

Отзыв
на автореферат диссертации Елены Ивановны Гулятьевой
(Ф.И.О. соискателя)

«Генетическая структура популяций *Puccinia triticina* в России и ее изменчивость под влиянием
растения-хозяина»

(тема диссертации)

представленной на соискание ученой степени доктора биологических наук

(отрасль науки)

по специальности 03.02.12. -микология
(шифр и наименование специальности)

Актуальность исследований. Фитопатоген бурая ржавчина (*Puccinia triticina* Erikss) широко распространен, встречается практически во всех регионах мира и России, где возделывается пшеница. Это одно из самых вредоносных заболеваний, снижающих урожай зерна в годы эпифитотий до 50,0%. Селекция устойчивых к этому заболеванию сортов – экологически наиболее безопасный и экономически целесообразный способ защиты растений. В свою очередь эффективность создания устойчивых сортов зависит от степени изученности расового состава и популяционной динамики патогена.

До недавнего времени методология популяционных исследований бурой ржавчины основывалась на вирулентности. В настоящее время для этих целей широко применяется метод молекулярного маркирования. Результаты, полученные при помощи молекулярного маркирования, показали, в отличие от анализа расового состава по вирулентности, отсутствие дифференциации патогена на группы по географическому происхождению. В связи с тем, что патоген бурой ржавчины поражает другие виды из родов *Triticum*, *Aegilops*, *Elymus*, *Agropyron* и др., что также влияет на популяционную дивергенцию в коэволюции в системе «растение-патоген». В связи с этим исследования, выполненные автором и представленные в автореферате, касающиеся молекулярно-генетической структуры, вирулентности современных популяций *P. triticina*, паразитирующих на пшенице и других видах-хозяевах этого патогена, а также распространение генов устойчивости среди сортов и селекционного материала, являются актуальными.

Новизна исследований и полученных результатов. Системное изучение популяций бурой ржавчины, локализованных в различных регионах России в связи с селекцией на устойчивость и распространением генов резистентности по регионам, проведены впервые. Среди наиболее существенных результатов, полученных в этих исследованиях, по нашему мнению, можно выделить следующие:

- впервые в большом объеме проведено комплексное изучение популяций патогена, представленных различными географическими изолятами с *Tr.aestivum* и других видов - сородичей с привлечением методов молекулярного маркирования и анализа вирулентности, что позволило выявить особенности микроэволюционных процессов, охарактеризовать структуру и механизмы изменчивости, уточнить ареалы популяций и миграцию спор.

- впервые на Северном Кавказе (р. Дагестан) дана характеристика степени молекулярно-генетического полиморфизма дагестанских изолятов *P. triticina*, собранных на видах-сородичах пшеницы, выявлена существенная внутривидовая дифференциация патогена в зависимости от плоидности вида. Установлено, что основополагающим фактором формирования состава популяции, является изменчивость, продуцируемая отбором против конкретных аллелей. Эта динамика популяций патогена затрагивает не только генетические механизмы вирулентности, но и полиморфизм микросателлитных локусов.

- впервые в России при изучении филогенетических связей изолятов, полученных с разных видов-хозяев патогена, использованы SNP-маркеры. Разработаны методические подходы комплексного и наиболее оптимального применения RAPD, УП ПРЦ, SSR и SNP – маркеров для популяционных исследований патогена *P. triticina*.

- в зависимости от устойчивости и её генетического контрроля, дана характеристика сортового влияния на изменчивость популяции патогена. Выявлено распределение разных типов устойчивости среди сортов пшеницы в регионах РФ. Определены эффективность ювенильных *Lr*-генов и перспективные рекомбинации различных *Lr*-генов. В многолетних исследованиях

определена динамика эффективности устойчивости 56 *TcLr* – линий в условиях Северо-Запада России.

- впервые в течение длительного периода (2001-2017гг.) дана характеристика микроэволюционных процессов в популяциях возбудителя бурой ржавчины на территории РФ.

Теоретическое значение работы. Проведённые исследования позволили получить представление о микроэволюционных процессах гриба *P.triticina*. Эти знания целесообразно использовать для обоснования принципов селекции устойчивых к патогену сортов пшеницы. На основе данных 40-летнего периода проведен ретроспективный анализ динамики вирулентности *P.triticina*, что позволило выявить дискретные изменения в популяции возбудителя бурой ржавчины. Применение молекулярных маркеров существенно дополнило результаты этого анализа. Анализ устойчивости и генетического разнообразия изученных сортов, включенных в реестр РФ, позволило выявить их влияние на динамику изменений популяций патогена. Получены данные и проведена оценка распространения Lr-генов среди сортов мягкой пшеницы, включенных в реестр РФ. На основе результатов изучения валидации молекулярных маркеров Lr – генов, отобраны наиболее информативные из них для применения в технологии маркер ассоциированной селекции (MAS).

