

ОТЗЫВ

официального оппонента

на диссертационную работу Лагуновской Елены Владимировны
«Молекулярно-генетические подходы для повышения эффективности
андрогенеза *in vitro* и отбора селекционно ценных линий удвоенных гаплоидов
пшеницы (*Triticum aestivum* L.) и тритикале (\times *Triticosecale* Wittm.)»,
представленную на соискание ученой степени
кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – генетика

Соответствие диссертации специальностям и отраслям науки, по которым она представлена к защите.

Рассматриваемая диссертационная работа «Молекулярно-генетические подходы для повышения эффективности андрогенеза *in vitro* и отбора селекционно ценных линий удвоенных гаплоидов пшеницы (*Triticum aestivum* L.) и тритикале (\times *Triticosecale* Wittm.)» соответствует специальности 03.02.07 – «генетика» и отрасли биологических наук (приказ ВАК от 23.11.2016 № 300). Выносимые на защиту положения и выводы диссертации соответствуют нижеследующим пунктам паспорта заявленной специальности:

пункт 12. «**Генетика растений.** Генетические основы селекции растений, клеточная и хромосомная инженерия. Биотехнология в селекции растений. Повышение адаптивного потенциала культурных растений. Интрогрессии и рекомбинации в селекции. Генетические основы ускорения и повышения эффективности селекционного процесса. ДНК-паспортизация растений. Сохранение и изучение генетических ресурсов. Создание нового генофонда, генетических коллекций, источников и доноров хозяйственно-полезных признаков»;

пункт 13. «**Генетика биологических систем *in vitro*.** Клеточная дифференцировка. Экспрессия генов в культуре *in vitro*. Процессы

андрогенеза и гиногенеза. Закономерности и механизмы изменчивости, индуцированной условиями *in vitro*. Создание нового генетического материала биотехнологическими методами. Соматическая гибридизация. Процессы каллусо- и органогенеза растений».

Актуальность темы диссертации.

Объектом рассматриваемой диссертации являются пшеница и тритикале, которые представляют собой одни из важнейших хозяйственно-ценных сельскохозяйственных культур Беларуси, что предопределяет высокую значимость проведенных исследований. В настоящее время плодотворная работа по выведению новых сортов невозможна без комплексного использования как классических селекционных, так и современных биотехнологических и молекулярно-генетических методов. Применение метода изоляции и культивирование *in vitro* пыльников дает возможность получать гомозиготные линии из гибридов, расширяет спектр изменчивости по хозяйственно-ценным признакам, облегчает поиск ценных генотипов, использование которых в селекционных программах позволяет ускорить процесс создания новых сортов с улучшенными признаками.

Поэтому диссертационная работа Лагуновской Е.В., посвященная разработке технологий получения *in vitro* культур пыльников пшеницы и тритикале, созданию линий удвоенных гаплоидов и их молекулярно-генетическому анализу, имеет особую актуальность.

Рассматриваемая диссертационная работа соответствует приоритетным направлениям научной, научно-технической и инновационной деятельности Республики Беларусь на 2021-2025 гг., отраженным в пункте 2 «Биологические, медицинские, фармацевтические и химические технологии и производства», утвержденных указом Президента Республики Беларусь № 156 от 7 мая 2020 г.

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

Результаты диссертационной работы, на основе которых сделаны выносимые на защиту положения, обладают научной новизной и получены автором впервые. Соискателем получены гибридные популяции с использованием генотипов пшеницы и тритикале, которые в наибольшей степени различаются по значениям параметров андрогенеза *in vitro*, и выявлены связи между комбинациями молекулярных маркеров и способностью к андрогенезу *in vitro*. Разработаны эффективные способы оценки однородности генетического материала используемого в селекционных программах и определен уровень гомозиготности среди линий предполагаемых удвоенных гаплоидов пшеницы и тритикале. Разработана методика генотипирования KASP по хозяйственно-ценным генам пшеницы и тритикале и проведена паспортизация их линий удвоенных гаплоидов.

Обоснованность и достоверность выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации.

Все основные выводы и положения, вынесенные на защиту, вытекают из экспериментов, проведенных автором с использованием современных методов, адекватных поставленным задачам. Научный анализ и выводы базируются на большом объеме экспериментального материала. Многоплановость работы в соответствии с требованиями современных методик и использование комплекса биотехнологических, молекулярно-генетических и селекционных методов для решения поставленных задач позволили получить достоверную научную информацию по изучаемым вопросам.

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

Результаты исследования имеют высокую научную значимость в связи с изучением генетических механизмов андрогенеза. Лагуновской Е.В., с использованием в качестве объектов скрещиваний контрастных по признакам гомозиготных ДН-линий пшеницы и тритикале (линии удвоенных гаплоидов), выявлены ДНК-маркеры, позволяющие прогнозировать эмбриогенный потенциал в культуре пыльников *in vitro*. Идентифицированные в популяциях гибридов F₂ ДНК-маркеры дали возможность выявлять формы с высокой способностью к андрогенезу на ранних стадиях развития растения, до введения их в культуру пыльников. Доказана необходимость проверки линий удвоенных гаплоидов на гомозиготность. Осуществлена паспортизация гомозиготных линий удвоенных гаплоидов пшеницы и тритикале по 10 генам, ассоциированным с хозяйственно ценными признаками, что дает возможность сократить сроки получения новых высокоурожайных, с повышенным качеством зерна сортов пшеницы и тритикале. Использование системного подхода к разработке технологии получения удвоенных гаплоидов пшеницы и тритикале позволяет говорить о большом практическом значении результатов диссертационной работы.

