

УТВЕРЖДАЮ:

Проректор по науке и инновациям
федерального государственного бюджетного
образовательного учреждения высшего
образования «Воронежский государственный
лесотехнический университет имени Г.Ф.
Морозова», д.э.н., профессор

Морковина Светлана Сергеевна

подпись

«29» апреля 2022 г.

ОТЗЫВ

**ведущей организации о диссертации Лебедевой Марины Валерьевны
«Молекулярно-генетические подходы в селекции тополей (*Populus ssp.*) в
условиях Северо-Запада РФ», представленной на соискание ученой
степени кандидата биологических наук, специальность 1.5.7 – Генетика**

Работа выполнена в ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский
государственный лесотехнический университет имени С. М. Кирова», г.
Санкт-Петербург; научный руководитель – доктор биологических наук
Потокина Елена Кирилловна.

Диссертация посвящена изучению и разработке молекулярно-
генетических подходов и исследовательских ресурсов для инвентаризации
уже имеющихся селекционных достижений и селекции новых элитных клонов
Populus на Северо-Западе РФ.

Представленная работа является оригинальным научным
исследованием, основана на большом объеме фактического материала: для
проведения исследования были собраны образцы с 75 деревьев тополя,
включая четыре референсных гербарных образца, а также 8 образцов из

коллекции линий *in vitro* триплоидных осин селекции А.С. Яблокова, гибриды F1 от искусственного скрещивания, проведенного автором лично. Исследования проводились в течение 4х лет (2015 – 2019 гг).

Актуальность темы диссертации:

Определяется исследованием хорошо изученной в сельскохозяйственном отношении древесной породы, которая широко культивируется как в РФ, так и в других странах. Научные исследования в области генетической селекции лесных древесных растений немногочисленны, отстают от селекции сельскохозяйственных культур, поэтому развитие данного направления, отработка подходов, получение достоверной информации о структуре генома и генов древесных растений, особенностей наследования хозяйственно-ценных признаков являются актуальными и перспективными, закладывают как теоретические, так и практические основы для развития лесной генетики и селекции.

Новизна исследования и полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации:

Характеризуется следующими положениями:

- впервые по результатам микросателлитного анализа тополевых насаждений г. Санкт-Петербурга и Ленинградской области идентифицированы клоновые посадки “тополя невского” и “тополя ленинградского” селекции П. Л. Богданова, информация о которых была утеряна;

- впервые методами ДНК-фингерпринтинга проведена генетическая инвентаризация клоновых плантаций быстрорастущей триплоидной осины СПбНИИЛХ, исходный материал которых был получен от А. С. Яблокова;

- впервые популяция гибридов F1 осины генотипирована с использованием технологий высокопроизводительного секвенирования, создана картирующая популяция высокого разрешения, был идентифицирован генетический локус, сцепленный с изменчивостью показателей роста;

- разработан молекулярный маркер на основе ПРЦ в реальном времени для локуса, сцепленного с показателем роста.

Достоверность результатов исследований подтверждается репрезентативным объемом выборки и постановкой необходимого числа наблюдений, применением современных методов и методик при исследованиях, а также проведенным статистическим анализом. Оригинальность содержания диссертации составляет 90,69 % (с учетом ранее опубликованных работ соискателем по теме исследования, самоцитирование – 15,33 %) от общего объема текста. Цитирование оформлено корректно, заимствование материала, использованного в материалах диссертационного исследования без ссылки на автора или источник заимствования не обнаружено.

Значимость результатов диссертационной работы для науки и производства:

Полученные результаты позволяют дополнить теоретические положения о структуре генома осины (*P. tremula*). Впервые получены новые знания о генетическом контроле скорости роста осины на ранних этапах развития, выявлены генетические локусы, сцепленные с этим хозяйственно ценным признаком.

В ходе проведения исследования автором были восстановлены утраченные элитные гибриды тополя, отличающихся морозостойкостью и скоростью роста, рекомендованных для плантационного выращивания на Северо-Западе РФ.

Конкретные рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации:

Результаты исследований, выводы и предложения, основанные на изложенном материале, должны найти применение в практической селекционной работе по идентификации видов р. *Populus*, гибридов, определению быстрорастущих особей. В ходе работы были

идентифицированы генотипы элитных сортов-клонов тополя невского и тополя ленинградского селекции П. Л. Богданова, которые считались утраченными. Данные сорта-клоны характеризуются морозостойкостью и быстрым ростом. Рекомендуется использование этих сортов в плантационном лесовыращивании на Северо-Западе России, а также в городском озеленении, так как оба сорта-клона являются мужскими и не образуют тополиный пух.

