

УТВЕРЖДАЮ

Директор
государственного научного
учреждения «Центральный
ботанический сад Национальной
академии наук Беларуси»


Ф.И. Привалов
« » 2025 г.

ОТЗЫВ ОППОНИРУЮЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

государственного научного учреждения «Центральный ботанический сад
Национальной академии наук Беларуси» 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 содержания диссертации заявленной специальности
и отрасли науки, по которым она представлена к защите, со ссылкой на
область исследования паспорта соответствующей специальности,
утвержденного ВАК**

Диссертационная работа соискателя 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.)» представлена к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук. Тема диссертации соответствует пункту 3.6 приоритетных направлений фундаментальных и прикладных научных исследований Республики Беларусь на 2011–2015 гг., пункту 3 приоритетных направлений научных исследований Республики Беларусь на 2016–2020 гг. и 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 от 7 мая 2020 г. № 156.

Цель диссертационного исследования – выявление генетических локусов, ассоциированных с эффективностью андрогенеза *in vitro* у пшеницы и тритикале и молекулярно-генетический анализ полученных линий удвоенных гаплоидов по генам, ассоциированным с хозяйственно ценными признаками.

Объект исследования – линии удвоенных гаплоидов, созданные методом культуры пыльников *in vitro*, а также сорта, и гибриды пшеницы и тритикале.

Предмет исследования – полиморфизм SSR- и ISSR-локусов, а также аллельный состав генов, ассоциированных с массой 1000 зерен и качественными характеристиками зерна пшеницы и тритикале.

В диссертационной работе Лагуновской Е.В. представлено научное обоснование комплексного подхода, основанного на использовании метода культуры *in vitro* и ДНК маркеров, к ускоренному созданию новых селекционно ценных линий пшеницы и тритикале, содержащих благоприятные аллели генов, ассоциированные с хозяйственно полезными признаками растений.

Таким образом, цель, задачи, объект и предмет диссертационного исследования, а также представленные к защите и обсуждению результаты, выводы соответствуют биологической отрасли науки и паспорту специальности 03.02.07 – генетика (пункты раздела III. Области исследований: 2. Функциональная организация генома; 12. Генетика растений, подпункт 1. Генетика биологических систем *in vitro*), по которым она представлена в Совет по защите диссертаций Д 01.31.01 при государственном научном учреждении «Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси».

Научный вклад соискателя в решение научной задачи с оценкой его значимости

Соискателем совместно с научным руководителем кандидатом биологических наук, доцентом В.А. Лемеш определены цель и задачи исследования, сформулированы положения, выносимые на защиту. Лагуновской Е.В. лично выполнена систематизация и анализ научной литературы по теме диссертации, получены данные об эффективности андрогенеза *in vitro* у генотипов пшеницы и тритикале, подобраны контрастные по значениям параметров андрогенеза пары для скрещивания и созданы расщепляющиеся популяции F_2 , с использованием которых установлены аллели микросателлитных локусов пшеницы и тритикале, ассоциированные со способностью к андрогенезу *in vitro*. В культуре пыльников *in vitro* получено 18 линий пшеницы и 53 линии тритикале, среди которых с использованием 13 маркеров к ISSR локусам выделены гомозиготные удвоенные гаплоиды.

С использованием технологии KASP-генотипирования по генам хозяйственно ценных признаков Лагуновской Е.В. выделены удвоенные гаплоиды пшеницы и тритикале, с комплексом ценных аллелей генов *TaTGW6-A1a*, *Hlc*, *TaGs3-D1a*, *TaCKX-D1a*, контролирующих массу 1000 зерен, а также генов *Gpc-B1*, *Ppo-A1*, *Lox-B1*, *Psyl-A1*, *TaPod-A1*, *Zds-A1*, влияющих на качество зерна у пшеницы и тритикале. Проведенное исследование позволит значительно ускорить создание новых сортов

пшеницы и тритикале, а также расширить сферу применения зерна тритикале для производства хлебобулочных и кондитерских изделий.

