

ОТЗЫВ

официального оппонента

на диссертационную работу Дрозд Елизаветы Валерьевны
«Генетические основы маркер-ассоциированной селекции форм томата (*Solanum lycopersicum* L.) с повышенным содержанием антоцианов и каротиноидов», представляемую на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.07 – молекулярная генетика

Соответствие диссертации специальности и отрасли науки, по которым она представлена к защите, со ссылкой на область исследования паспорта соответствующей специальности, утвержденного ВАК

В диссертационной работе Дрозд Е.В. проведены фундаментальные исследования молекулярно-генетических механизмов регуляции биосинтеза вторичных метаболитов растений. Проанализированы генетические детерминанты накопления антоцианов и каротиноидов в плодах томата (*Solanum lycopersicum* L.) на молекулярном уровне, что соответствует направлению исследований по изучению структуры и функций генов.

Дана характеристика взаимодействия генов и их аллелей, контролирующих биосинтез флавоноидов и каротиноидов, что входит в область исследований молекулярной генетики по изучению генетической регуляции метаболических путей.

В работе применены современные методы молекулярно-генетического (секвенирование, ПЦР-анализ, разработка ДНК-маркеров) и биохимического анализа (ВЭЖХ, спектрофотометрия), что полностью соответствует методическому аппарату, предусмотренному паспортом специальности для исследований в области молекулярной генетики.

Полученные результаты расширяют понимание молекулярных механизмов генетической регуляции биосинтеза биологически активных соединений и создают основу для развития маркер-ассоциированной селекции томата, что соответствует фундаментальным задачам молекулярной генетики, определенным в паспорте специальности ВАК.

Таким образом, имеет место соответствие диссертации отрасли биологические науки и специальности 03.01.07 – молекулярная генетика по пунктам:

- 8. ДНК маркеры. Методы молекулярно-генетического картирования геномов.
- 9. Молекулярные механизмы эволюции геномов, генетический полиморфизм.
- 12. Секвенирование ДНК, генов, геномов.
- 19. ДНК-типирование микроорганизмов, растений и животных.

Актуальность темы диссертации

Актуальность исследования обусловлена совокупностью фундаментальных и прикладных задач современной сельскохозяйственной биотехнологии и селекции томата.

В первую очередь, флавоноиды (в частности, антоцианы) и каротиноиды – ключевые вторичные метаболиты растений фенольной и терпеноидной природы, выполняющие сигнальные и защитные функции в ответ на абиотические и биотические стрессоры. Их накопление повышает адаптивный потенциал растений и определяет биологическую ценность растительной продукции.

Во-вторых, антоцианы и каротиноиды обладают выраженными антиоксидантными свойствами, что делает их важнейшими компонентами функциональных продуктов питания, направленных на профилактику окислительного стресса и связанных с ним заболеваний. В условиях растущего спроса на нутрицевтики и функциональное питание создание сортов томата с повышенным содержанием этих соединений представляет значимый рыночный и медико-профилактический интерес.

Также томат (*Solanum lycopersicum* L.) является оптимальной модельной культурой для решения данной задачи благодаря высокой генетической изменчивости по содержанию антоцианов и каротиноидов, низкой калорийности плодов, широкой распространённости и экономической значимости как овощной культуры, наличию развитой геномной и транскриптомной базы данных, облегчающей поиск целевых локусов.

Однако традиционные методы селекции зачастую не позволяют эффективно комбинировать в одном генотипе высокий уровень биосинтеза антоцианов и каротиноидов с другими хозяйственно ценными признаками (урожайность, устойчивость к патогенам). В этой связи перспективным подходом выступает маркер-ассоциированная селекция (MAS), позволяющая проводить ранний отбор генотипов по ДНК-маркерам, сцепленным с генами биосинтеза целевых метаболитов; ускорять создание новых форм за счёт сокращения фенотипических оценок; эффективно пирамидировать аллели, контролирующие накопление антоцианов и каротиноидов, с аллелями, обеспечивающими высокую продуктивность и стрессоустойчивость.

