

УТВЕРЖДАЮ:

Директор ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР)»,  
доктор биологических наук, профессор РАН,

Е.К. Хлесткина



2022 г.

### ОТЗЫВ

**Ведущей организации – Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР)» на диссертацию Козарь Елены Викторовны «Разработка технологии получения удвоенных гаплоидов редиса европейского (*Raphanus sativus* L.) в культуре изолированных микроспор *in vitro*» представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 4.1.2. Селекция, семеноводство и биотехнология растений, в диссертационный совет Д 220.043.01 на базе ФГБНУ «ФИЦ риса»**

**Актуальность исследований.** Редис является важной скороспелой корнеплодной культурой, широко возделываемой повсеместно в мире и в России в открытом и защищенном грунте, интерес к увеличению потребления которой продолжает расти. Для успешной селекционной работы по созданию продуктивных, устойчивых к биотическим и абиотическим стрессорам гетерозисных гибридов F1 необходимо использование широкого генетического разнообразия исходных родительских линий. Создание выровненных линий традиционным инбридингом – длительный и трудоемкий процесс. Разработка биотехнологических методов ускоренного создания принципиально нового, полностью гомозиготного исходного материала без летальных аллелей, но с проявлением действия ценных рецессивных аллелей, является актуальным направлением исследований. Ведущее место в селекционных программах большинства сельскохозяйственных культур является технология производства удвоенных гаплоидов путем андрогенеза, в т.ч. в культуре изолированных микроспор *in vitro*. Однако универсальных протоколов не существует, так как известны значительные различия в отзывчивости культур на удвоенную гаплоидизацию. В семействе Капустные встречаются как отзывчивые, так и не отзывчивые к ДН-технологиям культуры.

Редис является одной из самых сложных и неотзывчивых к ИМС технологии культур семейства Капустные. До настоящего времени не разработаны протоколы для получения удвоенных гаплоидов данной культуры и отсутствуют фундаментальные исследования по изучению этапов андрогенеза в условиях *in vitro*.

Таким образом, детальное изучение процесса андрогенеза и разработка ИМС технологии для создания линейного материала редиса, несомненно, является актуальной.

**Научная новизна.** В результате проделанной работы впервые изучены все этапы андрогенеза редиса в культуре изолированных микроспор *in vitro* и обнаружены новые паттерны формирования эмбриогенных структур. Впервые исследованы факторы, влияющие на отзывчивость к эмбриогенезу, проведены наблюдения за поведением культуры на всех этапах ИМС технологии и выявлены биологические особенности на этапе укоренения. Впервые подобраны оптимальные условия для индукции андрогенеза, регенерации эмбриоидов и дальнейшего органогенеза растений-регенерантов редиса.

Применен нестандартный подход к подбору питательных сред на этапах индукции эмбриогенеза и укоренения микропобегов редиса. Найдены оригинальные методические решения для повышения эффективности ИМС технологии редиса на этапах изоляции микроспор и индукции ризогенеза. Также в ходе выполнения диссертационной работы разработан первый протокол получения удвоенных гаплоидов редиса в культуре изолированных микроспор *in vitro* и получены ДН-линии этой культуры.

**Теоретическая и практическая значимость.** Теоретическая значимость заключается в том, что получены новые сведения о паттернах формирования эмбриогенных структур при андрогенезе редиса, что имеет общебиологическое значение в развитии теории эмбриогенеза. Практическая значимость заключается в том, что предложен оригинальный способ изоляции микроспор, повышающий эффективность ИМС технологии, и новый подход к повышению эффективности корнеобразования. Разработанная технология получения удвоенных гаплоидов редиса в культуре изолированных микроспор *in vitro* позволяет значительно ускорить создание исходного гомозиготного материала для применения в селекционных программах по сравнению с традиционными методами селекции. Полученные ДН-линии редиса являются ценным материалом для селекции и могут быть использованы в качестве объектов для генетических исследований.

**Достоверность результатов исследований** подтверждается достаточным объемом экспериментального материала, представленного в диссертационной работе и статьях,

квалифицированным аналитическим обзором научной литературы, обеспечена высоким адекватным уровнем теоретического и методического обоснования. Достоверность результатов исследований подтверждается математической и статистической обработкой данных. Все научные положения, выводы и рекомендации производству и селекционной практике, приведенные в диссертации, обоснованы.

**Апробация работы.** Полученные результаты исследований доложены на 10 международных и всероссийских конференциях различного уровня. По теме диссертации опубликовано 12 научных работ, в том числе в 2 изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ, 4 работы в рецензируемых журналах Scopus, Web of Science, 6 в сборниках докладов. Поданы три заявки на патенты на селекционные достижения ДН-линии редиса, заявка на патент на изобретение «Модифицированный метод изоляции микроспор в культуре микроспор *in vitro* для семейства *Brassicaceae*».

**Структура и объем диссертации.** Диссертационная работа построена по традиционному плану, изложена на 128 страницах, состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, основной части, включая результаты и обсуждения, заключения, рекомендаций по практическому применению результатов диссертационной работы и списка использованной литературы. Библиографический список содержит 166 источников, из них 154 работы на иностранных языках. Иллюстративный материал включает 8 таблиц, 32 рисунка.

Во введение автором обоснована актуальность изучаемой темы, четко сформулирована цель и поставлены задачи исследования. Полученный экспериментальный материал позволил соискателю обозначить степень научной новизны, а также грамотно сформулировать основные положения диссертации, выносимые на защиту.

В первой главе «Обзор литературы» представлен анализ и обобщение результатов ранее опубликованных исследований. Уделено внимание биологии редиса, вопросам значения и истории гаплоидных технологий, проблемам введения редиса в культуру *in vitro*. Описаны стадии формирования эмбриоидов, составы известных питательных сред.

Во второй главе «Материалы и методы» отражены условия, материал и методология исследований. Подробно изложены составы питательных сред и поэтапно технология получения удвоенных гаплоидов в культуре микроспор, включая оценку загрязненности, выхода эмбриоидов и влияние различных факторов на индукцию эмбриогенеза и регенерацию эмбриоидов, описаны различные техники укоренения микропобегов редиса и указаны методы определения ploидности растений-регенерантов. Анализ содержания и

структуры этого раздела позволяет дать высокую оценку научно-методического уровня проведения работ.

Глава 3 содержит результаты экспериментальных исследований, в которых описан ряд особенностей эмбриогенеза редиса, разработаны новые методические подходы с подбором критических факторов на разных этапах эмбриогенеза, регенерации эксплантов, ризогенеза *in vitro* и укоренения *in vivo*, разработан протокол получения удвоенных гаплоидов в культуре изолированных микроспор *in vitro* для редиса и впервые в мире получены ДН-линии этой культуры.

Заключение диссертации представлено конкретными выводами, сформулированными в логической последовательности по основным защищаемым положениям.

Автореферат в полной мере отражает основные результаты диссертационного исследования.

#### **Вопросы и замечания по диссертационной работе.**

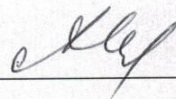
1. стр. 52 глава 3.1.4 выражение «урожайность эмбриоидов» не совсем корректна, не указано, в чем измеряется данный показатель.
2. Нет биометрических данных по полученным ДН-линиям редиса (Веня, Персей, Жегалов), поэтому сложно судить, какими селекционно ценными признаками обладают выделенные линии.
3. В тексте диссертации встречаются орфографические и пунктуационные ошибки.

**Заключение по диссертационной работе.** Перечисленные замечания не умаляют значения проведенной работы, научной и практической значимости полученных результатов.

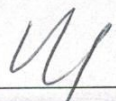
Таким образом, по объему выполненных исследований, методическому уровню, научной и практической значимости диссертационная работа «Разработка технологии получения удвоенных гаплоидов редиса европейского (*Raphanus sativus* L.) в культуре изолированных микроспор *in vitro*», представленная к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук, отвечает требованиям пунктов 9-11, 13, 14 Положения Правительства РФ от 24 сентября 2013 года № 482 «О порядке присуждения ученых степеней (с изменениями на 01 октября 2018 года), а ее автор Козарь Елена Викторовна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 4.1.2. Селекция, семеноводство и биотехнология растений.

Отзыв рассмотрен на заседании отдела генетических ресурсов овощных и бахчевых культур 22.11.2022, протокол № 10.

Артемьева Анна Майевна,  
кандидат сельскохозяйственных наук,  
ведущий научный сотрудник,  
исполняющая обязанности заведующего Отделом  
генетических ресурсов овощных и бахчевых культур,  
06.01.05 – селекция и семеноводство  
сельскохозяйственных растений

  
А.М.Артемьева

Курина Анастасия Борисовна,  
и.о. старшего научного сотрудника,  
исполняющий обязанности заведующего лаборатории  
Селекции и клеточных технологий отдела  
Генетических ресурсов овощных и бахчевых культур

  
А.Б. Курина

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР)»

190031, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42, 44

Тел: +7 (812) 312-51-61; Факс: +7 (812) 570-47-70


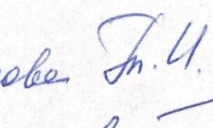
E-mail: [secretary@vir.nw.ru](mailto:secretary@vir.nw.ru)

E-mail: [akme11@yandex.ru](mailto:akme11@yandex.ru), [nastya\\_n11@mail.ru](mailto:nastya_n11@mail.ru)



Подпись Куриной А.Б.  
Артемьевой А.М.  
**УДОСТОВЕРЯЕТСЯ**  
Зав. канцелярией ВИР

25.11.2022

  
Ирина Курина  
  
Анна Артемьева  
2.12.22.