


УТВЕРЖДАЮ:
Врио проректора по научной работе
ФГБОУ ВО Воронежский ГАУ
С.Н. Семенов
«15» августа 2025 г.

ОТЗЫВ

ведущей организации – Федерального бюджетного государственного образовательного учреждения высшего образования Воронежский государственный аграрный университет имени императора Петра I (ФГБОУ ВО «Воронежский ГАУ») на диссертационную работу Мурзиной Эльвиры Рафаэлевны на тему: «Использование межродового гибрида *Brassicoraphanus* в качестве источника генов и признаков для селекции F1 гибридов рапса (*B.napus*)» представленной на соискание ученой степени кандидата сельскохозяйственных наук по специальности 4.1.2. Селекция, семеноводство и биотехнология растений (сельскохозяйственные науки) в диссертационный совет 35.2.030.08 на базе ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева»

Актуальность. Рапс (*Brassica napus* L.) является одной из важнейших масличных культур мирового значения. Основными проблемами современной селекции рапса в России являются зависимость от иностранного гибридного материала, а также высокая поражаемость посевов такими заболеваниями, как кила крестоцветных и настоящая мучнистая роса, борьба с которыми затруднена. В этой связи использование отдаленной гибридизации для интрогрессии в культуру рапса комплекса хозяйственно-ценных признаков (устойчивость к болезням, восстановление фертильности) является чрезвычайно актуальной задачей.

В диссертационной работе Мурзиной Э.Р. рассмотрены вопросы использования межродового гибрида *Brassicoraphanus* в качестве донора генов для расширения генетического разнообразия и создания конкурентоспособных F1 гибридов ярового рапса. Цель и задачи исследования полностью соответствуют поставленной актуальной проблеме. Автором комплексно решены задачи по отдаленной гибридизации, интрогрессии целевых генов, созданию и оценке линий-восстановителей фертильности и устойчивых гибридов.

Научная новизна работы заключается в том, что впервые показана высокая эффективность гибридизации *B. napus* и *Brassicoraphanus* как с применением технологии спасения зародышей, так и при естественном созревании. Впервые осуществлена успешная интрогрессия гена-

восстановителя фертильности *Rfo*, генов устойчивости к киле и настоящей мучнистой росе из генома *Brassicoraphanus* в геном *B. napus* за три цикла беккроссирования. Впервые на основе межвидовой гибридизации создан и зарегистрирован в Государственном реестре первый в России гибрид ярового рапса «F1 Айрос», сочетающий высокую продуктивность и групповую устойчивость к патогенам.

Теоретическая и практическая значимость. Работа имеет высокую практическую ценность. Создана и передана на государственное испытание конкурентоспособная гибридная платформа ярового рапса. Разработанные линии-восстановители фертильности и выявленный закрепитель стерильности (РЯ016) представляют непосредственный интерес для селекционных центров. Показана экономическая эффективность возделывания нового гибрида, заключающаяся в снижении пестицидной нагрузки и себестоимости продукции. Теоретически значимым является установление возможности быстрой интрогрессии комплекса признаков без проявления морфологических аномалий и негативного влияния на качество масла.

Достоверность результатов исследований обеспечивается репрезентативным объемом экспериментального материала, комплексным применением современных методов (отдаленная гибридизация, эмбриокультура, цитологический анализ, молекулярно-генетический скрининг, полевые испытания) и корректной статистической обработкой данных.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 145 страницах, состоит из введения, трех глав, выводов, библиографического списка и приложений. Работа логично структурирована, хорошо иллюстрирована (30 рисунков, 20 таблиц). Библиография включает 224 источника, что свидетельствует о глубокой проработке темы.

Апробация работы. Основные положения работы доложены на 5 международных и всероссийских конференциях. По теме диссертации опубликовано 7 научных работ, в том числе 2 в рецензируемых изданиях, подана заявка на патент.

Общая характеристика работы. Диссертационная работа изложена на 145 страницах компьютерного текста и состоит из введения, основной части, содержащей 30 рисунков и 20 таблиц, а также выводов, библиографического списка, включающего 224 источника, в том числе 194 – на иностранном языке, и 6 приложений.

Во введении (стр. 7–14) обоснована актуальность темы исследования, сформулированы цель и задачи, представлены научная новизна,

теоретическая и практическая значимость работы, положения, выносимые на защиту, а также приведены сведения об апробации результатов и публикациях.

Глава 1 «Обзор литературы» (стр. 15–50) содержит комплексный анализ современных научных данных о значении ярового рапса как масличной культуры, о патогенах настоящей мучнистой росы и килы, подробно рассмотрены вопросы использования ЦМС в селекции рапса, особенности Ogu-типа ЦМС, значение гена-восстановителя фертильности *Rfo*. Особое внимание уделено обзору подходов к использованию межвидовой и межродовой гибридизации в селекции *Brassicaceae*, характеристике амфидиплоида *Brassicoraphanus*, истории его получения и применения, методам спасения зародышей *in vitro*, цитогенетике отдалённых гибридов.

Глава 2 «Материалы и методы» (стр. 51–71) подробно описывает объекты и методы исследований. Представлена характеристика исходных растительных материалов: ярового рапса, амфидиплоида *Brassicoraphanus*, доноров генов устойчивости к болезням. Детально изложены методы выделения ДНК (СТАВ-метод), проведения ПЦР с использованием специфических праймеров для маркирования генов *orf138*, *orf222*, *orf224*, техника электрофоретического анализа в агарозном геле. Описаны методики спасения зародышей *in vitro*, получения удвоенных гаплоидов в культуре изолированных микроспор, схемы полевых опытов и фенотипирования. Приведены методы оценки устойчивости к киле (модифицированный пипеточный метод) и мучнистой росе (визуальная оценка в теплице).

Глава 3 «Результаты и обсуждения» (стр. 72–111) является основной и наиболее объёмной частью диссертации. Автором представлены следующие ключевые результаты:

Осуществлена гибридизация *Brassica napus* × *Brassicoraphanus* с получением гибридных зародышей, жизнеспособность которых обеспечена применением методики спасения зародышей *in vitro*. Описаны закономерности развития гибридных растений в первом поколении, демонстрирующие отсутствие летального генетического взаимодействия.

Успешно реализовано трёхкратное беккроссирование (BC1, BC2, BC3) с возвратом рапса, приводящее к постепенной нормализации морфологических характеристик при сохранении целевых генов. Молекулярно-генетический анализ подтвердил присутствие маркеров гена *Rfo* во всех циклах беккроссирования.

Получены и охарактеризованы линии удвоенных гаплоидов (у3дг1, у3дг2, у17дг1, у17дг2, и др.) с использованием культуры изолированных микроспор, проявляющие групповую устойчивость к обоим патогенам при сохранении высоких показателей качества масла.

Выполнена молекулярно-генетическая идентификация образцов, несущих маркеры гена orf138, orf222, orf224, характеризующие цитоплазматическую мужскую стерильность Ogu-типа. Выявлены образцы-восстановители фертильности среди существующей коллекции рапса.

Созданы F1 гибриды, полученные в результате скрещивания линий с восстановленной фертильностью и линий со стерильной цитоплазмой, выявлены высокопродуктивные комбинации с урожайностью до 38,9 ц/га.

Раздел «Выводы» (стр. 112-114) представляет сжатое и структурированное изложение основных итогов исследования в виде последовательных выводов. В выводах констатируется успешное решение поставленных задач и подтверждаются положения, выносимые на защиту: успешно осуществлена интрогрессия целевых генов из *Brassicoraphanus* в геном ярового рапса за три цикла беккроссирования; получены генотипически охарактеризованные линии с геном Rfo и генами устойчивости к патогенам; созданы высокопродуктивные F1 гибриды с потенциалом урожайности свыше 38 ц/га и комплексной устойчивостью к болезням.

