

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 006.041.02, СОЗДАННОГО
НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО
НАУЧНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ЦЕНТР ВСЕРОССИЙСКИЙ ИНСТИТУТ ГЕНЕТИЧЕСКИХ РЕСУРСОВ
РАСТЕНИЙ имени Н.И. ВАВИЛОВА» (ВИР) МИНИСТЕРСТВА НАУКИ И
ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ, ПО ДИССЕРТАЦИИ
НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 14 сентября 2022 г. № 10
о присуждении **Клименко Наталье Станиславовне**, гражданке Российской
Федерации, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Генетическое разнообразие сортов картофеля отечественной селекции, изученное с использованием различных типов ДНК-маркеров», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности: 03.02.07 – «Генетика» принята к защите 8 июля 2022 года, протокол № 8, диссертационным советом Д 006.041.02 на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова» (ВИР) Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (190031, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, д. 42, 44), приказ о создании №718/нк от 21 июня 2016 г.

Соискатель **Клименко Наталья Станиславовна**, 1 июля 1991 года рождения, в 2015 г. освоила с отличием основную образовательную программу высшего образования «Биология» Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Санкт-Петербургский государственный университет» (ФГБОУ ВО СПбГУ) с присвоением квалификации «Магистр». В 2019 г. окончила аспирантуру ВИР по направлению подготовки 06.06.01 «Биологические науки» с присвоением квалификации «Исследователь. Преподаватель-исследователь». Справка о сдаче кандидатских экзаменов по специальности 03.02.07 - «Генетика» выдана ВИР 28 июня 2022 г.

Диссертация выполнена в 2015-2021 гг. в отделе биотехнологии ВИР. В период подготовки диссертации **Клименко Н.С.** работала в отделе биотехнологии ВИР в должности лаборанта-исследователя, а с 2018 года по настоящее время в должности младшего научного сотрудника.

Научный руководитель – доктор биологических наук **Гавриленко Татьяна Андреевна**, главный научный сотрудник отдела биотехнологии ВИР.

Официальные оппоненты:

- доктор биологических наук **Проворов Николай Александрович**, директор Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии»;

- кандидат биологических наук **Баранова Ольга Александровна**, ведущий научный сотрудник лаборатории иммунитета растений к болезням Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений».

Ведущая организация – ФГБОУ ВО СПбГУ (Санкт-Петербург), в своем положительном отзыве, подписанном кандидатом биологических наук **Твороговой Варварой Евгеньевной**, старшим научным сотрудником кафедры генетики и биотехнологии, и утвержденном кандидатом физико-математических наук **Микушевым Сергеем Владимировичем**, проректором по научной работе ФГБОУ ВО СПбГУ, указала, что работа **Клименко Н.С.** отвечает требованиям пункта 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. №842, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – «Генетика».

Соискатель имеет 32 опубликованные работы, из них 10 по теме диссертации общим объемом 11,4 п.л., в том числе 6 в научных изданиях, которые рекомендованы ВАК и одновременно индексируются в международных базах цитирования, 4 в других журналах. В диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных соискателем ученой степени работах. В публикациях

изложены результаты исследований, выполненных при непосредственном участии автора.

Наиболее значительные научные работы по теме диссертации:

1. **Клименко, Н.С.** Маркер-опосредованная селекция отечественных сортов картофеля с маркерами генов устойчивости к золотистой картофельной нематодe (патотип Ro1) / **Н.С. Клименко**, О.Ю. Антонова, Л.И. Костина, Ф.Т. Мамадбокирова, Т.А. Гавриленко // Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. – 2017. – Т. 178, вып. 4. – С. 66–75.
2. **Клименко, Н.С.** Скрининг сортов картофеля (*Solanum tuberosum* L.) российской селекции с помощью маркеров R-генов устойчивости к Y-вирусу картофеля / **Н.С. Клименко**, О.Ю. Антонова, В.В. Желтова, Н.А. Фомина, Л.И. Костина, Ф.Т. Мамадбокирова, Т.А. Гавриленко // Сельскохозяйственная биология. – 2019. – Т. 54, вып. 5. – С. 958–969.
3. Antonova, O.Y. Finding *RB/Rpi-blb1/Rpi-sto1*-like sequences in conventionally bred potato varieties / O.Y. Antonova, **N.S. Klimenko**, Z.Z. Evdokimova, L.I. Kostina, T.A. Gavrilenko // Vavilov Journal of Genetics and Breeding. – 2018. – Vol. 22, N 6. – P. 693-702.
4. Гавриленко, Т.А. Молекулярный скрининг сортов и гибридов картофеля северо-западной зоны Российской Федерации / Т.А. Гавриленко, **Н.С. Клименко**, О.Ю. Антонова, В.А. Лебедева, З.З. Евдокимова, Н.М. Гаджиев, О.В. Апаликова, Н.В. Алпатьева, Л.И. Костина, Н.М. Зотеева, Ф.Т. Мамадбокирова, К.В. Егорова // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2018. – Т. 22, вып. 1. – С. 35–45.
5. Гавриленко, Т.А. Генетическое разнообразие сортов картофеля российской селекции и стран ближнего зарубежья по типам цитоплазм / Т.А. Гавриленко, **Н.С. Клименко**, Н.В. Алпатьева, Л.И. Костина, В.А. Лебедева, З.З. Евдокимова, О.В. Апаликова, Л.Ю. Новикова, О.Ю. Антонова // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2019. – Т. 23, вып. 6. – С. 753–764.
6. Gavrilenko, T.A. Phenotypic and DNA Marker-Assisted Characterization of Russian Potato Cultivars for Resistance to Potato Cyst Nematodes / T.A. Gavrilenko, A.V. Khiutti, **N.S. Klimenko**, O.Y. Antonova, N.A. Fomina, O.S. Afanasenko // Agronomy. – 2021. – № 11. – 2400. <https://doi.org/10.3390/agronomy11122400>.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обоснован их компетентностью в теме исследования и сделан с их согласия.

