

## **ОТЗЫВ**

официального оппонента на диссертацию

**Сяо Юйтин**

**«Молекулярно-генетическая и морфобиологическая оценка разнообразия образцов фасоли обыкновенной (*Phaseolus vulgaris* L.) различного происхождения», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – генетика**

**Соответствие диссертации специальности и отрасли науки, по которым она представлена к защите.**

Содержание диссертационной работы, ее основные положения, выносимые на защиту, выводы и практические рекомендации соответствуют биологической отрасли науки, специальности 03.02.07 – генетика, в частности пунктам паспорта специальности: «12. Генетика растений. Создание нового генофонда, генетических коллекций, источников и доноров хозяйственно полезных признаков».

**Актуальность темы диссертации.**

Диссертационная работа выполнена на актуальную тему, так как посвящена морфобиологической и молекулярно-генетической оценке разнообразных по географическому и селекционному происхождению образцов, сортов и мутантных линий фасоли обыкновенной, с целью выделения среди них источников хозяйственно полезных признаков и свойств, соответствующих параметрам планируемых для селекции моделей сортов в Республике Беларусь.

Фасоль обыкновенная (*Phaseolus vulgaris* L.) в Беларуси является одной из основных овощных бобовых культур, имеющих важное продовольственное значение, как источник восполнения дефицита растительного белка в продуктах питания человека. Для более эффективного ее использования актуальным является селекционное совершенствование культуры, которое базируется на новых источниках разнообразных хозяйственно полезных признаков и свойств, применяемых при создании более высокопродуктивных сортов. В результате диссертационных исследований методами молекулярно-генетического и морфометрического анализа выявлено генетическое разнообразие изучаемого исходного материала и выделены генотипы для селекции новых сортов с высокой продуктивностью, пригодностью к механизированной уборке, скороспелостью, высокой адаптационной способностью и устойчивостью к антракнозу, что позволит ускорить и повысить результативность селекционного процесса.

**Степень новизны результатов, полученных в диссертации, и научных положений, выносимых на защиту.**

Основные научные положения, выносимые на защиту, выводы и рекомендации по практическому использованию результатов методически и экспериментально обоснованы и характеризуются научной новизной.

Впервые в условиях Республики Беларусь проведена оценка внутривидового полиморфизма фасоли обыкновенной на основе анализа интродуцируемых сортов из коллекции ВИР, сортов белорусской селекции, изученных ранее сортов

и их мутантных линий (МЗ–М7) по комплексу селекционно-значимых признаков, их зависимости от генотипа сорта и условий года культивирования.

При выполнении научных исследований установлены уникальные фракции запасных белков, которые могут служить маркерами при паспортизации генотипов (носителей этих фракций), а также для защиты авторских прав.

Подтверждено влияние мутагенеза на изменчивость и корреляционную зависимость изученных биометрических показателей мутантных образцов в сравнении с исходным сортом Триумф сахарный 764. У мутантных линий фасоли выделены новые фенотипы по окраске и форме семян, которые могут быть использованы при внутривидовой классификации.

Охарактеризованы в ряду поколений и выделены мутантные линии по признакам высокой продуктивности (ТсМЛЗБ, ТсМЛЗО, ТсМЛ4, ТсМЛ6, ТсМЛ7) и антракнозоустойчивости растений (СМЛ, ТсМЛ2, ТсМЛЗО, ТсМЛ4).

Впервые в Республике Беларусь проведено ДНК-маркирование опытных образцов фасоли обыкновенной по четырём генам (*Co-1<sub>4</sub>*, *Co-2*, *Co-4* и *Co-6*) и их аллелям (*Co-4<sub>2</sub>*), детерминирующим устойчивость к антракнозу и к угловатой пятнистости (ген *Phg-1*).

**Обоснованность и достоверность выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации.**

Заключительные выводы и рекомендации, сформулированные в диссертации, основаны на результатах экспериментальных данных, полученных в полевых и лабораторных опытах, проводимых в соответствии с общепринятыми методиками в период с 2017 по 2020 годы. Цифровой материал включает 49 таблиц, 47 рисунков, 7 формул, 6 приложений. Статистическая обработка результатов исследований проводилась согласно общепринятым методикам с использованием программ Statistica 6 и Excel 2003. Внутривидовая гетерогенность и устойчивость изучаемых образцов фасоли к антракнозу подтверждена результатами электрофореза запасных белков семян и ДНК-маркирования геномов. Статистический анализ проведен с использованием пакета программ Statistica 8. Сделанные выводы диссертации обоснованы большим объемом проанализированных экспериментальных данных и вытекают из основного содержания диссертации, которое соответствует целям и задачам работы.