Лагуновской Е.В. в соавторстве разработана методика генотипирования KASP в селекции мягкой яровой пшеницы, которая совместно с РУП «НПЦ НАН Беларуси по земледелию» успешно применена при создании отечественного сорта мягкой яровой пшеницы 'Инновация'.

Таким образом, считаем, что диссертационное исследование Лагуновской Е.В. вносит существенный вклад в повышение эффективности андрогенеза *in vitro* и отбора селекционно ценных генотипов пшеницы и тритикале, является самостоятельно выполненным завершенным оригинальным научным исследованием с более чем достаточным личным вкладом соискателя.

Конкретные научные результаты (с указанием их новизны и практической значимости), за которые соискателю может быть присуждена искомая ученая степень

Исследования Лагуновской Е.В. обладают высокой степенью новизны и оригинальности и вносят существенный вклад в повышение эффективности метода культуры пыльников *in vitro*, благодаря выявлению аллелей микросателлитных локусов, которые могут быть использованы как маркеры для отбора генотипов с высокой и низкой способностью к андрогенезу *in vitro*. Дополнение данного метода молекулярно-генетическими подходами, такими как определение гомозиготности получаемых линий при помощи ISSR-маркеров и использование высокоточной технологии KASP, для выделения генотипов с ценными аллелями генов хозяйственно ценных признаков, позволяет значительно ускорить получение новых ценных сортов пшеницы и тритикале, что имеет важное практическое значение.

Считаем, что ученая степень кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – генетика Лагуновской Е.В. **может быть присуждена за:**

– подбор оптимальных условий для культивирования пыльников пшеницы и тритикале;

– выделение генотипов пшеницы и тритикале, характеризующихся контрастными значениями параметров андрогенеза *in vitro* и создание на их основе расщепляющихся по значениям параметров андрогенеза популяций F₂;

– выявление аллелей микросателлитных локусов пшеницы (*Xgwm371*, *Xgwm595*) и тритикале (*Xgwm312*, *Xbarc318*, *Xgwm291*, *Xgwm156*, *Xgwm540*), связанных со способностью изучаемых растений к андрогенезу *in vitro*;

– применение ISSR-маркеров как эффективного современного метода ускоренного анализа однородности генетического материала линий пшеницы и тритикале, созданных методом индуцированного андрогенеза *in vitro*, позволившего выявить 14 гомозиготных ДН-линий пшеницы (77,8% от исследуемых) и 24 ДН-линии тритикале (соответственно, 45,3%);

– выделение с помощью технологии KASP генотипов удвоенных гаплоидов пшеницы и тритикале, для которых характерно максимальное число благоприятных аллелей исследуемых генов, ответственных за контроль хозяйственно ценных признаков, таких как масса 1000 зерен и качественные характеристики зерна.

Замечания по диссертации

В качестве замечаний следует отметить:

– в разделе «Методы исследования» на стр. 56 (второй абзац) указано, что разделение полученных продуктов амплификации ПЦР-анализа с праймерами к SSR-локусам осуществляли в агарозном геле и с помощью капиллярного электрофореза, в то время как в обсуждении результатов работы, на стр. 77 (первый абзац), говорится о том, что разделение продуктов амплификации с данными праймерами проводили в полиакриламидном геле с использованием вертикального гель-электрофореза;

– в разделе «Методы исследования» на стр. 58 (третий абзац) указана ссылка на таблицу 2.6 «Компоненты реакционной смеси и условия проведения ПЦР с праймерами к SSR-локусам», по содержанию не соответствующую сути фразы, от которой идет ссылка («В каждой паре «прямой-обратный праймер» один из праймеров метили флуоресцентным красителем»).

Сделанные замечания не затрагивают основную суть диссертации, носят частный характер и не снижают общей положительной оценки работы.