Практическая значимость работы. Полученные результаты можно использовать, прежде всего, в селекционной практике. Здесь очень важными могут быть установленные закономерности микроэволюционных процессов в популяциях *P.triticina* и определение наличия конкретных Lr-генов в сортах пшеницы. Эти данные являются необходимой информацией для организации эффективной селекции устойчивых к патогену бурой ржавчины сортов пшеницы. Также очень ценными в практической селекции являются, предложенные в работе эффективные Lr-гены и их комбинации. Успешному применению их в селекционной практике будут способствовать также предложенные автором высокоинформативные молекулярные маркеры и разработанные рекомендации по их использованию. Применение этих маркеров позволило соискателю провести обширный скрининг селекционного материала, идентифицировать перспективные устойчивые к бурой ржавчине генотипы и способствовать созданию ряда сортов пшеницы (Силач, Памяти Одинцовой, Челябин, Сигма, Сигма 2, Омская 41, Омская 42,) в качестве их соавтора.

Материал и методы исследований. В качестве материалов для исследования использованы популяции бурой ржавчины из регионов России, сорта пшеницы с идентифицированными генами Lr, генетические коллекции и селекционный материал пшеницы различных учреждений. Сбор изолятов на мягкой пшенице и видах сородичей проводился в 9 регионах России, что охватывает основные территории коммерческих посевов пшеницы с высокой частотой эпифитотийного развития бурой ржавчины. Для определения фенотипического состава патогена использовали 20 почти изогенных линий Thatcher (Tc) с генами Lr, для изучения структуры популяции по частотам вирулентности использовали линии Thatcher и сорта пшеницы с известными генами – 56 генов Lr. Анализ ДНК полиморфизма проведен по рекомендованной методике A.F.Justesen et al.; Kolmer et al.; Park et al.; Duan et al.; Szabo, Kolmer.; Liu et al., с применением соответствующих типов маркеров.

Для статистической оценки результатов популяционных исследований применяли пакеты программ Virulence analysis Tool (VAT) по Kosman et al., индексы определения генетических расстояний Нея (Nei Diversity), Hs (разнообразие по частотам аллелей), Шеннона (Sh) (разнообразие по фенотипам), индекс Роджерса (Rogers distance, R), индекс генетических дистанций Fst. С помощью пакета программ GeALEX 6.5 проведена статистическая обработка результатов SSR – анализа. Оценка различий между выбоками изолятов, группировка популяций по кластерам проводилась на основе алгоритмов AMOVA и UPGMA с применением опции Principal Coordinates.

Фитопатологические оценки, характеризующие тип реакции растений на патоген осуществляли по шкале Mains, Jackson, степень поражения оценивали по шкале R.F.Peterson. Для идентификации Lr-генов у сортов пшеницы применяли методику выделения ДНК у пшеницы, предложенную Д.Б.Дороховым и Э.Клоке и ПЦР анализ с использованием 50 линий Lr-генов. Все использованные методики и материалы адекватны поставленным задачам и способствовали их эффективному решению.

Степень достоверности полученных результатов и апробация работы. Достоверность полученных результатов не вызывает сомнений, поскольку все эксперименты и анализ полученных данных проведены на основе апробированных и рекомендованных в микологии, генетике и статистике методических руководств. Все работы проведены на базе лаборатории

микологии и фитопатологии ФГБНУ «Всероссийский НИИ защиты растений», в соответствии с Государственными заданиями и проектов РФФИ, РНФ. Основные результаты работы представлены на 16 российских и 9 зарубежных конференциях. По материалам диссертации опубликовано 111 научных работ, из них 51 – в журналах, входящих в перечень международных реферативных баз данных и список ВАК, 17- статьи в других журналах, монографии и главы в коллективных монографиях, 46 – материалы конференций.

Личный вклад автора. Все работы, результаты которых включены в автореферат, выполнены лично автором, либо под его научно-методическим руководством. Автор является идеологом работы в постановке цели и задач исследований, планировании и проведении экспериментов, интерпретации полученных результатов в опытах.

Закключение. Результаты многолетних исследований, выполненных Еленой Ивановной Гульяевой и представленные для защиты на соискание учёной степени доктора биологических наук, основаны на большом экспериментальном материале и получены в многочисленных полевых и лабораторных опытах. Они, если судить по содержанию автореферата, по актуальности, новизне, теоретической и практической значимости, безусловно, заслуживает высокой оценки. Автореферат написан грамотно, доходчиво, аккуратно оформлен. Результаты исследований соответствует требованиям ВАК к докторским диссертациям, а соискатель Елена Ивановна Гульяева заслуживает присвоения искомой учёной степени доктора биологических наук по специальности 03.02.12 -микология

Доктор сельскохозяйственных наук

по специальности 06.01.05.-селекция и семеноводство

сельскохозяйственных растений

главный научный сотрудник лаборатории

селекции яровой твёрдой пшеницы

ФГБНУ «Самарский НИИСХ»

Министерство науки и высшего образования России

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение

«Самарский научно-исследовательский институт сельского хозяйства

имени Н.М.Тулайкова»

446254, Самарская обл., пгт.Безенчук, ул.К.Маркса, 41.

Контактный телефон - 89608135939

E-mail: sagrs-mal@mail.ru

Подпись заверяю:

Секретарь Учёного Совета ФГБНУ

«Самарский НИИСХ», кандидат с/х наук



Мальчиков Петр Николаевич



Л.Ф.Лигастаева