

«УТВЕРЖДАЮ»

Временно исполняющий обязанности  
директора Федерального  
государственного бюджетного  
научного учреждения

«ФЕДЕРАЛЬНЫЙ НАУЧНЫЙ  
ЦЕНТР РИСА»

доктор с. наук, профессор

С.В. Гаркуша

« 24 » августа 2021 г.



ОТЗЫВ

Ведущей организации на диссертационную работу

**Буц Алексея Валерьевича**

«Молекулярно-ориентированная селекция гибридов томата F1 на основе  
метода Real-Time PCR»,

представленную на соискание ученой степени кандидата биологических  
наук, по специальности 06.01.05 – селекция и семеноводство  
сельскохозяйственных растений

**1. Актуальность избранной темы.** Наряду с развитием технологий, создание новых сортов и гибридов томата, обладающих комплексом хозяйственно-ценных и адаптивно-значимых признаков, является обязательным условием для повышения экономической эффективности отрасли. К сожалению, на настоящий момент значительная часть семенного материала томатов импортируется. В связи с этим возрастает необходимость развития отечественной селекции данной культуры и реализация программы по импортозамещению.

Очевидно, что для повышения эффективности селекционного процесса необходимо комплексное изучение имеющихся генетических ресурсов, в том числе и с использованием современных методов молекулярно-генетического анализа и внедрение таких методов в процесс селекции для ее ускорения. В связи с этим, можно сказать об актуальности данной работы, т.к. экспериментальные данные, полученные в рамках выполненного исследования, служат основой, необходимой для выведения селекции томата на качественно новый уровень. При этом, использование в качестве ключевого селекционного «инструмента» методов молекулярно-генетической идентификации целевых генов, детерминирующих хозяйственно-ценные признаки, даёт возможность выполнения программ по созданию сортов и гибридов с комплексной устойчивостью к фитопатогенам за счет

пирамидирования нескольких генов устойчивости (объединение в одном генотипе), что является труднодостижимым при использовании классического фитопатологического тестирования.

**2. Новизна исследований и полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации.** Методом маркерной селекции получен исходный селекционный материал томата (линии) с комплексом генов устойчивости к доминирующим фитопатогенам юга России.

С использованием биотехнологических подходов (молекулярное маркирование) созданы гибриды томата первого поколения с толерантностью к мучнистой росе, которые способны конкурировать с иностранными аналогами.

Разработана ДНК-маркерная система в режиме Real-Time PCR для идентификации и визуализации аллельного состояния гена устойчивости *Tm2<sup>2</sup>* к наиболее опасному и распространённому заболеванию на юге России - ВТМ, которая успешно внедрена в селекционный процесс и на её основе получен перспективный исходный материал.

Кроме того, на основе молекулярно-генетического подхода изучен коллекционный материал томата и выявлены доноры устойчивости к ВТМ, фузариозному увяданию и вертициллезу, бурой пятнистости, мучнистой росе, которые рекомендованы практической селекции.

Разработана современная модель томата F1 для выращивания в зимних остекленных теплицах с применением искусственного досвечивания, что позволяет получать урожайность 100 и более кг/м<sup>2</sup>.

Полученные автором результаты являются новыми оригинальными, что подтверждают публикации в научных журналах, 4 из которых входят в рецензируемые научные издания, рекомендованные ВАК.

Новизна очевидна, и обозначена в патентах на селекционные достижения: F1 томата Крещендо и Аркаим.

Выводы исследований обладают несомненной новизной и основательностью, а предложения для практической селекции отличаются новыми крупноплодными с индетерминантным типом роста и среднеплодными кистевыми гибридами томата первого поколения с генами устойчивости к ряду доминирующих патогенов.

Разработанные ДНК-маркерные системы рекомендуются для селекционных программ.

**3. Значимость для науки и производства (практики) полученных автором диссертации результатов.** Значимость для науки результатов исследований заключается в теоретических выводах, позволяющих использовать в работе селекционных учреждений и учебных заведениях следующие полученные знания:

- Методология селекции томата на устойчивость к ВТМ, мучнистой росе, фузариозному увяданию, вертициллезу и бурой пятнистости на основе метода Real-Time PCR с использованием молекулярных маркеров.

- Разработка ДНК-маркерных систем для идентификации и визуализации аллельного состояния генов *Cf, I, Ol, Sw, Tm, Ve* в генотипах гибридных растениях в режиме Real-Time PCR.