Полученные в ходе выполнения диссертации генетические паспорта позволили передать наиболее ценные по хозяйственно-ценным признакам образцы ДНК ДН-линий пшеницы и тритикале в Республиканский Банк ДНК человека, животных, растений и микроорганизмов (акты передачи от 16.12.2022; 23.12.2022; 14.12.2023). Линии пшеницы и тритикале, несущие комплекс благоприятных аллелей указанных генов, переданы в РУП «НПЦ НАН Беларуси по земледелию» для испытания и использования в селекции (акты передачи от 11.12.2017; 11.03.2024). Данные по аллельному составу генов, ассоциированных с массой 1000 зерен и качеством зерна, включены

в Государственный регистр информационных ресурсов (свидетельство № 1342336786 от 11.12.2023). Методика KASP-генотипирования по генам, контролирующим хозяйственно ценные признаки пшеницы, издана в виде методических рекомендаций и использована при создании сорта мягкой яровой пшеницы Инновация (выписка из протокола № 32 заседания Ученого совета РУП «НПЦ НАН Беларуси по земледелию» от 08.12.2023). Сорт передан в Государственное сортоиспытание Республики Беларусь (акт передачи от 12.12.2023). Результаты исследований дают возможность рекомендовать разработанные технологии получения удвоенных гаплоидов для широкого внедрения в селекционную работу с пшеницей и тритикале.

Опубликованность результатов диссертации в научной печати.

Основные результаты диссертации опубликованы в 14 работах, из них пять статей в изданиях, соответствующих пункту 19 Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий в Республике Беларусь, пять публикаций в материалах научных конференций, три тезиса докладов на научных конференциях и методические рекомендации.

Соответствие оформления диссертации требованиям ВАК.

Диссертация написана хорошим научным языком и оформлена согласно требованиям ВАК Беларуси. Диссертация включает введение, общую характеристику работы, основную часть, состоящую из обзора литературы, описания материалов и методов исследований, а также трех глав экспериментальных исследований, с их основными результатами и выводами, заключения, библиографического списка и приложений. Диссертация изложена на 161 странице, включает 30 таблиц, 16 рисунков и 2 приложения. Библиографический список состоит из 281 наименования. Автореферат отражает содержание диссертации, включает все основные

результаты исследования, сделанные на их основе выводы и положения, выносимые на защиту.

Замечания и предложения.

– Нет необходимости указывать каким приоритетным направлениям научной деятельности Республики Беларусь на 2011-2015 и 2016-2020 гг. соответствует диссертационная работа.

– Не совсем понятна фраза о том, что созданные методом индуцированного андрогенеза в культуре пыльников *in vitro* линии удвоенных гаплоидов позволяют улучшить генетическое разнообразие.

– Есть ли необходимость так часто указывать в ссылках на первоисточник конкретные страницы, если в тексте диссертации не делается прямое цитирование из публикации?

– Желательно было бы в диссертации (особенно в обзоре литературы) хотя бы коротко рассмотреть исследования по ржи и при необходимости сопоставить с собственными результатами.

– В таблице 2.5 следовало бы убрать лишнее упоминание слова «тритикале» или указать в примечании, что означают кавычки.

– В тексте диссертации отсутствует ссылка на рисунок 4.9 и не совсем понятно выражение «... для модели 1, для которой значение точного критерия Фишера находилось на границе статистической значимости ($p=0,052$) (таблица 4.8)», тем более, что в таблице 4.8 это значение отсутствует.

Приведенные замечания носят редакционный либо рекомендательный характер и не снижают общей высокой оценки рассматриваемой диссертационной работы.

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

Анализ содержания представленной диссертации, автореферата и публикаций по теме исследований свидетельствуют о соответствии научной квалификации Лагуновской Е.В. ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – «генетика».

Заключение.

Диссертационная работа Лагуновской Е.В. «Молекулярно-генетические подходы для повышения эффективности андрогенеза *in vitro* и отбора селекционно ценных линий удвоенных гаплоидов пшеницы (*Triticum aestivum* L.) и тритикале (\times *Triticosecale* Wittm.)» является законченным квалификационным трудом и по актуальности темы, научной новизне, практической значимости соответствует требованиям Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий в Республике Беларусь, предъявляемым к кандидатским диссертациям. Автор диссертационной работы Лагуновская Елена Владимировна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – «генетика» за совокупность новых научно обоснованных теоретических и практических результатов, включающих:

– установление связи между комбинациями молекулярных маркеров (локусы пшеницы – *Xgwm371*, *Xgwm595*, локусы тритикале – *Xgwm312*, *Xbarc318*, *Xgwm291*, *Xgwm156*, *Xgwm540*) и эффективностью андрогенеза *in vitro* у изучаемых сельскохозяйственных культур;

– доказательство необходимости проверки линий удвоенных гаплоидов пшеницы и тритикале на гомозиготность;

– оценку однородности генетического материала линий удвоенных гаплоидов пшеницы и тритикале используемых в селекционных программах;

– разработку методики KASP-генотипирования для скрининга линий удвоенных гаплоидов пшеницы и тритикале по 10 генам, ассоциированным с хозяйственно-ценными признаками;

– выявление перспективного селекционного материала (шесть DH-линий пшеницы – DH8-5/10, DH65-5-12, DH66-3-(O)-12, DH67-9-12, DH67-1-12, DH69-2-12, три DH-линии тритикале – DH80-1-13, DH80-3-13, DH80-4-13), на основе паспортизации KASP-методом линий удвоенных гаплоидов, для целенаправленного получения высокопродуктивных сортов пшеницы и тритикале с улучшенным качеством зерна.

Зав. научно-исследовательским отделом
генетики, селекции и биотехнологии
Института леса НАН Беларуси,
доктор биологических наук, профессор,
член-корреспондент НАН Беларуси
29.01.2025

 В.Е. Падутов