В процессе анализа диссертационной работы возникли следующие замечания и вопросы:

1. При описании методики оценки устойчивости к киле (стр. 63) указано применение модифицированного пипеточного метода в лабораторных условиях. А оценку устойчивости к настоящей мучнистой росе проводили в контролируемых тепличных условиях на искусственном инфекционном фоне. Хотя эти методы широко используются для скрининга, было бы целесообразно дополнительно провести полевые испытания устойчивости к этим патогенам на естественном инфекционном фоне в природных условиях заражения килой, желательно в различных регионах, поскольку тепличные условия могут не полностью отражать реальную полевую ситуацию.

2. На странице 72 Главы 3 указано, что «при отдаленной гибридизации *Brassica napus* x *Brassicoraphanus* было опылено 200 ед. цветков, из них сформировалось 57 ед. завязей/стручков. 30 завязей использовали для сопровождения технологией спасения зародышей, остальные 27 оставляли для естественного созревания семян на растении». Какова была реальная эффективность естественного созревания семян по сравнению с культурой *in*

vitro? Какие критерии использовались для принятия решения о применении той или иной технологии для каждого конкретного скрещивания?

3. Во Введении, в разделе «Методы и методология исследования» (стр. 12) указано использование дисперсионного анализа с помощью IBM SPSS Statistics. Однако в Главе 2 в разделе 2.7 «Статистическая обработка» (стр. 71) упоминается только Microsoft Excel для хранения и систематизации данных, и что «оценку существенности различий между изучаемыми F1-гибридными комбинациями проводили при помощи однофакторного дисперсионного анализа по признакам «семенная продуктивность», «масса 1000 семян»». Какие конкретно статистические критерии и тесты применялись для оценки достоверности различий между гибридными комбинациями, в каких статистических программах?

4. В таблице 9 на странице 86 представлены средние баллы поражения настоящей мучнистой росой, которые варьируют от 0 до 3. Наблюдается градация степени поражения между различными линиями, что может свидетельствовать о количественном характере наследования устойчивости к данному возбудителю. Поясните, пожалуйста, какой тип устойчивости к настоящей мучнистой росе проявляют полученные линии – качественная (моногенная или олигогенная) или количественная (полигенная)? Является ли выявленная устойчивость расоспецифичной или имеет широкий спектр действия против различных изолятов возбудителя настоящей мучнистой росы.

5. В работе (стр. 90-93) проведен молекулярный скрининг генов устойчивости к киле (*Cra*, *Crb*, *CRA05*), однако аналогичный анализ для генов устойчивости к настоящей мучнистой росе не представлен. Проводились ли молекулярно-генетические исследования для идентификации конкретных генов или локусов, контролирующих устойчивость к этому патогену и перенесенных от межродового гибрида *Brassicoraphanus*? Изучался ли характер расщепления по устойчивости к настоящей мучнистой росе в поколениях BC2 и BC3 для определения числа генов, контролирующих данный признак?

6. В таблице 15 (стр. 101) представлены данные по масличности, содержанию протеина, эруковой кислоты и глюкозинолатов для линий и гибридов. Наблюдается значительная вариабельность показателей между линиями удвоенных гаплоидов, полученными от одного и того же беккроссного растения. Чем объясняется такая изменчивость? Проводился ли анализ стабильности этих признаков в последующих поколениях?

7. В разделе 1.1.1 Главы 1 (стр. 45-46) при анализе использования гена *Rfo* из *Raphanus sativus* в других растениях семейства *Brassicaceae* автором

упоминаются успешные случаи интрогрессии, однако отсутствует обсуждение возможных плейотропных эффектов интрогрессии гена *Rfo* на другие признаки растения. Хотя в работе указано отсутствие видимых морфологических аномалий, было бы целесообразно провести более детальное изучение физиологических, биохимических и др. признаков гибридов.

8. В автореферате имеются неточности при нумерации таблиц и рисунков.

Однако перечисленные вопросы и замечания не умаляют научной ценности проделанной работы, а скорее указывают на возможные направления для её развития и углубления в рамках дальнейших исследований.

К очевидным достоинствам данной работы можно отнести следующее:

- Автором впервые продемонстрирована возможность успешного использования межродового гибрида *Brassicoraphanus* (CCRR, $2n=36$) в качестве донора комплекса ценных генов для улучшения *Brassica napus*, что существенно расширяет генетическое разнообразие культурного рапса и открывает новые перспективы для селекции.

