

ОТЗЫВ официального оппонента

на диссертацию Должиковой Марии Александровны

«Оценка генетического разнообразия, генетическое картирование с помощью SNP и SSR маркеров красной смородины (*Ribes rubrum* L.)» на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7. – Генетика

Актуальность работы. Красная смородина – ценный продукт, культура хорошо приспособлена к прохладному климату, преобладающему в нашей стране, однако 95% производства смородины в России его приходится на частные хозяйства, красной смородины – еще больше. Если еще недавно у нас был импорт свежих ягод, в последние три года и он снижается, между тем в смородине остро нуждается и пищевая промышленность. Таким образом промышленное производство смородины является явно недостаточным. Создание новых урожайных и устойчивых сортов, разработка подходов и методов, ускоряющих этот процесс, безусловно представляет практически очень важную задачу. Если для черной смородины уже проводились работы, проанализированы и отобраны эффективные молекулярные маркеры и локусы, то в отношении коллекции сортов красной смородины получено мало сведений, и работа М.А.Должиковой является первой, где этими методами исследована большая коллекция отечественных и зарубежных сортов, в том числе на основе данных высокопроизводительного генотипирования.

Новизна. Россия занимает первое место в мире по производству смородины, имеется обширная коллекция сортов, которая еще никогда не изучалась генетически и впервые исследована диссертанткой.

Цель и задачи исследований изложены четко и лаконично.

Структура диссертации Диссертационная работа изложена на 160 страницах, (включая Приложения), содержит 9 таблиц, иллюстрирована 10 рисунками и состоит из введения, списка сокращений, обзора литературы, описания материала и методов исследований, результатов и обсуждения, заключения, выводов, списка использованной литературы, включающего 219 источников, в том числе 138 на иностранном языке и трех Приложений, содержащих 20 таблиц.

Глава 1. Обзор литературы полный но небольшой, 30 страниц, литературные сведения обобщены. Описаны исследуемая группа растений, разные ДНК-маркеры, охарактеризованы преимущества каждой группы и области применения, хотя некоторые маркеры, не использованные в данной работе (например, QTL), могли быть описаны

более кратко. Обоснован выбор маркеров для работы с красной смородиной, оценена значимость генетической паспортизации сортов

Глава 2 Материалы и методы.

В описании объектов исследования указано, какие сорта созданы в ВНИИСПК (18), какие в других учреждениях РФ (27), какие сорта европейской и американской селекции (29). Изучена также расщепляющаяся гибридная популяция, представленная 140 растениями. Описано как производился отбор и обработка материала, процессы выделения и очистки ДНК, проверка и отбор локусов микросателлитов, методики ПЦР и разделения продуктов. Исследование однонуклеотидного полиморфизма производилось с использованием одного из двух подходов, используемых в методе GBS, когда к концам фрагментов ДНК присоединяются уникальные последовательности, содержащие т.н. «штрихкоды», а затем последовательности между ними секвенируются. Методы описаны хорошо, с указанием важных деталей. Перечислены программы статистической обработки полученных данных.

Глава 3 Результаты и обсуждение. Глава включает 7 разделов.

Все образцы были изучены с применением выбранных 14 микросателлитных локусов, сгруппированных в 5 мультиплексных набора. Для всех сортообразцов получены микросателлитные профили, проанализировано распределение аллелей и показатели полиморфизма локусов, определены уникальные и редкие аллели, их сочетания. Выявлено 24 сорта, которые можно идентифицировать по уникальному сочетанию аллелей, и сорта, идентифицируемые по нескольким локусам. По полученным данным была создана и запатентована база данных. По этой базе для 18 сортов красной смородины были сформированы генетические паспорта, по которым можно проверить идентичность сортового материала. На основе микросателлитных спектров для сортообразцов была построена дендрограмма сходства. Для ряда сортов было подтверждено родство генотипов по данным родословных.

Вторая группа маркеров, использованных для изучения генетического разнообразия – однонуклеотидные полиморфизмы SNP, позволяющие получить более детальную информацию. Было обнаружено более 8,5 тыс. биаллельных SNP маркеров, проведен анализ многомерного масштабирования и построен график распределения 75 генотипов. В большинстве сортов присутствовали SNP из других кластеров, что демонстрирует их сложную родословную в результате межвидовой гибридизации.

На основании SNP и SSR маркеров впервые была построена генетическая карта красной смородины, очень важная для дальнейших работ по селекции данной культуры.

Вопросы и замечания. Как можно понять из текста диссертации и некоторых просмотренных мною публикаций, каждый сорт был представлен одним растением. Возможно, именно такая практика и принята, но интересно, а исследовалось ли автором (или кем-либо другим) возможное наличие вниутрисортных различий при молекулярных исследованиях, насколько они могут быть выражены?

Второе относится к таксономии. Она действительно весьма сложная в секции *Ribesia* (как и во всем роде), а у вида *Ribes rubrum* есть около 20 гетеротипных (основанных на разных гербарных экземплярах) синонимов, но тем более нужна аккуратность. На стр. 13 сказано: «Почти все современные сорта красной смородины были получены от таких видов, как садовая смородина (*R. vulgare* Lam.), крупноплодный сорт (*R. vulgare* var. *macrocarpum*), красная смородина (*R. rubrum*), красная смородина скалистая (*R. petraeum* Wulf.)» и т.д. Но на стр. 20 встречаем вид *R. sativum* («Как известно, черная смородина относится к *Ribes nigrum*, тогда как красная смородина может относиться к *Ribes sativum*, *Ribes rubrum*, *Ribes petraeum* Wulfen.»), и на стр. 96 уже к этому виду относят крупноплодную разновидность («смородина обыкновенная крупноплодная (*R. sativum* var. *macrocarpum*)»), и она же фигурирует в списке сортов в Приложении («потомок крупноплодной разновидности смородины обыкновенной»). Между тем, в систематике и у нас и в Европе в последние десятилетия *R. sativum* и *R. vulgare* относят к синонимам *R. rubrum*. И об этом следовало упомянуть в самом начале диссертации дабы избежать путаницы. На сайте орловского института при описании коллекции красной смородины *Ribes rubrum* называют смородиной обыкновенной и также придерживаются концепции, согласно которой *R. sativum* и *R. vulgare* это синонимы *Ribes rubrum*.