Идентифицированный генотип быстрорастущей триплоидной осины с повышенной устойчивостью к сердцевинной гнили костромской селекции, сохраняемый в *in vitro* коллекции СПбНИИЛХа, также рекомендуется для плантационного лесовыращивания. Созданная и генотипированная картирующая популяция осин, поддерживаемая на экспериментальном участке в Ленинградской области, рекомендуется как исследовательский ресурс для поиска генетических локусов, влияющих на ценные сельскохозяйственные признаки.

В целом, полученные результаты могут быть применены для решения вопросов генетики, связанных с изменчивостью р. *Populus*, расширяют возможности применения методов молекулярной генетики в селекционном процессе лесных древесных растений.

Обоснованность научных положений и выводов, сформулированных в диссертации:

Научные положения, выводы обоснованы, подтверждаются методически правильно подобранными этапами проведения научного исследования, современными методами анализа экспериментальных данных. Выводы о идентификации и подборе локусов, сцепленных с признаком активности роста подтверждены результатами высокопроизводительного генотипирования популяции гибридов F1 осины и сравнения данных генотипирования видов *P. tremula* и *P. trichocarpa*.

Во введении отражены вопросы изучения, селекции и плантационного разведения видов рода *Populus* в разных странах. Представлены научные школы, занимающиеся селекцией и изучением разнообразия тополей в России.

В тоже время, автор показывает, что многие объекты селекции утеряны, нет исследовательского ресурса в виде информации о структуре генома осины и созданных картирующих популяций, позволяющих выявлять локусы, контролирующие хозяйственно-ценные признаки. Ставится цель и задачи по ее достижению.

Аналитический обзор литературных источников по теме исследования представлен в **Главе 1**. Представлена характеристика рода, секций и их наиболее часто культивируемых видов как на территории Российской Федерации, так и в других странах. Важным плюсом этой части является не только их биологические признаки, распространение, но и выделение перспективных хозяйственно ценных признаков. Вторая часть аналитического обзора посвящена молекулярно-генетическим подходам в селекции и изучении тополей. Отмечается актуальность разработки и применения молекулярных маркеров в селекции тополей. По утверждению автора несмотря на то, что селекция осины в России была начата более полувека назад (Иванников, 1958; Яблоков, 1962; 1963; Смилга, 1969; Щербакова, 1993), на сегодняшний день пока не было создано генетического ресурса, который можно использовать для картирования и клонирования генов, контролирующих изменчивость важных количественных признаков. Описаны молекулярно-генетические подходы в селекции и изучении тополей, использование которых позволяет решать задачи генетики и селекции древесных растений.

В Главе 2 «МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ» описаны объекты, с которых были взяты образцы для последующего молекулярного анализа, а также описаны родительские особи, взятые в целях гибридизации для создания картирующей популяции. Автором было получено F-1 поколение, растения высажены в открытый грунт в Ленинградской, Воронежской областях и Западной Сибири. Во второй части главы подробно описаны методы выделения ДНК, микросателлитного анализа, ISSR-анализа, подготовки и секвенирования ddRADseq библиотек, подходы к идентификации SNP и

построение генетической карт, QTL-анализ, разработка системы ПЦР-РВ с использованием TaqMan зондов. Глава хорошо структурирована, объекты взятия биоматериала, используемые методы подробно описаны, однако нет общей схемы проведения исследования, что затрудняет целостное восприятие последовательности этапов проведенного исследования.

В Главе 3 «РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ» представлены результаты диссертационного исследования. В пунктах 3.1 и 3.2 изложены материалы по генетической идентификации клонов тополя невского и тополя ленинградского в посадках и клонового потомства осин селекции А.С. Яблокова. Были проанализированы 71 образец, в качестве референсного генома использовали гербарные образцы из гербария Лесотехнического университета. Автор идентифицировал одиночные деревья и клоновые посадки тополей, являющиеся вегетативным потомством элитных гибридных тополей *P. x newensis* Bogd. и *P. x leningradensis* Bogd. селекции П.Л. Богданова, которое считалось утерянным. При анализе 64 деревьев клоновых триплоидных осин было проведена идентификация родительских генотипов путем подбора подходящих ISSR праймеров. Выделен наиболее подходящий для разделения генотипов праймер - M12C, который позволил разделить все три родительские линии. Кроме этого, автором были сопоставлены результаты генотипирования с данными 12-летней динамики роста, выделена перспективная линия клонов осины, названная «Кострома».