Несмотря на накопленные данные о ключевых генах биосинтетических путей (например, MYB, bHLH, WD40 для антоцианов; PSY, LYC, CRTISO для каротиноидов), остаётся нерешённым ряд вопросов: взаимодействие регуляторных сетей, координирующих синтез антоцианов и каротиноидов; влияние эпистазных эффектов и плейотропии на накопление метаболитов; идентификация новых аллелей, способных усиливать биосинтез без ущерба для агрономических признаков.

Таким образом, исследование генетических основ маркер-ассоциированной селекции томата с повышенным содержанием антоцианов и каротиноидов актуально как с точки зрения фундаментальной науки (раскрытие механизмов регуляции вторичных метаболитов), так и с позиции прикладных задач (создание функционально обогащённых сортов,

отвечающих современным требованиям здорового питания и устойчивого сельского хозяйства).

В связи с вышеизложенным актуальность диссертационной работы Дрозд Е.В., посвященной изучению изменчивости генов, определяющих накопление антоцианов и каротиноидов в плодах томата, и разработке методики молекулярного маркирования ценных аллелей качества плодов для подбора исходного материала и создания высокопродуктивных гибридов томата с высоким содержанием антоцианов и каротина, не вызывает сомнений.

Степень новизны результатов диссертации и научных положений, выносимых на защиту

В процессе выполнения диссертационной работы были получены результаты, характеризующиеся научной новизной, что отражено в положениях, выносимых на защиту, а именно:

- выявлено наличие изменчивости в последовательностях генов *Ant1*, *An2*, *Atv*, позволившее разработать SCAR-маркеры для ДНК-типирования их аллелей (*Ant1.1-FAM*, *An2-AFT (OM)*, *An2-4*, *Atv2*, *Atv-Ins9*);
- установлено, что тесное сцепление и совместное наследование аллелей *Ant1* и *An2-Aft*, а также *ant1* и *Myb75* даёт возможность идентифицировать образцы томата с максимальным накоплением антоцианов;
- показано, что комбинация аллелей *Ant1/Ant1 // An2-Aft/An2-Aft // atv/atv* обеспечивает максимальное накопление антоцианов в вегетативных органах и кожице плодов;
- выявлено, что генотип *ant1/ant1 // Myb75/Myb75 // Atv/Atv* приводит к минимальному накоплению или отсутствию антоцианов в различных частях растения;
- установлено, что сочетание *Ant1/Ant1 // An2-Aft/An2-Aft // Atv/Atv* обуславливает слабое накопление антоцианов в вегетативных органах, но высокое – в плодах;
- показано, что характер наследования признаков «общее накопление антоцианов» и «общее накопление каротина» у гибридов F₁ включает неполное доминирование (44,7 % и 42,1 % соответственно) или доминирование в сторону уменьшения значения признака (39,5 % и 42,1 % соответственно);
- обнаружено, что новый аллель гена *Golden 2-like 2 – U-del52* обеспечивает более равномерное распределение пигментов в плодах по сравнению с нормальным аллелем *U* гена *GLK2*.
- доказано, что применение разработанных молекулярных маркеров позволяет целенаправленно подбирать родительские формы для получения гибридов F₁ с повышенным содержанием антоцианов и каротина.

- впервые определены молекулярные SCAR-маркеры к аллелю *U-del52* гена *GLK2*, позволяющие выявлять образцы томата с оптимальным характером накопления пигментов в плодах;
- в результате селекционных работ получены высокоурожайные гетерозисные гибриды томата (*Solanum lycopersicum* L.), адаптированные для культивирования в условиях закрытого грунта; гибрид «Спатканне» включён в Государственный реестр сортов сельскохозяйственных растений с 2025 года, что подтверждает его соответствие установленным агрономическим и селекционным стандартам.