- Конструирование модели современного гибрида первого поколения (F1) томата для зимних остекленных теплиц с применением искусственного досвечивания и без него.

**4. Практическое значение результатов и выводов диссертации, рекомендуемых к применению в селекционной практике.** Созданные гибриды томата F1 с генами устойчивости к ВТМ и мучнистой росе, обладающие комплексом хозяйственно-ценных признаков представляют собой ценный материал для использования в селекции на устойчивость к данным заболеваниям.

Выявленные доноры томата с генами устойчивости к ВТМ, мучнистой росе, фузариозному увяданию, вертициллезу и бурой пятнистости рекомендовать практической селекции, направленной на создание гибридов к этим заболеваниям.

Разработанные маркерные системы в режиме реального времени на основе ПЦР по идентификации и визуализации аллельного состояния целевых генов позволят в разы сократить селекционный процесс и ускорить вывод на внутренний рынок страны конкурентоспособные гибриды томата нового поколения с заданными свойствами для здорового питания россиян.

**5. Обоснованность и достоверность научных положений, выводов и заключений.** Научные положения, результаты экспериментальных исследований, выводы являются оригинальными, обоснованными, достоверными и определяются:

- научной методологией, опирающейся на опубликованные работы российских и зарубежных исследований;

- системным анализом в планировании и проведении исследований в области биотехнологии, генетики, селекции, фитопатологии;

- при выполнении лабораторных и полевых экспериментов применялся комплексный подход и использовались общепринятые и оригинальные методы исследований;

- использование современного оборудования и программ для статистического анализа полученных данных.

- Крупноплодными гибридами томата первого поколения с индетерминантным типом роста Аркаим и Крещендо, а также среднеплодными кистевыми F1 Бэтмен и Болит.

**6. Оценка содержания диссертации, её завершенность в целом, замечания по оформлению.**

Во введение раскрыта актуальность исследований ДНК-технологий, селекции для создания новых генотипов томата с заранее заданными свойствами, устойчивыми к биотическим стрессорам.

В первой главе автором подробно описана классификация культуры томата по морфологическим и биологическим особенностям. Достаточно

подробно освещены вопросы селекции на устойчивость к доминирующим грибным и вирусным заболеваниям томата. Представлены сведения о генах устойчивости томата к ВТМ, мучнистой росе, фузариозному увяданию, вертициллезу, бурой пятнистости, бронзовости, вирусу желтого скручивания листьев и галловой нематоде.

В главе «Условия, исходный материал и методика проведения исследований» описан устойчивый к вышеперечисленным биострессорам анализируемый коллекционный материал по морфологическим признакам. Представлены сведения о месте и условиях выращивания и проведения полевых опытов и испытаний, а также генотипирование экспериментальных растений томата в лабораторных условиях (ПЦР-лаборатории).

В главе «Результаты исследований» представлен основательный и многоплановый материал с подразделами 3.1. – 3.7.

В завершении исследований диссертации приведено заключение, состоящее из 8 пунктов выводов и 3 пунктов рекомендаций селекционным учреждениям и производству.

Оценивая достоинства диссертационной работы, следует отметить её высокий уровень планирования и выполнения экспериментов. В работе убедительно показана возможность и эффективность применения ДНК технологий в селекции культуры томата. Таблицы хорошо читаемы и легко интерпретируются. В целом диссертация заслуживает высокой оценки. Однако имеются и замечания:

1. В задачи 1 по далее по всему тексту не указана чья коллекция было проанализирована, откуда взяты семена и на какие признаки проводили генетический анализ? Т.е. следовало написать так: «С помощью молекулярного маркирования провести генетический анализ коллекционных образцов ООО «НИИСОК» на устойчивость к биотическим стрессорам ( или перечислить болезни, на которые проводился анализ их ДНК).

2. В задачи 2 указана необходимость проведения визуальной оценки биометрических параметров, но биометрические параметры визуально не оцениваются. Это цифровые выражения высоты, длины, количества и т.д.

3. В новизне исследований желательно было указать к каким основным заболеваниям получен линейный материал томата, поскольку 3 предложение написано довольно размыто.

4. В разделе «Условия, исходный материал и методика проведения исследований» нет методики проведения оценки (фитопатологический тест) анализируемых гибридов растений F<sub>2</sub> томата на ВТМ, фузариоз и др. болезни, а есть только на мучнистую росу.

5. Не представлен сиквенс ДНК-маркерных систем, с использованием которых проводили молекулярно-генетические исследования по идентификации в коллекционных образцах генов *I* (фузариозное увядание), *Sf* (бурая пятнистость), *Ve* (вертициллез), *Mi* (галловая нематода).