Соответствие научной квалификации соискателя ученой степени, на которую он претендует

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 завершенным самостоятельным научным исследованием, оформленным в соответствии с требованиями Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий в Республике Беларусь, предъявляемым к кандидатским диссертациям. Содержание диссертации и автореферата свидетельствует о высоких профессиональных качествах соискателя и характеризует его как подготовленного специалиста в области генетики растений. Проведена систематизация и интерпретация литературных источников по теме диссертационного исследования, детальный анализ и обобщение собственных экспериментальных данных. Выводы, сформулированные по результатам проведенного исследования, полностью соответствуют поставленным задачам. При выполнении исследования Лагуновской Е.В. освоены и использованы современные молекулярно-генетические и биотехнологические методики, позволившие выполнить работу на высоком научном и методическом уровне.

Полученные экспериментальные данные обладают значительной научной и практической ценностью, их достоверность и научная обоснованность не вызывает сомнений. Результаты исследований аллельного состава генов хозяйственно ценных признаков пшеницы включены в Государственный регистр информационных ресурсов (свидетельство от 11.12.2023 № 1342336786). Образцы ДНК линий удвоенных гаплоидов пшеницы и тритикале, несущих благоприятные аллели генов, контролирующих массу 1000 зерен и качество зерна, переданы в Республиканский банк ДНК человека, животных, растений и микроорганизмов (акты передачи от 16.12.2022, 23.12.2022, 14.12.2023). Линии удвоенных гаплоидов с комплексом из пяти благоприятных аллелей переданы в РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси по земледелию» для испытания и использования в селекции (акты передачи от 11.12.2017 и 11.03.2024). Разработанная методика генотипирования KASP в селекции мягкой яровой пшеницы использована совместно с РУП «НПЦ НАН Беларуси по земледелию» при создании сорта мягкой яровой пшеницы 'Инновация' (выписка из протокола № 32 заседания ученого совета РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси по земледелию» от 08.12.2023).

Результаты выполненных в рамках диссертационной работы исследований опубликованы в 14 научных работах (10 статей, 3 тезисов докладов и 1 методические рекомендации, в сумме составляющие 6,6 авторских листов), 5 из которых (4,0 авторских листа) соответствуют пункту 19 Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий в Республике Беларусь, а также представлены на республиканских и международных научных конференциях.

Все вышесказанное подтверждает соответствие научной квалификации Лагуновской Е.В. степени кандидата биологических наук.

Заключение

Диссертационная работа 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.)», представленная на соискание степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – генетика, является логически завершенным, оригинальным и актуальным исследованием, соответствует квалификационным требованиям ВАК Республики Беларусь. Содержание диссертационной работы соответствует паспорту специальности «03.02.07 – генетика» и отрасли «биологические науки».

Считаем, что Лагуновская Е.В. достойна присуждения искомой ученой степени за **новые научно обоснованные теоретические и практические результаты исследования в области генетики растений, включающие:**

– разработку и применение комплексного подхода, основанного на использовании метода культуры *in vitro* и ДНК маркеров, для создания новых

линий пшеницы и тритикале, содержащих благоприятные аллели генов, ассоциированные с хозяйственно ценными признаками растений;

– установление статистически значимой ассоциативной связи между эффективностью андрогенеза *in vitro* и аллельным составом микросателлитных локусов пшеницы *Xgwm371*, *Xgwm595* и тритикале *Xgwm312*, *Xbarc318*, *Xgwm291*, *Xgwm156*, *Xgwm540*, свидетельствующей о возможности использования данных локусов в качестве эффективных маркеров для выявления генотипов с высокой способностью к андрогенезу;

– применение ISSR-маркеров как эффективного современного метода ускоренного анализа однородности генетического материала линий пшеницы и тритикале, созданных методом индуцированного андрогенеза *in vitro*, позволившего выявить гомозиготные линии удвоенных гаплоидов пшеницы и тритикале;

– выделение с использованием методики KASP-генотипирования шести линий удвоенных гаплоидов пшеницы (DH8-5/10, DH65-5-12, DH66-3-(O)-12, DH67-9-12, DH67-1-12, DH69-2-12) и трех линий удвоенных гаплоидов тритикале (DH80-1-13, DH80-3-13, DH80-4-13) с сочетанием благоприятных аллелей генов, контролирующих массу 1000 зерен и качество зерна, которые были переданы в РУП «НПЦ НАН Беларуси по земледелию» для использования в селекции при создании новых сортов мягкой пшеницы и гексаплоидного тритикале с улучшенным качеством зерна;

– применение методики KASP-генотипирования при создании совместно с РУП «НПЦ НАН Беларуси по земледелию» сорта мягкой яровой пшеницы 'Инновация', который передан на государственное сортоиспытание Республики Беларусь.