Обоснованность и достоверность выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации, не вызывает сомнений и определяется следующим:

- исследования проведены на достаточном объёме экспериментального материала, включающего: 40 гибридных комбинаций; 29 линий родительских форм с различным фенотипическим проявлением признаков окраски вегетативных органов и плодов томата; а также образцы из коллекции Института генетики и цитологии НАН Беларуси;
- в экспериментах использованы современные методы исследования, широко применяемые в молекулярной генетике и селекции растений: методы молекулярно-генетического анализа (секвенирование по Сэнгеру, разработка ДНК-маркеров, ПЦР-анализ), методы биохимического анализа (высокоэффективная жидкостная хроматография, спектрофотометрия), методы статистической обработки данных (дисперсионный анализ, метод χ^2);
- проведён комплексный анализ биохимических и генетических показателей с оценкой характера наследования хозяйственно ценных признаков у гибридов;
- совокупность адекватных исследованию методов анализа, использование высокоточных современных приборов, статистическая обработка данных позволяет сделать заключение о корректности анализа результатов проведенного исследования и получения достоверных выводов.

Таким образом, достаточный объем экспериментального материала и объем проведенного исследования в совокупности с выбранными методами статистического анализа позволяют сделать заключение об обоснованности и достоверности выводов, сформулированных в диссертации.

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

Научная значимость результатов исследования заключается в следующем:

- получены новые фундаментальные знания о генетических механизмах накопления антоцианов и каротиноидов в плодах томата;
- выявлены и охарактеризованы новые аллельные варианты ключевых генов метаболизма пигментов, в результате чего созданы оригинальные молекулярные маркеры для идентификации ценных аллелей;
- установлены закономерности наследования и генетического контроля биосинтеза вторичных метаболитов.

Практическая значимость работы подтверждается:

- разработкой эффективных методов маркер-ассоциированной селекции томата по генам биосинтеза антоцианов и каротиноидов;
- созданием новых молекулярных маркеров для отбора форм с высоким содержанием антиоксидантов;
- выведением высокопродуктивного гибрида «Спатканне», включенного в Государственный реестр сортов сельскохозяйственных растений;
- разработкой методических рекомендаций по маркер-сопутствующему отбору томата.

Экономическая значимость определяется:

- созданием нового сорта томата с высоким содержанием антиоксидантов;
- снижением затрат на селекционный процесс благодаря использованию молекулярных маркеров;
- улучшением качества продукции и расширением ассортимента функциональных продуктов питания.

Социальная значимость работы состоит в:

- расширении базы знаний о генетических основах селекции овощных культур;
- внедрении результатов в учебный процесс (методические рекомендации);
- расширение спектра продуктов с повышенным содержанием антиоксидантов.

Рекомендации по использованию результатов в селекционной практике и научно-исследовательской деятельности:

- применять отобранные линии как исходный материал для создания новых сортов;
- применять разработанные методы маркер-ассоциированной селекции томата в практической работе;
- использовать коллекцию ДНК-образцов томата для дальнейших исследований;
- применять полученные данные при изучении генетики биосинтеза пигментов;
- применять результаты исследований при подготовке специалистов в области генетики и селекции.

Опубликованность результатов диссертации в научной печати

По материалам диссертации опубликовано 20 научных работ, в том числе 5 статей в журналах, входящих в перечень ВАК Республики Беларусь, 1 публикация в материалах конференций, 13 тезисов докладов, 1 методические рекомендации. Объем публикаций в соответствии с пунктом 19 «Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий в Республике Беларусь» составляет 3,9 авторских листа.

Соответствие оформления диссертации требованиям ВАК

Диссертация содержит введение, общую характеристику работы, основную часть (включающую анализ литературы, описание объектов и методов исследований, главы результатов экспериментальных исследований, их обсуждение), заключение, библиографический список, приложения. Работа изложена на 318 страницах, включает 38 таблиц и 42 рисунка. Библиографический список содержит 241 наименований использованных источников, а также 20 публикаций соискателя. В работе также имеются приложения, изложенные на 154 страницах.

Материал диссертации изложен логично и последовательно, проведен анализ всех полученных результатов, на основе которого сформулированы корректные выводы.

Замечания по диссертации

В то же время имеется несколько замечаний, не носящих принципиальный характер и не ставящих под сомнение полученные результаты, в частности:

- в некоторых экспериментах наблюдается небольшое количество повторностей (см. приложения), что может снижать статистическую значимость отдельных результатов;
- желателен более детальный анализ вариабельности отдельных биохимических показателей (оценка влияния различных факторов среды, мониторинг изменений в разные фазы развития растений);
- ограниченный набор родительских форм в некоторых схемах скрещивания для изучения отдельных генетических маркеров (таблица 2.3);
- неудачные выражения, пунктуационные ошибки (стр.50, стр.72, стр.87, стр.115, стр.130).

При этом все указанные замечания не ставят под сомнение основные выводы работы, которые подтверждаются совокупностью полученных данных и их статистической обработкой. Результаты исследования остаются достоверными и могут быть использованы в дальнейших научных и практических разработках.

В целом, оформление диссертации и автореферата соответствует требованиям Инструкции по оформлению диссертаций.

Соответствие научной квалификации соискателя ученой степени, на которую он претендует

Содержание диссертации и автореферата свидетельствуют о высоком профессиональном уровне соискателя. Актуальность и значимость полученных результатов фундаментальных исследований, прошедших апробацию на 12-ти международных научных конференциях, и их непосредственное использование на практике позволяют сделать заключение о соответствии квалификации Дрозд Е.В. ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.07 – молекулярная генетика.

Заключение

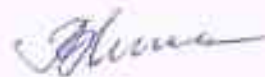
Диссертационная работа представляет собой завершенное научное исследование, оформленное в соответствии с требованиями, установленными главой 3 Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий в Республике Беларусь, предъявляемым к кандидатским диссертациям.

Соискатель Дрозд Е.В. достойна присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.07 – «молекулярная генетика (биологические науки)» за новые научно-обоснованные теоретические и экспериментальные результаты:

- разработку молекулярных маркеров для идентификации аллелей ключевых генов, контролирующих накопление антоцианов и каротиноидов в плодах томата (созданы эффективные SCAR-маркеры для генов *Ant1*, *An2*, *Atv* и *GLK2*, что позволило значительно повысить точность маркер-ассоциированной селекции);
- выявление новых генетических закономерностей, включая обнаружение ранее неизвестного аллеля *U-del52* гена *GLK2*, который влияет на характер распределения пигментов в плодах;
- создание нового селекционного материала с улучшенными биохимическими характеристиками (отобраны формы с оптимальным сочетанием аллелей, обеспечивающих максимальное накопление ценных метаболитов при сохранении высокой урожайности);
- теоретическое обоснование характера наследования признаков накопления антоцианов и каротиноидов, что позволило разработать эффективные стратегии подбора родительских форм для получения гибридов с заданными признаками;
- разработку методических рекомендаций по применению новых разработанных молекулярных маркеров, которые в настоящее время внедрены в селекционный процесс и образовательную практику;
- создание гибрида F_1 «Спатканне», включённого в Государственный реестр сортов сельскохозяйственных растений, который характеризуется высокой урожайностью (17,6 кг/м²) и повышенным содержанием ценных биохимических компонентов.

Отзыв предоставлен в Совет по защите диссертаций Д 01.31.01 при Государственном научном учреждении «Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси».

Зав. лабораторией
прикладной геномики
Института генетики и цитологии
НАН Беларуси, к.б.н., доцент



В.А. Лемеш

10.12.2025 г.



Лемеш В.А.
ЗАТВЕРДЖАЮ
Зав. лабораторией *Лемеш В.А.*
12 2025