Представлены материалы о созданной автором популяции гибридов F1 осины, полученной в результате контролируемого скрещивания от двух родителей с контрастными фенотипами. Генотипирование с использованием технологии RADseq позволило получить информацию о полиморфизме 2055 локусов (SNP) и впервые сконструировать генетическую карту высокой плотности для осины обыкновенной, что создает теоретическую основу для развития генетики и селекции тополей, подбора локусов, контролирующих хозяйственно-ценные признаки осины.

Автором идентифицирован генетический локус, сцепленный с изменчивостью показателей роста у одно- и двулетних растений осины, вне зависимости от климатических условий, разработан молекулярный маркер на основе ПЦР-РВ, который может быть использован для маркер-вспомогательной селекции клонов осин с ускоренными темпами роста на начальных этапах развития.

Полученные результаты отражены в графиках, таблицах, содержащих информацию о генотипировании осин их гибридов, проиллюстрированы рисунками, отражающими результаты применения набора молекулярно-генетических методов, позволяющих проводить идентификацию и селекцию по признаку скорости роста сеянцев.

В главе 4 коротко и понятно сформулированы 5 основных выводов, сделанных по итогам диссертационного исследования.

Соответствие диссертации и автореферата требованиям ВАК РФ:

Структура диссертационной работы соответствует требованиям, предъявляемым к содержанию и оформлению диссертаций. Диссертация состоит из введения, 4 глав, включает 8 таблиц, 21 рисунок и 7 приложений. Объем работы составляет 123 страницы. Список литературы содержит 145 источников, в том числе 119 – на английском языке. Автореферат отражает основные положения диссертационного исследования. Автореферат иллюстрирован достаточным количеством рисунков, хорошо изложен. Замечаний по соответствию автореферата диссертации нет.

Замечания по диссертационной работе.

В качестве замечаний и предложений для дальнейших исследований можно выделить следующее:

1. Автором было исследовано клоновое потомство триплоидных осин селекции А.С. Яблокова, однако не были приведены экспериментальные данные, подтверждающие сохранение триплоидности или появление растений

- миксоплоидов. В дальнейших исследованиях желательно изучить цитогенетику (хромосомный аппарат) у триплоидов.

2. Имеются опечатки: А.С. Яблоков (во введении автореферата А.Н. Яблоков); в разделе «Научная новизна» ПРЦ, а надо ПЦР.

3. При полноте описания успехов и направлений селекции тополей, их значимости, не приводятся информация о работах М.М. Вересина и его гибридный тополь «Воронежский Гигант».

4. На стр. 41 имеет место фраза «Примерно через две недели созревшие семена были высажены». Термин «высажены» применен не корректно, уместнее – «высеяны».

Сделанные замечания не снижают ценности рассматриваемой работы.

***Заключение о соответствии диссертации критериям, установленным
«Положением о порядке присуждения ученых степеней»***

В заключении следует отметить, что диссертант успешно справился с поставленными задачами, а диссертационная работа выполнена на высоком методическом уровне и является законченным научно-квалификационным трудом. Автор диссертации – самостоятельный исследователь, который выполнил важную, сложную и интересную работу.

Диссертационная работа Лебедевой Марины Валерьевны на тему «Молекулярно-генетические подходы в селекции тополей (*Populus ssp.*) в условиях Северо-Запада РФ», соответствует требованиям, изложенным в параграфе II «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 года № 842 (ред. от 11.09.2021 г.), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7 – Генетика.

Отзыв рассмотрен и одобрен на объединенном заседании кафедры лесных культур, селекции и лесомелиорации и кафедры ботаники и

физиологии растений ФГБОУ ВО «Воронежский государственный лесотехнический университет имени Г.Ф. Морозова» 12 апреля 2022 г., протокол № 9. На заседании присутствовало 12 человек, проголосовали «за» - 12, «против» - нет, воздержавшихся – нет.

Заведующий кафедрой лесных культур, селекции и лесомелиорации ФГБОУ ВО «ВГЛТУ», доктор сельскохозяйственных наук, профессор

Михин Вячеслав Иванович

Профессор кафедры лесных культур, селекции и лесомелиорации ФГБОУ ВО «ВГЛТУ», кандидат сельскохозяйственных наук, доцент

Сиволапов Алексей Иванович

Доцент кафедры ботаники и физиологии растений ФГБОУ ВО «ВГЛТУ», кандидат биологических наук

Попова Анна Александровна

Михина В.И.
Сиволапова А.И.
Попова А.А.
Подпись: [Signature]
достоверно:
ректора
29.04.2022