На диссертацию и автореферат поступило 20 отзывов, их прислали:

- к.б.н. **Абдуллаев Ренат Абдуллаевич**, с.н.с. отдела генетики ВИР;

-к.б.н. **Бузовкина Ирина Сергеевна**, ст. преподаватель каф. генетики и биотехнологии СПбГУ;

- из ФГБНУ Федерального исследовательского центра картофеля имени А.Г. Лорха (3 отзыва): - к.б.н. **Бирюкова Виктория Александровна**, зав. лаб. молекулярных методов анализа, - д.с.х.н. **Зейрук Владимир Николаевич**, гл.н.с., зав. лаб. защиты растений, - д.с.х.н. **Усков Александр Иринархович**, Г.н.с., зав. отделом биотехнологии и иммунодиагностики;

- д.с.х.н. **Васильев Александр Анатольевич**, гл.н.с. отдела картофелеводства, и.о. ученого секретаря Южно-Уральского НИИ садоводства и картофелеводства – филиала ФГБНУ Уральский федеральный аграрный НИЦ Уральского отделения РАН;

- из Института генетики и цитологии НАН Беларуси два отзыва –от к.б.н. **Воронкова Елена Васильевна**, в.н.с. лаб. генетики картофеля и **Ермишина Александра Петровича** д.б.н. профессора, зав. лаб. генетики картофеля;

- из Всероссийского НИИ защиты растений (2 отзыва): д.б.н. **Гультияева Елена Ивановна**, в.н.с. лаб. микологии и фитопатологии; и отзыв от к.б.н. **Лашина Нина Михайловна**, н.с. и д.б.н., проф., акад. РАН **Афанасенко Ольга Сильвестровна**, зав. лаб. иммунитета растений к болезням;

- д.б.н. **Долгих Елена Анатольевна**, зав. лаб. сигнальной регуляции ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии;

- к.с.х.н. **Ким Ирина Вячеславовна**, в.н.с. лаб. диагностики болезней картофеля ФНЦ агробiotехнологий Дальнего Востока имени А.К. Чайки;

- д.с.х.н., доцент **Козлов Виктор Алексеевич**, зав. лаб. генетики картофеля НПЦ НАН Беларуси по картофелеводству и плодоовощеводству;

- д.б.н., проф. **Кочиева Елена Зауровна**, г.н.с., зав. лаб. системной биологии растений ФИЦ Фундаментальные основы биотехнологии РАН;

- д.б.н. **Кулуев Булат Разяпович**, в.н.с. лаб. геномики растений Института биохимии и генетики – обособленного структурного подразделения ФГБНУ Уфимского ФИЦ РАН;

- д.б.н. **Леонова Ирина Николаевна**, ст.н.с. лаб молекулярной генетики и цитогенетики растений ФИЦ Института цитологии и генетики СОРАН;

- д.б.н. **Пасынкова Елена Николаевна**, директор Ленинградского НИИ сельского хозяйства «Белогорка»- филиала ФИЦ картофеля имени А.Г. Лорха;

- к.б.н. **Супрун Иван Иванович**, зав. функциональным научным центром Селекции и питомниководства ФГБНУ Северо-Кавказский НЦ садоводства, виноградарства, виноделия;

- к.б.н. **Чернов Владимир Евгеньевич**, с.н.с. Научно-исследовательского центра Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова;

- к.б.н., с.н.с. **Чунаев Александр Сергеевич**, учитель биологии средней общеобразовательной школы №91 Петроградского р-на С-Петербурга и к.б.н. **Болдиной Ольги Николаевны**, н.с. лаб. альгологии ФГБУН Ботанического институт имени В.Л. Комарова РАН.