Отзыв составлен на основании анализа материалов диссертационной работы и автореферата, обсуждения доклада соискателя Лагуновской Елены Владимировны, проекта отзыва оппонировавшей организации и одобрен на научном собрании государственного научного учреждения «Центральный ботанический сад Национальной академии наук Беларуси» – заседании ученого совета государственного научного учреждения «Центральный ботанический сад Национальной академии наук Беларуси» (протокол от 6 февраля 2025 г. № 3).

Эксперт оппонировавшей организации – заместитель директора по научной и инновационной работе государственного научного учреждения «Центральный ботанический сад Национальной академии наук Беларуси» кандидат биологических наук, доцент Гончарова Людмила Владимировна (специальность «03.01.04 – биохимия») – назначен приказом директора государственного научного учреждения «Центральный ботанический сад Национальной академии наук Беларуси» от 17.01.2025 № 20.

На научном собрании присутствовало всего – 33 человека, из них 4 доктора наук и 19 кандидатов наук:

д.б.н. Кутас Е.Н. (03.01.05), д.с.-х.н. Привалов Ф.И. (06.01.09), д.б.н. Титок В.В. (03.01.05, 03.02.07), д.б.н. Торчик В.И. (03.02.01, 06.03.03);

к.б.н. Агабалаева Е.Д. (03.01.05), к.б.н. Апошенко Б.Ю. (03.02.07), к.б.н. Башилов А.В. (03.01.05), к.б.н. Белоусова Н.Л. (03.02.01), к.б.н. Белый П.Н. (03.02.08), к.б.н. Булавко Г.И. (03.02.03), к.б.н. Головченко Л.А. (06.01.07), к.б.н. Гончарова Л.В. (03.01.04), к.б.н. Кабушева И.Н. (03.02.01), к.б.н. Келько А.Ф. (03.02.01), к.б.н. Кондратов Е.В. (03.02.01), к.б.н. Курлович Т.В. (03.02.01), к.б.н. Мялик А.Н. (03.02.01), к.б.н. Мотыль М.М. (03.02.01), к.б.н. Павловский П.Б. (03.02.01), к.с.-х.н. Пашкевич П.А. (06.01.05), к.б.н. Спиридович Е.В. (03.01.04), к.б.н. Чижик О.В. (03.01.05), к.б.н. Яковлев А.П. (03.01.05, 06.03.02).

В голосовании приняло участие специалистов, имеющих ученую степень: всего – 23 чел., в т.ч. 4 доктора наук и 19 кандидатов наук.

Результаты голосования: «за» – 23, «против» – нет, «воздержался» – нет.

Отзыв принят открытым голосованием единогласно.

Председатель научного собрания:

директор государственного научного учреждения «Центральный ботанический сад Национальной академии наук Беларуси», академик НАН Беларуси, доктор сельскохозяйственных наук, профессор

 Ф.И. Привалов

Секретарь научного собрания:

ученый секретарь государственного научного учреждения «Центральный ботанический сад Национальной академии наук Беларуси» кандидат биологических наук, доцент

 П.Н. Белый

Эксперт оппонирующей организации:

заместитель директора по научной и инновационной работе государственного научного учреждения «Центральный ботанический сад Национальной академии наук Беларуси» кандидат биологических наук, доцент

 Л.В. Гончарова

« 6 » февраля 2025 г.

Подписи Привалова Ф.И., Белого П.П. и Гончаровой Л.В. удостоверяю:



