к кандидатским диссертациям, а ее автор Агаханов Магамедгусейн Магамедганифович заслуживает присуждения ему искомой степени кандидата биологических наук по специальности 06.01.05 – Селекция и семеноводство сельскохозяйственных растений.

Официальный оппонент:

Ильницкая Елена Тарасовна
Кандидат биологических наук (специальность 06.01.05 – Селекция и семеноводство сельскохозяйственных растений)
Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Северо-Кавказский федеральный научный центр садоводства, виноградарства, виноделия»
Заведующая лабораторией сортоизучения и селекции винограда
350901, г. Краснодар, ул. 40-летия Победы, 39 тел. +7 (861) 252-70-74
e-mail: kubansad@kubannet.ru

«24» августа 2022 г.

Подпись зав. лаб. сортоизучения и селекции винограда ФГБНУ «Северо-Кавказский федеральный научный центр садоводства, виноградарства, виноделия», к.б.н. Ильницкой Е.Т. заверяю:

Учёный секретарь
ФГБНУ «Северо-Кавказский федеральный
научный центр садоводства,
виноградарства, виноделия»,
к.с.х.н Запорожец Н.М.