Все отзывы положительные. В них указано, что автореферат диссертации отвечает требованиям ВАК, а ее автор достоин присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – «Генетика». Есть замечания.

У к.б.н. **Бирюковой Виктории Александровны** возник ряд замечаний:

1. В диссертационной работе характеристика сортов по фертильности и поиск среди них «эффективных опылителей» основывается на информации о типе цитоплазматического генома и лабораторном методе окраски пыльцы в ацетокармине. Хотя известно, что лабораторные методы оценки считаются косвенными и позволяют лишь приблизительно судить о возможностях использования сорта в качестве опылителя. Это, т.н. вспомогательные «экспресс-методы». В связи с этим считаю результаты об эффективности опылителей, приведенные в диссертационной работе, предварительными, не полностью отражающими представление о фертильности сортов. Более полную

характеристику сорта как опылителя позволяют получить только многолетние опыты по гибридизации картофеля.

2. Также в диссертационной работе Н.С. Клименко приводит устаревшие данные о «эффективных опылителях», ссылаясь на литературные источники 2008 года. Сорта «Смена» и «Приекульский ранний» уже давно не используются селекционерами в качестве опылителей.

3. Стерильность пыльцы, определяемая ацетокарминовым методом, зависит от агроклиматических условий и варьирует по годам. В автореферате не указано, являются ли данные о фертильности пыльцы, полученные ацетокарминовым методом, однолетними или многолетними исследованиями.

4. Не могу согласиться с третьим выводом в заключении. На сегодняшний день доля отечественных сортов с геном *H1* увеличивается, поскольку в качестве родительских форм при гибридизации используются зарубежные и отечественные нематодоустойчивые сорта картофеля. Поэтому отечественные сорта картофеля защищены от патотипа Ro1.

К.б.н. Бузовкина Ирина Сергеевна считает, что не хватает общего обсуждения по суммированию данных по всем изученным генам по всем сортам, возможно в виде таблицы, чтобы увидеть перспективные сорта для селекции по разным изученным признакам, обсудить их происхождение, и разные направления отбора по комплексу признаков в историческом и географическом аспектах.

К.б.н. Воронкова Елена Васильевна отмечает, что, хотя предложение автора использовать сорта с цитоплазмой типа W/гамма в скрещиваниях вполне обосновано и справедливо с той точки зрения, что они являются источниками ценнейших генов устойчивости к PVY, по нашему мнению, вовлечение их в скрещивания даже в качестве материнских компонентов чревато негативными последствиями. В итоге оно способно привести к значительному сужению генетической базы селекционного материала. Это негативное последствие уже отмечается зарубежными авторами на примере европейской активной коллекции сортов, используемых в селекции (Sanetomo, Gebhardt, 2015).

К.б.н., с.н.с. Чунаев Александр Сергеевич и к.б.н. Болдина Ольга Николаевна считают биологической ошибкой использование словосочетания «типы цитоплазм»

для классификации обнаруженных комбинаций маркеров органелльной (митохондриальной и хлоропластной ДНК); так как гены митохондрий и хлоропластов не определяют свойства окружающей их цитоплазмы, биогенез самих хлоропластов и митохондрий находится под кооперативным контролем генов ядра и органелл. Предлагают заменить словосочетание «типы цитоплазм» на «типы органелльных ДНК».

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

- **выявлена** положительная динамика в изменении частоты встречаемости отечественных сортов с генетическим материалом, интрогрессированным от мексиканских диких видов вторичного генпула и снижение частоты сортов с чилийским типом органелльной ДНК.

- **предложены:**

- подход по использованию комплекса ДНК-маркеров, специфичных к разным локусам геномов органелл, и маркеров ядерных генов устойчивости к фитопатогенам, интрогрессированных в селекционный генофонд в процессе межвидовой гибридизации, позволяющий расширить представления о генетическом разнообразии отечественных сортов картофеля;

- набор из пяти ДНК-маркеров, сцепленных с двумя локусами, контролирующими устойчивость к *Globodera pallida* (патотипу Pa3), для отбора генотипов устойчивых к этому виду цистообразующих нематод;

- **доказано** расширение генетического разнообразия генофонда отечественных сортов картофеля за последние 60 лет.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

- **выявлены** основные тенденции и динамика изменений генетического разнообразия генофонда отечественных сортов, происходящих в результате использования в селекционном процессе межвидовых гибридов с различными видами картофеля;

- применительно к проблематике диссертации результативно (эффективно, то есть с получением обладающих новизной результатов) **использован** комплекс базовых молекулярно-генетических методов и методы оформления номенклатурных стандартов;

- **выявлены** новые проблемы в использовании известных по литературе ДНК-маркеров для отбора генотипов, устойчивых к патотипу Pa3 *G. pallida* и к патотипу Ro5 *Globodera rostochiensis*;
- **изучено** генетическое разнообразие отечественных сортов картофеля, созданных в разное время, на основании данных об изменении частот разных типов органельных ДНК и частот встречаемости маркеров, ассоциированных с локусами, контролирующими устойчивость к различным вредным организмам;
- **проведена** модернизация существующего метода регистрации в гербарной коллекции номенклатурных стандартов сортов – растительный материал, использованный для гербаризации, параллельно используется для молекулярно-генетической паспортизации.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:

- **созданы** номенклатурные стандарты и разработаны молекулярно-генетические паспорта сортов картофеля селекции Ленинградского НИИСХ «Белогорка», которые используются для проверки идентичности и однородности образцов этих сортов, полученных из разных источников.
- **определены** генотипы с маркерами генов, контролирующих устойчивость к цистообразующим нематодам, вирусу Y картофеля, фитофторозу, перспективные для использования в селекционном процессе.
- **представлена** информация о наличии у ряда отечественных сортов W/gamma типа цитоплазмы, обуславливающего тетрадную стерильность пыльцы, что позволит селекционерам выбирать эффективные направления скрещиваний, используя данные сорта только в качестве материнских форм.

Оценка достоверности результатов исследования выявила, что:

- **достоверность результатов** подтверждена необходимым объемом молекулярно-генетических исследований, выполненных как минимум в трех независимых повторностях, в большинстве случаев - на нескольких независимо выделенных препаратах ДНК сорта, и статистической обработкой полученных результатов;
- **использованы** методы статистической обработки данных с помощью точного критерия Фишера, поправки Бонферрони, коэффициента корреляции Пирсона.

- **идея** работы базируется на обобщении зарубежных и отечественных исследований генетического разнообразия сортов, сохраняемых в различных коллекциях, и использованию ДНК-маркеров в селекционно-генетических исследованиях;
- **сравнивались** авторские результаты молекулярного скрининга отечественных сортов с ранее опубликованными в литературе данными.
- **установлено совпадение** авторских результатов о тетрадной стерильности отечественных сортов и гибридов с W/gamma типом цитоплазмы с литературными данными, полученными для зарубежных сортов; фактическое отсутствие в генофонде отечественных сортов генотипов с А- и Р- типами цитоплазм андийских культурных видов, что было показано и для генофонда европейских сортов.

Личный вклад соискателя состоит в проведении исследований по молекулярному скринингу сортов с маркерами генов устойчивости, интрогрессированных в селекционный генофонд от диких мексиканских видов; с маркерами локусов, контролирующими устойчивость к бледной цистообразующей картофельной нематоды, и в создании генетических паспортов сортов; автор также непосредственно участвовал в молекулярно-генетических исследованиях, проведенных с ДНК-маркерами разных локусов органельных ДНК и с маркерами генов, контролирующими устойчивость к золотистой цистообразующей картофельной нематоды; в создании номенклатурных стандартов сортов и в подготовке основных публикаций по выполненной диссертационной работе.

Уникальность текста автореферата 93% (AntiPlagiarism.NET).

В ходе защиты диссертации были высказаны критические замечания. Соискатель **Клименко Н.С.** ответила на задаваемые ей в ходе заседания вопросы и привела собственную аргументацию.

На заседании 14 сентября 2022 года диссертационный совет принял решение за исследование генетического разнообразия сортов картофеля отечественной селекции присудить **Клименко Н.С.** ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 15 человек, из них 8 докторов наук по специальности 03.02.07-«Генетика»

(биологические науки), участвовавших в заседании, из 22 человек, входящих в состав совета, проголосовали: «за» 15 человек, «против» 0, недействительных бюллетеней 0.

Председатель

диссертационного совета, д.б.н.

Лоскутов Игорь Градиславович

Ученый секретарь

диссертационного совета, д.б.н.

Рогозина Елена Вячеславовна

Зам. директора ВИР

по научно-организационной работе, к.б.н.

Ухатова Юлия Васильевна



«15» сентября 2022 г.