6. На стр. 88 автор в последнем абзаце пишет, что созданный маркер и методику ПЦР-анализа можно рекомендовать для широкого применения в

селекционном процессе культуры томата, но нигде не описывается методика его разработки, а это очень важно для любой в данном направлении диссертационной работе.

7. Не понятно на какой ген конкретно проводился молекулярно-генетический анализ на вертициллёз?

8. Почему на рисунках 4, 5 и 9 гетерозиготные формы имеют красный спектр свечения, устойчивые – синий, неустойчивые – зеленый, а на рисунке 6: гетерозиготы – синий, неустойчивые – красный, устойчивые – зеленый?

9. В таблице 9 нет результатов по F1 Emrero.

10. В разделе 3.2. указывается, что анализировали 8 образцов, а в табл. 12 этого абзаца представлены результаты только по 6 образцам?

11. На чем строится разработанная модель? Ведь в данном случае нужны результаты с чем сравнивать и, которые привели к выводу о том, что данная модель, действительно даст прорыв в селекции томата.

**7. Соответствие автореферата основным положениям диссертации.** Автореферат в полной мере отражает наиболее существенные положения, выводы, рекомендации и достаточно полное содержание диссертации.

**8. Подтверждение опубликованных основных результатах диссертации в научной печати.** Результаты исследований опубликованы в 10 научных работах, 4 их которых входят в перечень периодических изданий, рекомендованных ВАК, 4 тезиса научных конференций и 2 авторских свидетельства.

Основные положения, отражающие результаты диссертации – в материалах 4 научных конференций.

**9. Заключение о соответствии диссертации критериям, установленным Положением о порядке присуждения ученых степеней.** Отмеченные замечания не затрагивают сути проведенного диссертантом масштабного исследования, касающегося в изучении коллекционного материала гибридов томата методом Real-Time PCR, как инструмента для усовершенствования селекционного процесса культуры томата.

Заключение, сформулированное в результате выполненной работы, соответствует полученным данным. Задачи, поставленные в исследования Буц А.В., выполнены в полном объеме.

Знакомство с работой позволяет судить об авторе как о достаточно подготовленном исследователе, владеющим современными методами исследований и научной литературой по данному вопросу. Работа выполнена на высоком методическом уровне и изложена на 140 страницах печатного текста, включающая 26 таблиц и 14 рисунков. Список цитированной литературы содержит 203 источника, в том числе 87 источников иностранной литературы.

По своей актуальности, научной новизне, значимости полученных результатов для науки и практики, представленная работа полностью

удовлетворяет требованиям, изложенным в п.п. 9-11, 13, 14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. №842 вместе с изменениями от 24.04.2016 г. №335, предъявляемым к диссертациям на соискания кандидата наук, а её автор, Буц Алексей Валерьевич, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности: 06.01.05 – Селекция и семеноводство сельскохозяйственных растений.

Отзыв составил:

**Дубина Елена Викторовна**

Доктор биологических наук по специальности: 06.01.05 – Селекция и семеноводство сельскохозяйственных растений, главный научный сотрудник и заведующая лабораторией информационных, цифровых и биотехнологий Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр риса»

Тел. сот.: +7(918)432-65-82

Адрес электронной почты: lenakrug1@rambler.ru

Подпись Елены Викторовны Дубина заверяю:

Ученый секретарь Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр риса», кандидат биологических наук



Л.В. Есаулова

Адрес организации: 350921, Россия, Краснодарский край, г. Краснодар, пос. Белозёрный, 3, тел.: +7(861)229-41-98, 229-41-49

Адрес электронной почты: artti\_kub@mail.ru



Председателю диссертационного  
 совета Д 220.038.03 на базе ФГБОУ  
 ВО «Кубанский государственный  
 аграрный университет имени  
 И.Т. Трубилина», доктору  
 сельскохозяйственных наук,  
 профессору  
 Н.Н. Нещадиму

### Сведения о ведущей организации

#### Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный научный центр риса»

по диссертационной работе Буц Алексея Валерьевича на тему «Молекулярно-ориентированная селекция гибридов томата F<sub>1</sub> на основе метода Real-Time PCR», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 06.01.05 – селекция и семеноводство сельскохозяйственных растений.

Полное и сокращенное наименование организации в соответствии с уставом, ведомственная принадлежность	Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный научный центр риса», ФГБНУ «ФНЦ риса»
Руководитель (зам. руководителя организации), утверждающий отзыв ведущей организации	Временно исполняющий обязанности директора Гаркуша Сергей Валентинович
Почтовый индекс и адрес организации	350921, Краснодарский край, город Краснодар, поселок Белозерный, 3
Официальный сайт организации	www.vniirice.ru
Адрес электронной почты	E-mail: artri_kub@mail.ru
Телефон	Телефон: +7 861 205-15-55
Сведения о структурном подразделении (наименование, тел., e-mail, направление научной работы, сведения и осн. статьи того, кто будет готовить отзыв)	Лаборатория информационных, цифровых и биотехнологий ФГБНУ «ФНЦ риса», Дубина Елена Викторовна, главный научный сотрудник, заведующая лабораторией информационных, цифровых и биотехнологий ФГБНУ «ФНЦ риса», доктор биологических наук. Тел. 8-918 432-65-82, E-mail: <a href="mailto:lenakrug1@rambler.ru">lenakrug1@rambler.ru</a> , основное направление научной работы – молекулярное маркирование в селекции риса и овощных культур. Основные публикации за 2018-2021 гг.: 1. Дубина Е.В., П.И. Костылев, М.Г. Рубан, Ю.В. Анискина, И.А. Шилов, Н.С. Велишаева, Л.В. Есаулова. Изучение биоразнообразия <i>Pyricularia oryzae</i> Cav. в рисосеющих зонах юга России на

основе методов ПЦР.- Зерновое хозяйство России. – 2017. –№ 6 (54). – С. 29-35. **Импакт-фактор РИНЦ 2018 - 0,481**

2. **Дубина Е.В.**, В.Н. Шиловский, М.Г. Рубан, А.М. Оглы, Д.А. Пищенко, И.В. Балясный, Ю.А. Макуха, Е.П. Максименко, И.Б. Никитина. ДНК-технологии в селекции риса на устойчивость к пирикулярриозу. - Рисоводство. – 2018. – № 3 (40). – С. 6-12. **Импакт-фактор РИНЦ 2018 - 0,234**

3. **Elena V. Dubina**, Andrey V. Alabushev, Pavel I. Kostylev, Elena S. Kharchenko, Margarita G. Ruban, Yuliya V. Aniskina, Ilya A. Shilov, Nazife S. Velishaeva, Evgeniy P. Maximenko, Yuliya A. Makukha. Biodiversity of *Pyricularia oryzae* Cav. in rice-growing regions 3 of the south of Russia using PCR method. *Physiol Mol Biol Plants*.- 2020, Vol. 26, №2, pp. 289-303. - <https://doi.org/10.1007/s12298-019-00737-6>.

**Impact Factor – 2.005**

4. **Elena V. Dubina**, Pavel I. Kostylev, Sergey V. Garkusha, Margarita G. Ruban, Sergey A. Lesnyak, Yulia A. Makukha. Development of blast-resistant rice varieties based on application of DNA technologies. – *Euphytica*.- 2020. Vol. 216, pp. 162-173. – <https://doi.org/10.1007/s10681-020-02698-4>. **Impact**

**Factor – 1.614**

5. Rice Breeding in Russia Using Genetic Markers. Elena Dubina, Pavel Kostylev, Margarita Ruban, Sergey Lesnyak, Elena Krasnova and Kirill Azarin. / *Plants* 2020, Vol. 9, №11, pp. 1-13; <https://doi.org/10.3390/plants9111580>.

6. Dmitry Nartymov, **Elena Dubina** and Sergey Garkusha. Retrospective research of rice blast development in Krasnodar region. *BIO Web of Conferences*. -Volume 21, 2020. - XI International Scientific and Practical Conference “Biological Plant Protection is the Basis of Agroecosystems Stabilization”. DOI: <https://doi.org/10.1051/bioconf/20202100004>.

7.**Elena Dubina**, Pavel Kostylev, Sergey Garkusha, Margarita Ruban and Dmitry Pischenko. Marker assisted rice breeding for resistance to biotic and abiotic stressors. - *BIO Web of Conferences*. -Volume 21, 2020. - XI International Scientific and Practical Conference “Biological Plant Protection is the Basis of Agroecosystems Stabilization”. DOI: <https://doi.org/10.1051/bioconf/20202100012>.

Врио директора ФГБНУ «ФНЦ риса»

д-р с.-х. наук, профессор  
М.П.



С.В. Гаркуша

«6» июля 2021 г.