- Разработана эффективная схема интрогрессии целевых генов устойчивости к киле, настоящей мучнистой росе и гена-восстановителя фертильности *Rfo* за три цикла беккроссирования с применением молекулярного маркирования, что значительно ускоряет селекционный процесс и повышает его эффективность.

- Создана ценная коллекция линий ярового рапса с групповой устойчивостью к двум экономически значимым заболеваниям – киле и настоящей мучнистой росе, что имеет большое практическое значение для снижения потерь урожая и уменьшения пестицидной нагрузки на агроценозы.

- Впервые в России создан и зарегистрирован в Государственном реестре селекционных достижений F1 гибрид ярового рапса Айрос 00-типа, сочетающий высокую продуктивность (масличность 38,9%) с комплексной устойчивостью к болезням, что является значительным вкладом в развитие отечественного семеноводства масличных культур.

- Комплексное применение современных методов селекции: отдаленной гибридизации, технологии спасения зародышей *in vitro*, культуры изолированных микроспор для получения удвоенных гаплоидов и маркер-опосредованной селекции демонстрирует высокий уровень методической подготовки автора и соответствие исследования мировому научному уровню.

- Автором убедительно показано, что интрогрессия генов из *Brassicoraphanus* не приводит к морфологическим аномалиям и снижению качественных характеристик семян (низкое содержание эруковой кислоты и глюкозинолатов), что подтверждает перспективность использования межродовой гибридизации в практической селекции рапса.

- Проведен молекулярно-генетический скрининг коллекции толерантных к имидазолинонам образцов рапса и идентифицирован образец РЯ016 – закрепитель стерильности *Ogu*-типа ЦМС, что создает основу для развития эффективной трехлинейной системы гибридизации.

Наконец, следует отметить, что диссертационная работа выполнена на высоком научно-методическом уровне с использованием современного оборудования и общепринятых методик, результаты статистически обработаны и имеют научную достоверность, что подтверждается публикациями в рецензируемых изданиях и апробацией на представительных научных конференциях.

Заключение по диссертационной работе.

На основании вышеизложенного считаем, что диссертационная работа Мурзиной Эльвиры Рафаэлевны «Использование межродового гибрида *Brassicoraphanus* в качестве источника генов и признаков для селекции F1 гибридов рапса (*B. napus*)» представляет собой завершённое научное исследование, выполненное на высоком научно-методическом уровне и характеризуется логичным изложением материала, глубиной проработки рассматриваемых проблем, достоверностью и практической ценностью полученных результатов. Проведенные автором исследования обеспечили решение крупной научной проблемы, имеющей важное народно-хозяйственное значение для селекции и семеноводства рапса в Российской Федерации.

Проведённые исследования соответствуют специальности 4.1.2. Селекция, семеноводство и биотехнология растений, а полученные результаты вносят существенный вклад в развитие теоретических и практических основ селекции масличных культур, в частности рапса.

Диссертационная работа Мурзиной Эльвиры Рафаэлевны заслуживает положительной оценки и соответствует требованиям пунктов 9-11, 13-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 г., а ее автор – присуждения ученой степени кандидата сельскохозяйственных наук по специальности 4.1.2. Селекция, семеноводство и биотехнология растений.

Отзыв рассмотрен и утвержден на заседании кафедры селекции, семеноводства и биотехнологии ФГБОУ ВО Воронежский ГАУ, протокол № 4 от 3 декабря 2025 г.

Тороп Елена Александровна
доктор биологических наук (06.01.05 Селекция и семеноводство сельскохозяйственных растений), профессор кафедры селекции, семеноводства и биотехнологии, директор Центра биотехнологических исследований ФГБОУ ВО Воронежский ГАУ

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Воронежский государственный аграрный университет имени императора Петра I» (ФГБОУ ВО Воронежский ГАУ), 394087, г. Воронеж,

ул. Мичурина, 1, тел. +7(473)253-86-51, Факс: +7(473)253-86-51.

Эл. почта: main@vsau,

Официальный сайт организации: <http://www.vsau.ru>

03.12.2025 г.