Заключение представлено основными научными результатами и рекомендациями по их практическому использованию. В заключении имеются ссылки на публикации автора и справку о регистрации № ВС02000183 от 12.04.2022г.

**Научная, практическая, экономическая и социальная значимость результатов диссертации с указанием рекомендаций по их использованию**

Достоинством диссертационной работы Сяо Юйтин является применение не только морфобиологической, но и молекулярно-генетической оценки образцов фасоли обыкновенной различного эколого-географического и селекционного происхождения по хозяйственно полезным признакам и свойствам.

По результатам морфо-биологической оценки различных образцов и мутантных линий фасоли обыкновенной автором установлен значительный полиморфизм вида, который может успешно использоваться в селекционной

практике при отборе необходимых источников количественных и качественных признаков и свойств планируемой модели сорта.

По результатам оценки растений мутантных популяций и исходных сортов выделены образцы с большим количеством плодоносящих ветвей (ПрМ7Л3, ТсМ7Л4), коротким периодом вегетации (СМ6Л1, ТсМ7Л7), высокой (до 100 %) выживаемостью растений (ПрМ7Л3, ТсМ7Л4). Выделенные линии могут быть рекомендованы как исходные компоненты при гибридизации.

Выделенные у мутантов сорта Триумф сахарный 764 оригинальные фенотипы с разной окраской цветков, формой и окраской семян, элементами продуктивности, подтверждающие широкую гетерогенность изучаемого генофонда фасоли обыкновенной, можно успешно использовать для более широкого и целенаправленного отбора нужных генотипов для селекции.

Впервые получены новые фенотипы растений. Отмечено изменение силы и направления корреляционных связей между изученными признаками у мутантных линий этого сорта. Выделены перспективные формы, сохраняющие в ряду поколений (М5–М7) стабильность по установленным фенотипическим признакам и элементам семенной продуктивности растений, достоверно превышающие исходный сорт, что дополняет разнообразие генофонда фасоли обыкновенной.

Впервые определены сортовые характеристики белковых комплексов по электрофоретическим спектрам запасных белков семян по количеству и качеству белковых фракций у опытных образцов. У мутантных линий сорта Триумф сахарный 764 выявлены как общие, так и уникальные компоненты белковых спектров в сравнении с исходным сортом (фракции *б* – ТсМЛ2 и ТсМЛ6, фракция *л* – ТсМЛ7, ТсМЛ4, ТсМЛ1 и ТсМЛ2), которые могут служить маркерными признаками при их паспортизации, оценки мутантных генотипов и эффекта гибридизации, а также доказательством генетического разнообразия вида фасоли обыкновенной.

Проведенное впервые в Республике Беларусь ДНК-маркирование разных по происхождению интродуцированных сортов фасоли обыкновенной из коллекции ВИР и мутантных линий на наличие генов устойчивости к антракнозу выявило сходство и различие геномов по 4 генам и их аллелям антракнозоустойчивости. Наличие гена *Co-2* отмечено у сортов из коллекции ВИР Autan, Asgrow 230 В, F.D.W., Дарина и Лаура. Гены (*Phg-1*, *Co-42* и *Co-6*) выявлены у всех сортов и их мутантных линий. Наличие этой информации актуально для генетики и селекции культуры при создании генетически маркированной коллекций фасоли.

Эффективность отбора источников антракнозоустойчивости и других селекционно ценных признаков зависит от использования комплексной оценки изученных генотипов (показателя выживаемости растений в полевых условиях, устойчивости проростков к воздействию патогена и ДНК-маркирования геномов). На этой основе выделены источники устойчивости к антракнозу (СМЛ1, ТсМЛ30 и ТсМЛ4). Подтверждена эффективность использования экологически безопасной технологии оценки устойчивости растений к болезням по проросткам. Среди изученных сортов, мутантных линий фасоли выделены и описаны

источники: 1) скороспелости – сорт Рант и F.D.W.; 2) высокой семенной продуктивности – сорт Asgrow 230 В, Елизавета и мутантные линии – ТсМЛЗБ, ТсМЛЗО, ТсМЛ4, ТсМЛ6, ТсМЛ7; 3) устойчивости к антракнозу – сорт Сакса б/в 615 и Лаура, мутантные линии – СМЛ1, ТсМЛ2, ТсМЛЗО, ТсМЛ4; 4) высокого прикрепления нижнего бобов – сорт Сакса б/в 615 и Рант.

*Социальная и экономическая значимость* диссертационного исследования определяется тем, что ее результаты направлены на решение задач Продовольственной программы РБ, создание новых высокобелковых, продуктивных сортов фасоли, расширения площади их посевов и снижения импорта продуктов из них.

*Рекомендации по практическому использованию результатов.* Мутантная линия ТсМ8ЛЗО маркирована по генам и спектру запасных белков, рекомендована как перспективная исходная для селекции и дальнейших научных исследований. Она включена в Национальный банк семян генетических ресурсов хозяйственно полезных растений НАН Беларуси (Справка о регистрации № ВС02000183 от 12.04.2022 г.).

Выделенные перспективные формы рекомендуются в качестве источников ценных признаков для гибридизации и расширения генофонда фасоли, обыкновенной, а направление и величину корреляционной зависимости мерных признаков можно использовать при отборе необходимых генотипов и фенотипов при реализации модели сорта для конкретных условий возделывания.

Тема научных исследований соответствует приоритетным направлениям фундаментальных и прикладных научных исследований Республики Беларусь на 2016–2020 годы, отраженным в пункте 9 «Биологические системы и технологии» постановления Совета Министров Республики Беларусь от 12.03.2015 г. №190.

Диссертационные исследования выполнены в рамках НИР «Выделение из мутантных и гибридных популяций бобовых культур нового исходного материала по урожайности, адаптивному потенциалу, устойчивости к грибным болезням, низким температурам на основании комплексной морфо-биохимической оценки растений и молекулярно-генетическому маркированию их геномов» (№ ГР.20161889) ГПНИ «Качество и эффективность агропромышленного производства», подпрограмма «Земледелие и селекция» (2016–2018 гг.).

#### **Опубликованность результатов диссертации в научной печати.**

По материалам диссертации опубликовано 11 работ, в том числе: 4 статьи в журналах из перечня ВАК Республики Беларусь для опубликования диссертационных исследований (3,4 авт. л.); 4 статьи в материалах конференций (2 за рубежом); 3 тезисов докладов (1 за рубежом), что соответствует требованиям, предъявляем ВАК к кандидатским диссертациям.

Материалы диссертации были представлены на Международной научно-практической конференции «Технологии и приёмы производства экологически безопасной продукции растениеводства» (Жодино, 2016); 3-ей Международной конференции «Новые и нетрадиционные растения и перспективы их использования» (Москва, 2017); Международной научно-практической конференции «Современное состояние и перспективы развития овощеводства» г.п.Самохва-

ловичи, 2017); Международной конференции «125 лет прикладной ботаники в России» (Санкт-Петербург, 2019); 77-ой научной конференции студентов и аспирантов БГУ (Минск, 2020); IV Международной научной конференции к 55-летию основания Института генетики и цитологии НАН Беларуси «Генетика и биотехнология XXI века: проблемы, достижения, перспективы» (Минск, 2020); XVII Международной научно-практической конференции (Воронеж, 2021).

Семена новой мутантной линии ТсМ8ЛЗО включены в Национальный банк семян генетических ресурсов хозяйственно-полезных растений РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси по земледелию» и зарегистрированы в Национальном каталоге под № ВС02000183 от 12.04.2022 г.

#### **Соответствие оформления диссертации требованиям ВАК.**

Диссертация Сяо Юйтин представляет собой целостное законченное исследование. Оформлена согласно требованиям ВАК Республики Беларусь. Экспериментальный материал хорошо систематизирован и иллюстрирован.

Диссертация изложена на 185 страницах компьютерного текста, состоит из введения, общей характеристики работы, 6 глав, заключения, библиографического списка и 6 приложений. Диссертация включает 49 таблиц и иллюстрирована 47 рисунками. Список использованной литературы состоит из 266 источников, в том числе 112 иностранных.

Содержание автореферата отражает основные положения диссертации и соответствует ей.

Представленная к защите диссертационная работа Сяо Юйтин по форме, содержанию и оформлению вполне отвечает требованиям ВАК Беларуси.

Требования пп. 24, 26 «Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий в Республике Беларусь» соблюдены. Диссертация проверена на корректность использования заимствованных материалов с помощью расширенной версии интернет-сервиса «Антиплагиат» (<http://bsu-by.antiplagiat.ru/>). Степень оригинальности текста составляет 71,57 %, цитирование 16,1 %, заимствования 12,33 %.

Анализ данных источников показал, что в исследуемом тексте имеются корректные заимствования в виде наименований публикаций, конференций, стандартного описания структуры диссертаций и сведений о диссертации, терминологии и устойчивых словосочетаний, принятых в данной сфере науки, а также собственных публикаций автора. Исследования других авторов приведены со ссылкой на первоисточник, результаты исследований, полученные в совместных исследованиях с другими лицами и опубликованные в научных изданиях, приведены в диссертации с указанием соавторов и публикаций.

#### **Соответствие научной квалификации соискателя ученой степени, на которую он претендует.**

Соискатель провела большую научно-исследовательскую работу по изучению молекулярно-генетического и морфобиологического разнообразия образцов фасоли обыкновенной различного происхождения, освоила методы оценки изменчивости и наследственности признаков на молекулярном, организменном и популяционном уровнях.

В результате проведенной оценки образцов фасоли из коллекции ВИР им. Н.И. Вавилова разного происхождения, ранее изучаемых в БГУ сортов фасоли и полученных на их основе мутантных линий (МЗ–М7), а также сортов белорусской селекции автором установлена внутривидовая гетерогенность культуры. У мутантов сорта Триумф сахарный 764 получены новые фенотипов растений и выделены среди них стабильные по качественным и количественным признакам новые формы, дополнившие разнообразие изучаемого генофонда.

Установлено наличие корреляционных связей между окраской цветков и семян: белые семена – белые цветки, черные семена – фиолетовые цветки, коричневые семена – розовые цветки.

По электрофоретическим спектрам запасных белков семян определены сортовые характеристики белковых комплексов, проведено ДНК-маркирование разных по происхождению интродуцированных сортов фасоли обыкновенной из коллекции ВИР и мутантных линий на наличие генов устойчивости к антракнозу и выделены их источники, доказана эффективность оценки растений к болезням по проросткам. Среди изученных сортов, мутантных линий фасоли выделены и описаны источники: 1) скороспелости – сорт Рант и F.D.W.; 2) высокой семенной продуктивности – сорт Asgrow 230 В, Елизавета и мутантные линии – ТсМЛЗБ, ТсМЛЗО, ТсМЛ4, ТсМЛ6, ТсМЛ7; 3) устойчивости к антракнозу – сорт Сакса б/в 615 и Лаура, мутантные линии – СМЛ1, ТсМЛ2, ТсМЛЗО, ТсМЛ4; 4) высокого прикрепления нижнего бобов – сорт Сакса б/в 615 и Рант.

Мутантная линия ТсМ8ЛЗО, маркированная по генам и спектру запасных белков, рекомендована как перспективная исходная линия для селекции и дальнейших научных исследований включена в Национальный банк семян генетических ресурсов хозяйственно полезных растений НАН Беларуси.

Диссертантом получено большое количество экспериментальных данных, проведена их статистическая обработка, анализ и систематизация, сделаны соответствующие выводы. Автор изучила и обобщила источники научной литературы, на основании чего ею был подготовлен аналитический обзор по проблеме исследований. Написание и компьютерный набор диссертации выполнен диссертантом самостоятельно.

Все вышеизложенное подтверждает соответствие научной квалификации соискателя ученой степени кандидата биологических наук, по специальности 03.02.07 – генетика.

Вместе с общей положительной оценкой рассматриваемой диссертации следует отметить имеющиеся недостатки и высказать ряд пожеланий для дальнейшей научно-исследовательской деятельности соискателя:

1. В тексте диссертации встречаются ошибки технического характера: на стр. 8 сорт Мотольская назван Мотыльская; на стр. 62 вылепляться вместо выщепляться; стр.70 –коэффициент корреляции (ч); стр. 76–аллея гена; стр.77 –оливковый окраска; стр.84 – тесто связана; стр.89 – у каждого формы; стр.119 –должны быть планировать. В тексте также имеются неудачные выражения: стабильным урожаем, вместо урожайностью – стр.84; установлено 6 сильных корреляций – стр. 92; климатических условий, вместо метеорологических;

плейатровных генов, вместо плеотропных – стр. 98; посев семян мелкоделяночным способом, есть мелкоделяночный опыт, а способ посева семян бывает рядовой, широкорядный – стр. 49 и др.

2. На стр. 26 в подразделе 1.2.2 Спонтанный и индуцированный мутагенез нет никакой информации по спонтанному мутагенезу, который, как известно, играет важную роль в расширении генетического разнообразия бобовых культур.

3. На стр. 49 в подразделе 2.2.1 указано, что посев семян фасоли проведен мелкоделяночным способом с соблюдением норм высева семян по методике ВИР. Следовало указать, какое количество семян было высеяно на делянках в опытах. Полевая всхожесть указана автором только в процентах, желательно было бы в приложении показать данные по количеству взошедших растений по вариантам.

4. Изучение сортов фасоли из коллекции ВИР и РБ проводили два года (2018-2019гг.), исходных сортов и мутантных популяций из коллекции БГУ – 3 года – хотелось бы узнать, с чем это связано?

5. При оценке элементов структуры семенной продуктивности на показатели сильное влияние оказывает количество растений на 1 м<sup>2</sup> и количество сохранившихся к уборке растений. Проведенный автором анализ всхожести семян показывает, что этот показатель варьировал по годам, но в большей степени по сортам и находился в пределах в 2018 году от 50% (Autan, Ребус ) до 100% (Рант, Отбор от F.D.W. и Магура), а в 2019 г от 16 % г (сорт Asgrow 230 В) до 100% (Отбор от F.D.W. сорта Магура. Считаю, что такие различия могли оказать значительное влияние на уровень изучаемых количественных показателей.

6. В методике по оценке устойчивости генотипов фасоли к антракнозу по проросткам рулонным методом и в чашках Петри не указаны повторения, которых по методике должно быть четыре, и выборка по каждому варианту у автора составила 20 семян, вместо 50 семян по методике. Автор также указывает на трудности оценки устойчивости образцов к антракнозу по проросткам в чашках Петри, в связи с ограничением пространства, в таком случае было бы более целесообразным использовать в опыте для проращивания семян специальные растильни, имеющие достаточную площадь для прорастания семян и формирования необходимой длины проростков для планируемой оценки.

Сделанные замечания в основном носят рекомендательный характер и не снижают общей положительной оценки работы.

**Заключение.** Диссертационная работа Сяо Юйтин на тему «Молекулярно-генетическая и морфобиологическая оценка разнообразия образцов фасоли обыкновенной (*Phaseolus vulgaris* L.) различного происхождения» является завершенной квалификационной научной работой, которая по актуальности, методологии, уровню и объему выполненных исследований, степени новизны, научной и практической значимости полученных результатов соответствует требованиям п.п. 19, 20 «Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий в Республике Беларусь», а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности

03.02.07 – генетика за новые научно обоснованные научные результаты, включающие:

- установление на основе молекулярно-генетического и морфометрического анализа генетического разнообразия у изучаемого исходного материала и выделение на его основе источников ценных хозяйственно полезных признаков и свойств, для селекции в Беларуси новых сортов фасоли обыкновенной с высокой продуктивностью, пригодностью к механизированной уборке, скороспелостью и устойчивостью к антракнозу.

- увеличение разнообразия генофонда фасоли обыкновенной путем выделения у мутантов сорта Триумф сахарный 764 новых константных фенотипов растений с разной окраской цветков, формой и окраской семян, и элементами семенной продуктивности.

- выделение по электрофоретическим спектрам запасных белков семян у мутантных линий сорта Триумф сахарный 764 уникальных компонентов белковых спектров (фракции *б* – ТсМЛ2 и ТсМЛ6, фракция *л* – ТсМЛ7, ТсМЛ4, ТсМЛ1 и ТсМЛ2), для использования их в качестве маркерных признаков при паспортизации сортов.

- за проведенное впервые в Республике Беларусь ДНК-маркирования разных по происхождению сортов и мутантных линий фасоли обыкновенной, по четырём генам (*Со-1<sub>4</sub>*, *Со-2*, *Со-4* и *Со-6*) и их аллелям (*Со-4<sub>2</sub>*), детерминирующим устойчивость к антракнозу и к угловатой пятнистости (ген *Phg-1*), что актуально для селекции и создания генетически маркированной коллекции.

- за выделение среди изученных сортов, мутантных линий фасоли источников: 1) скороспелости – сорт Рант и F.D.W.; 2) высокой семенной продуктивности – сорт Asgrow 230 В, Елизавета и мутантные линии – ТсМЛЗБ, ТсМЛЗО, ТсМЛ4, ТсМЛ6, ТсМЛ7; 3) устойчивости к антракнозу – сорт Сакса б/в 615 и Лаура, мутантные линии – СМЛ1, ТсМЛ2, ТсМЛЗО, ТсМЛ4; 4) высокого прикрепления нижнего бобов – сорт Сакса б/в 615 и Рант;

- за регистрацию мутантной линии ТсМ8ЛЗО, маркированной по генам и спектру запасных белков, в Национальном банке семян генетических ресурсов хозяйственно полезных растений НАН Беларуси.

Официальный оппонент:

профессор кафедры селекции и генетики,

доктор сельскохозяйственных наук, профессор,

УО «Белорусская государственная орденов

Октябрьской Революции, Трудового Красного Знамени

сельскохозяйственная академия»

В.И. Бушуева

25 ноября 2022 года

