

Отзыв

официального оппонента на диссертацию Кибальник Оксаны Павловны на тему «Цитоплазма как фактор адаптации ЦМС-линий и гибридов F1 сорго к внешней среде», представленной на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 4.1.2. Селекция, семеноводство и биотехнология растений

Актуальность темы. Работа посвящена одной из самых высокоурожайных культур в мире. В мире по объему производства зерна сорго занимает пятое место. По качественным характеристикам (содержание белка, незаменимых аминокислот, витаминов, нуклеиновых кислот) она также превосходит многие культуры. Много в нем тиамина, рибофлавина, витамин В6, биотина и ниацина. В странах Африки сорго является второй культурой после кукурузы в качестве основного зернового продукта для миллионов людей. Сорго относится к культуре с С4-типом фотосинтеза и характеризуется высокой его эффективностью. Такие растения производят на 30% больше сухого вещества на единицу воды, чем культуры с С3-типом фотосинтеза, и более приспособлены к возделыванию в полузасушливых регионах. Выявлено, что первичные последовательности генов у сорго на 75% совпадают с геномом риса, что во многом облегчает работы по молекулярному маркированию культуры. У веничного сорго выявлен фиторемедиационный потенциал, благодаря чему его можно выращивать для очистки земель от углеводородов нефти и тяжелых металлов. Веничное сорго пригодно для использования в силосовании, так как содержит в биомассе до 3,0% сахаров, 10% сырого протеина. Вместе с тем, некоторые сведения свидетельствуют о хорошем качестве биомассе, скошенной в фазу выметывания. На территории России в зонах с острозасушливыми условиями, включение в структуру посевных площадей сорго, характеризующегося широким спектром адаптивности очень актуально и позволяет увеличить доходы производителя.

В животноводстве и растениеводстве его использование позволяет уменьшить белковые или минеральные добавки, так как оно содержит много белка, фосфора, железа, калия и др. Злак является источником витамина В6, богат антиоксидантами, но при этом не содержит глютена, безопасен для людей с аллергией.

Поэтому диссертационная работа Оксаны Павловны, предусматривающая изучение морфо-биологических признаков образцов сорго, выделение источников хозяйственно-ценных признаков и создание на их основе нового высокопродуктивного, технологичного, ценного по качеству зерна селекционного материала для селекции несомненно актуальна. 66 Исследования проведены в 2009-2024 годы соответственно плану работ в отделе сорговых культур ФГБНУ «Российский научно-исследовательский и проектно-технологический институт сорго и кукурузы».

Новизна исследований.

Впервые показана роль цитоплазмы в формировании экологической устойчивости материнских форм и гибридов F1, необходимой для их стабильного семеноводства. Проведена дифференциация ЦМС-линий по реакции на изменение условий внешней среды: 5 стерильных линий сорго характеризуются экологической пластичностью и 9 фенотипической стабильностью по урожайности семян, 3 – с высоким индексом стабильности по комплексу селекционных признаков. Отмечена взаимосвязь параметров адаптивности стерильных линий с урожайностью семян ($r=0,60-0,99$).

На основе исследования изоядерных ЦМС-линий впервые выявлен эффект цитоплазмы на проявление устойчивости к абиотическому стрессору – засухе. Определены ЦМС-линии, выделяющиеся высокой засухоустойчивостью по комплексу физиологических показателей. Впервые установлено влияние типа стерильной цитоплазмы на накопление пигментов и водный режим листьев, набухание семян ЦМС-линий и гибридов F1 в осмотических растворах. ЦМС-линии и гибриды на цитоплазмах А4 и 9Е характеризуются меньшим водопотреблением семян в дистиллированной

воде и более высоким в гипертонических растворах. Позитивный эффект цитоплазмы А2 отразился на увеличении суммы хлорофиллов в фазу выметывание, а цитоплазм А3, А5 и 9Е – оводненности тканей листьев в фазу цветение. Спизжали показатели водного дефицита листьев цитоплазмы А2 и А3; потерю влаги в первые 30-90 минут – А3; за 24 ч увядания листьев и в среднем за 1 час в сутки – А2 и А4. Продуктивность стерильных линий зависела от общей оводненности тканей и средней потери влаги листьями в процессе увядания за 24 ч и 1ч/сут., о чем свидетельствуют рассчитанные коэффициенты корреляции (0,66-0,73).