На стр. 79 «Вид смородины красной *R. multiflorum*». В научных текстах когда пишут «красная смородина» имеют в виду сельскохозяйственную культуру (или ягоду), а когда смородина красная – это конкретный вид, таксон, и по русски в данном случае это будет смородина многоцветковая.

Третье, главное, замечание касается обсуждения результатов в разделе 3.4. «Изучение генетического разнообразия сортов красной смородины на основании кластерного анализа по данным микросателлитных локусов». Автором отмечены и перечислены все кластеры с высоким и средним бутстрепом, представляющие собой как предсказуемо близкие пары образцов со сходным происхождением, так и неожиданные альянсы.

С максимальной поддержкой 99 – 100% образовались четыре пары сортов, в трех из них у одного из напарников происхождение неизвестно, и еще одна пара представлена зарубежными сортами. В разделе перечисляется еще несколько пар с поддержкой выше 60, имеющих (а иногда и не имеющих) хотя бы одного общего родителя

Но на мой взгляд, стоило рассмотреть не только немногочисленные маленькие группы, объединившиеся с высокой поддержкой, но и вообще топологию дерева. Считается, что высокий бутстреп действительно подтверждает реальность данной группировки, но бывает, что и группы с низкой поддержкой вполне реальны, так получается, когда последовательности очень близки, но различаются немногими позициями, тогда бутстреп обычно низкий.

Если считать, что на дереве 7 субклад (разного порядка), интересно посмотреть, как распределились группы сортов одинакового происхождения. Из 6 сортов от скрещивания сортов Роте Шпетлезе x Йонкер ван Тетс 5 попали в одну кладу (Валентиновка, Дана, Дар орла, Огонек, Орловчанка, Подарок лета) и только один (Чародейка) – в другую. При этом первые пять созданы в орловском институте, а Чародейка – в другом месте, возможно сорт происходит от несколько другого исходного материала. И в ту же кладу, что 5 сортов, попали Бланка и Селяночка, имеющие с теми сортами одного общего родителя (они – гибриды Rote Spatlese × Red Lake), хотя третий такой сорт (Баяна) оказался от этой клады очень далеко. Самая большая группа сходного происхождения – «от свободного опыления сорта Файя плодородная» – 8 сортов (Алтайская рубиновая, Память Губенко, Надежда, Урал красный, Урал сувенирный, - Уральские зори, - Челябинская красная - Памятная), и здесь три первых из перечисленных попали хотя бы в одну кладу, а другие отскочили далеко и даже попали в разные кладу.

Думается, такая картина показывает, что старые и даже старинные, по большей части зарубежные, сорта, преимущественно используемые у нас для селекции, для скрещивания, могут быть неоднородными. Так что не стоит обескураживаться, когда гибриды от одинаковых родителей демонстрируют различия, но стоит при анализе молекулярных данных учитывать, морфологию, географию, возраст сорта и другие факторы. Мне кажется такое прослеживание может быть информативным, и уже полученные данные стоит еще раз проанализировать с учетом разных обстоятельств. Для анализа чистоты сортов как раз могут использоваться данные, полученные в рецензируемой работе.

В целом в диссертации получено много новых ценных данных что потребовало большой работы. Выводы обоснованы. Диссертация написана хорошим языком, хорошо отредактирована. Учитывая актуальность, новизну и объем полученных экспериментальных данных, теоретическую и практическую значимость, диссертационная работа, несмотря на сделанные замечания, несомненно заслуживает высокой оценки. Основное содержание диссертации полно отражено в опубликованных работах в

журналах списка ВАК, материал неоднократно доложен на российских и международных конференциях, автореферат соответствует содержанию диссертации. Таким образом, представленная к защите кандидатская диссертация М.А. Должиковой «Оценка генетического разнообразия, генетическое картирование с помощью SNP и SSR маркеров красной смородины (*Ribes rubrum* L.)» соответствует критериям, установленным в пунктах 9-11 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года №842, (с изменениями от 01.10.2018 г.) предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а её автор, М.А. Должикова, заслуживает присуждения ей ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7. – генетика.

Официальный оппонент:

Шнеер Виктория Семеновна, доктор биологических наук

 подпись

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки

«Ботанический институт имени В.Л. Комарова Российской академии наук»,

лаборатория биосистематики и цитологии

ведущий научный сотрудник

30.04.2025 Дата подписания

197022, г. Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 2,

Ботанический институт имени В.Л. Комарова Российской академии наук (БИН РАН),
лаборатория биосистематики и цитологии

Тел.: +7(812)3725433; e-mail: shneyer@bin.ran

Подпись руки В. С. Шнеер
ЗАВЕРЯЮ напечатанное
ОТДЕЛ КАДРОВ
Ботанического института
им. В.Л. Комарова
Российской академии наук