На основе использования SSR-маркеров выявлено наличие генов-восстановителей цитоплазмы 9Е (*Rf-9E*) у опылителей из рабочей коллекции.

Отмечено влияние типов цитоплазм на комбинационную способность ЦМС-линий по признакам: высота растений через 30 дней после всходов, длина соцветия, площадь и длина наибольшего листа, параметры флагового листа, общая и продуктивная кустистость, урожайность биомассы; в отдельные сезоны – содержание протеина в биомассе. Выявлены различия между изоядерными гибридами F1 по истинному и гипотетическому гетерозису, наследованию селекционных признаков в отдельные сезоны возделывания.

Степень обоснованности и достоверности научных положений и практических предложений. Исследования, проведенные автором, опираются на стандартные для полевых и лабораторных опытов методики и статистический аппарат. Работа выполнена на хорошем методическом уровне, проанализирован обширный литературный материал, позволивший обосновать цели и задачи исследований и дать оценку полученным результатам. Достоверность полученных результатов экспериментов и их правильную интерпретацию подтверждает большой объем проведенных измерений и их статистическая обработка.

Апробация работы.

Результаты работы доложены на международных и всероссийских конференциях, форумах, семинарах в том числе: V Международной научно-методологической конференции «Роль физиологии и биохимии в интродукции и селекции сельскохозяйственных растений» (Москва, 2019); Международной научно-практической конференции «Инновационные агротехнологии в растениеводстве засушливых регионов России» (Саратов, 2019); Международной научно-практической конференции «Итоги и перспективы развития агропромышленного комплекса» (Соленое Займище, 2019); 6th International scientific conference “Plant Genetics, genomics, Bioinformatics, and Biotechnology” (Novosibirsk, 2021); Международной научно-практической конференции «Научное обеспечение устойчивого развития агропромышленного комплекса в условиях антропогенного климата» (Саратов, 2021; 2022; 2024); VII и VIII Международной научной конференции «Современное состояние, проблемы и перспективы развития аграрной науки» (Симферополь, 2022; 2023; 2024); V Международной научной конференции «Генетика и биотехнология XXI века: проблемы, достижения, перспективы» (Минск, 2022); XII Международный форум «Дни сада в Бирюлево: вклад фундаментальной науки в устойчивое развитие сельского хозяйства, формирование здоровья и качества жизни населения Российской Федерации» (Москва, 2022); Всероссийской научно-практической конференции «Актуальные вопросы научно-технологического развития агропромышленного комплекса» (Махачкала, 2023); Всероссийской конференции «Генетические ресурсы растений для генетических технологий» (Санкт-Петербург, 2023); Международной научно-практической конференции «Адаптация живых организмов на уровне физиолого-биохимических механизмов» (Душанбе, 2023); Российско-Китайском семинаре по молекулярной селекции сельскохозяйственных культур (Харбин, 2024).

Практическая значимость.

Показана роль стерильной цитоплазмы в проявлении устойчивости ЦМС-линий и гибридов сорго к стрессовым факторам внешней среды. Установлена адаптивная способность ЦМС-линий к условиям засушливых регионов. Работа вносит вклад в понимание закономерностей генетического контроля гетерозиса гибридов и комбинационной способности ЦМС-линий, полученных с использованием разных типов стерильных цитоплазм. Рассмотрены вопросы целесообразности привлечения новых типов ЦМС, оказывающих наибольшее влияние на наследование физиологических и селекционных признаков, и в конечном итоге, на формирование продуктивности гибридов F₁ в засушливых регионах.

Подобранный SSR-маркер sam26858a способствует ускорению //выведения фертильных гибридов сорго на цитоплазме 9E. Усовершенствованы методологические подходы для диагностики засухоустойчивости сорго, а также разработан для использования в практической селекции Атлас «Биоресурсная коллекция сорговых культур ФГБНУ РосНИИСК «Россорго». Представляют ценность стерильные линии, формирующие стабильные урожаи семян независимо от складывающихся метеорологических условий, а также отзывчивые на улучшение возделывания. Полученные сведения необходимы для устойчивого семеноводства гибридов, выведенных с использованием изучаемых ЦМС-линий. Гибриды, характеризующиеся высоким эффектом гетерозиса по важным селекционным признакам, рекомендуются для использования на кормовые цели (зернофураж, мопокорм, силос).

Автором выведены следующие сорта сорго, участвующие в создании гибридов F₁, изученных в данной работе и включенные в Государственный реестр селекционных достижений: Гранат (восстановитель цитоплазм А1, А5), допущенный к использованию с 2017 г. по Уральскому (9) региону (код сорта 8558138, патент №9245); Магистр (восстановитель цитоплазм А4, 9E), допущенный к использованию с 2019 г. по Средневолжскому (7) и

Уральскому (9) регионам (код 8356026, патент №11169); Изольда (закрепитель стерильности цитоплазм А3, А4, 9Е), допущенный к использованию с 2024 г. по Центрально-черноземному (5) и Уральскому (9) регионам России (код 7853164, патент № 13547). Сорт Гелсефор (восстановитель цитоплазм А1, А2, А4, А5, А6), включен в Государственный реестр охраняемых селекционных достижений с 2018 г. (патент №9562). Подана заявка (№ 90131/7653655 от 03.11.2023 г.) на выдачу патента на гибрид зернового сорго Тамараж. Сорт Гранат выращивается в хозяйствах Саратовской области. Результаты научного сотрудничества ФГБНУ РосНИИСК «Россорго» с отечественными и зарубежными институтами показали перспективность использования сорта Изольда в Алтайском крае, Кабардино-Балкарской республике, Татарстане и Таджикистане, а гибрид Тамараж – в Алтайском крае.

Соответствие работы требованиям, предъявляемым к диссертациям. Рассматриваемая диссертация является самостоятельной законченной научно-исследовательской работой.

Первая глава диссертационной работы представляет собой обзор литературы, в котором автор подробно раскрывает суть проблемы, анализирует результаты работ других исследователей, оценивает и сравнивает полученные ими выводы. Описан видовой состав, ботанические особенности растений их семенная продуктивность, биохимические особенности культуры, методы культивирования, болезни и вредители культуры, устойчивость сорго к стресс-факторам внешней среды. Большое внимание уделено цитоплазматической мужской стерильности у сорго и влиянию цитоплазмы на селекционные признаки и свойства

В отдельном разделе первой главы рассмотрены механизмы устойчивости растений к абиотическим стрессорам. Параметры адаптивности обобщенность проанализированных литературных источников позволила автору правильно сформулировать цели и задачи своей работы, выбрать направление исследований.

Во второй главе автор описывает использованные методики полевых экспериментов, изучаемый материал и почвенно-климатические условия проведения полевых опытов. Описаны применяемые методики посева и выращивания, биометрического анализа и статистической обработки данных (дисперсионный анализ, кластерный анализ), а также объемы проведенных исследований. Здесь диссертант демонстрирует знание методики и планирования эксперимента в связи с поставленными задачами, что позволило ему успешно провести исследования, получить достоверные результаты и сделать объективные выводы.

Экспериментальные данные, полученные лично автором, представлены в главах 3 - 6, состоящих из нескольких разделов, где приведены комбинационная способность ЦМС-линий на основе разных типов стерильных цитоплазм в скрещиваниях с образцами зернового сорго. Показано проявление гетерозиса у гибридов F₁ сорго с ЦМС-линиями на основе разных типов стерильных цитоплазм. Коэффициент фенотипического доминирования у гибридов F₁ на основе А1, А2, А3, А4, 9Е, М35-1А стерильных цитоплазм. Использование цитоплазм в практической селекции, описание гибридов. Установлено, что условия внешней среды модифицируют стерилизующую способность цитоплазм А3, А4, А5, А6 и 9Е: выпадение осадков перед цветением способствует образованию нормальных (окрашенных) пыльцевых зерен у ЦМС-линий. В наибольшей мере этот эффект характерен для цитоплазм А4 и 9Е (15,4-17,5%). При этом проявление цитоплазматических эффектов в значительной мере зависит от условий внешней среды, в особенности от складывающихся гидротермических факторов сезона выращивания, цитоплазма является буфером между внешней средой и ядерным геномом, «перерабатывая» сигналы от внешней среды и регулируя экспрессию ядерных генов растений.

Обобщают результаты работы тринадцать основных выводов, в достаточной мере отражающих новизну и практическую значимость

диссертационной работы. Конкретно составлены пять предложений для селекционной практики.

В целом, представленная работа является завершенным научным исследованием. Выводы и рекомендации, сформулированные в диссертации, научно обоснованы и являются логичным следствием проведенных исследований. Они позволяют повысить эффективность селекции сорго и рекомендуются к использованию в других селекционных учреждениях Российской Федерации, занимающихся селекцией этой культуры. Методические подходы, применяемые автором, могут быть использованы и в селекции других культур.

Все основные результаты исследований автора достаточно полно изложены в 84 опубликованных научных работах, в том числе 29 статей в изданиях рекомендованных ВАК, 8 статей в Международных изданиях и индексируемых в РИИЦ, 2 монографии и атлас, 4 патента и заявка на селекционные достижения РФ.

Приведенные работы соответствуют требованиям ВАК для публикации результатов диссертаций. Текст автореферата соответствует содержанию диссертации.

Заключение о диссертационной работе. Диссертация Кибальник Оксаны Павловны в целом отличается логичностью изложения, четкостью в проведении и обсуждении экспериментов, выводы соответствуют полученным результатам исследований, написана хорошим литературным языком.

К имеющимся недостаткам можно отнести следующее:

1. В работе встречаются неудачные выражения, например: – SSR-маркер sam26858a, ассоциированный с генами-восстановителями ICMC типа 9E (RI-9E), способствует созданию фертильных гибридов на данной цитоплазме.
2. Сумма хлорофиллов установлена в фазы кущения и выметывания (1,08-1,18 мг/г), по сравнению с фазой цветения (0,80 мг/г). Исследования по

накоплению пигментов листьями изоядерных ЦМС-линий с геномом Карлика 4в и А1, А2, А3, А4, А5, А6 типами стерильных цитоплазм в 2016-2017 гг. показывают отсутствие различий между ними в среднем по трем фазам развития растений (кущение, выметывание, цветение). Однако, в фазу кущения наибольшее содержание хлорофиллов отмечено на цитоплазме А2 (1,24 мг/г), выметывания – цитоплазме А1 (1,33 мг/г), цветения – А5 (1,26 мг/г). Наибольшая сумма хлорофиллов установлена в фазы кущения и выметывания (1,08-1,18 мг/г), по сравнению с фазой цветения (0,80 мг/г). В связи с необычностью полученных результатов, необходимо уточнить метод изучения (более точно показать фазу проведения эксперимента), а также дать пояснение за счет чего по мнению автора снижается содержание хлорофиллов у сорго в фазу цветения.

3. При проведении кластерного анализа не указан метод кластеризации, хотя во многих работах показано, что его выбор в значительной мере определяет результаты работы. Подтверждение результатов кластеризации даст метод к - средних, который в значительной мере украсил бы работу. Он более точно позволил бы разграничить группы сортов и выделить признаки, вносящие максимальный вклад в разделение образцов.
4. Также не дано пояснение вывода о среднем водопотреблении семян в опыте, на которое большее влияние оказала отцовская форма, чем материнская.
5. В работе показано, что установлена эффективность использования SSR-маркера sam26858a для выявления образцов с генами-восстановителями ЦМС типа 9E (Rf-9E), однако вывод сделан очень общим, не дается конкретного указания на размеры продуктов амплификации закрепителей стерильности и восстановителей фертильности, также нет этой информации и в рекомендациях для селекционной работы.

Отмеченные недостатки ни в коей мере не умаляют значения диссертации. Учитывая актуальность, высокий методический уровень исследований, их научную и практическую значимость считаю, что диссертация «Цитоплазма как фактор адаптации ЦМС-линий и гибридов F1 сорго к внешней среде», соответствует требованиям Положения о порядке присуждения ученых степеней ВАК РФ, а ее автор Кибальник Оксана Павловна заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 4.1.2. Селекция, семеноводство и биотехнология растений.

Заведующая лабораторией генетики,
и гетерозисной селекции, доктор биол. наук
(специальность 06.01.05 - селекция и семеноводство
сельскохозяйственных растений)

Гончарова Юлия Константиновна

ФГБНУ «ФИЦ риса»

350921, г. Краснодар, п. Белозерный 3

тел. +7 (861) 229-41-98, факс (861) 229-41-49

e-mail: arttr_kub@mail.ru

Подпись Гончаровой Ю.К. заверяю

Ученый секретарь

ФГБНУ «ФИЦ



Есаулова

Есаулова Л.В.

21.02.2025г.