

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 35.2.030.08,  
СОЗДАННОГО НА БАЗЕ ФГБОУ ВО «РОССИЙСКИЙ  
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ – МСХА ИМЕНИ  
К.А. ТИМИРЯЗЕВА» (МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА  
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ) ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ  
УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело № \_\_\_\_\_  
решение диссертационного совета от 28.06.2023 № 1

О присуждении Сеницыной Анастасии Александровне, гражданке Российской Федерации, степени кандидата сельскохозяйственных наук.

Диссертация «Усовершенствование методики получения удвоенных гаплоидов в культуре изолированных микроспор растений рода *Brassica* L.» принята к защите по специальности 4.1.2. Селекция, семеноводство и биотехнология растений (сельскохозяйственные науки) 28.04.2023 (протокол заседания №16) диссертационным советом 35.2.030.08, созданным на базе ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева» Министерства сельского хозяйства Российской Федерации, 127434, г. Москва, ул. Тимирязевская, д. 49, (приказ Министерства науки и высшего образования Российской Федерации о создании совета № 484/нк от 22.03.2023).

Соискатель Сеницына Анастасия Александровна 06 декабря 1994 года рождения. В 2018 году соискатель окончила магистратуру ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, диплом № 1077181053798, по направлению подготовки 35.04.05 – Садоводство.

В 2022 году соискатель окончила ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева», диплом № 1077181294025, по направлению подготовки 35.06.01 – Сельское хозяйство с присвоением квалификации «Исследователь. Преподаватель-исследователь».

В настоящее время работает младшим научным сотрудником в ООО «Селекционная станция имени Н.Н. Тимофеева», ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева».

Диссертация выполнена на кафедре ботаники, селекции и семеноводства садовых растений ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева».

**Научный руководитель** – Монахос Сократ Григорьевич, гражданин Российской Федерации, доктор сельскохозяйственных наук (06.01.05 – Селекция и семеноводство сельскохозяйственных растений), профессор, заведующий кафедрой ботаники, селекции и семеноводства садовых растений ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева», Министерство сельского хозяйства Российской Федерации.

**Официальные оппоненты:**

1. **Домблидес Артур Сергеевич**, гражданин Российской Федерации, доктор сельскохозяйственных наук (06.01.05 – Селекция и семеноводство сельскохозяйственных растений), заведующий лабораторией генетики и цитологии Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный научный центр овощеводства» (143080, Московская область, Одинцовский район, п. ВНИИССОК, улица Селекционная, 14), Министерство науки и высшего образования Российской Федерации;

2. **Мухина Жанна Михайловна**, гражданин Российской Федерации, доктор биологических наук (06.01.05 – Селекция и семеноводство сельскохозяйственных растений), главный научный сотрудник лаборатории биотехнологии и молекулярной биологии, советник директора по инновациям и координации НИР Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный научный центр риса» (350921, г. Краснодар, пос. Белозерный, дом 3), Министерство науки и высшего образования Российской Федерации, дали положительные отзывы на диссертацию.

**Ведущая организация** Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии (ФГБНУ ВНИИСБ)», Министерство науки и высшего образования Российской Федерации. (127550, Москва, Россия, ул. Тимирязевская, 42), в своем положительном отзыве, подписанном Дивашуком Михаилом Георгиевичем, кандидатом биологических наук (03.00.15 – Генетика), заведующим лабораторией прикладной геномики и частной селекции сельскохозяйственных растений, утвержденном Карловым Геннадием Ильичем, доктором биологических наук (03.01.06 – Биотехнология), профессором РАН, директором ФГБНУ ВНИИСБ указала, что, в целом диссертационная работа «Усовершенствование методики получения удвоенных гаплоидов в культуре изолированных микроспор растений рода *Brassica* L.» Сеницыной Анастасии Александровны по актуальности, практической значимости, объему проведенных исследований, научной новизне может быть признана отвечающей требованиям ВАК РФ, предъявляемым к кандидатским диссертациям, и соответствует п. 9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», а ее автор Сеницына Анастасия Александровна заслуживает присуждения ученой степени кандидата сельскохозяйственных наук по специальности 4.1.2. – Селекция, семеноводство и биотехнология растений (сельскохозяйственные науки).

Соискатель имеет 6 опубликованных работ, в том числе 5 научных работ по теме диссертации, из них 2 в рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ (1,8 п.л., из них автору принадлежит 1,44 п.л., 80% авторский вклад), 2 статьи в сборниках докладов и тезисов, 1 патент.

Работы в изданиях, рекомендуемых ВАК РФ:

1. Сеницына, А.А. Влияние условий культивирования на частоту прорастания/регенерации микроспорогенных эмбриоидов *Brassica oleracea* L. Effect of cultivation conditions on the germination/regeneration frequency of microsporogenic embryos *Brassica oleracea* L. / А.А. Сеницына, А.В.

Вишнякова, А.А. Александрова, С.Г. Монахос // Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии Izvestiya of Timiryazev Agricultural Academy: Научно-теоретический журнал Российского государственного аграрного университета - МСХА имени К.А. Тимирязева. – 2021. – № 5. – С. 39-55.

2. Сеницына, А.А. Сравнительная оценка выхода удвоенных гаплоидов *Brassica oleracea* var. *capitata* L. и *Brassica napus* L. в культуре изолированных микроспор / А.А.Сеницына, А.В. Вишнякова, С.Г. Монахос// Картофель и овощи. – 2022. – №4. – С. 13-16.

Недостовверных сведений об опубликованных соискателем ученой степени работах, в которых изложены основные научные результаты диссертации, и заимствованных материалах или отдельных результатах без указания источника получено не было.

На автореферат диссертации Сеницыной А.А. поступило 7 отзывов, все отзывы положительные. В поступивших отзывах отмечена актуальность, научная новизна, высокая теоретическая и практическая значимость полученных результатов, обоснованность и достоверность научных положений, выводов. В некоторых имеются замечания, которые носят уточняющий, дискуссионный или рекомендательный характер.

Отзывы прислали:

1. **Артемьева Анна Майевна**, кандидат сельскохозяйственных наук, ведущий научный сотрудник, зав. отдела генетических ресурсов овощных и бахчевых культур и **Курина Анастасия Борисовна**, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, зав.лаборатории селекции и клеточных технологий федерального государственного бюджетного научного учреждения «федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова» (ВИР). Отзыв без замечаний.

2. **Бондарева Людмила Леонидовна**, доктор сельскохозяйственных наук, заведующая лабораторией селекции и семеноводства капустных культур ФГБНУ ФНЦО. Отзыв без замечаний.

**3. Горлова Людмила Анатольевна**, кандидат биологических наук, заведующая отделом селекции рапса и горчицы ФГБНУ ФНЦ ВНИИМК. Отзыв содержит 3 замечания уточняющего и рекомендательного характера:

- 1) В подразделе «Растительный материал» на странице 8 сказано, что в качестве растений-доноров микроспор использованы 82 образца растений рода *Brassica*, включая 5 образцов *B. napus* L., и разновидности *B. oleracea* L.: 56 образцов капусты белокочанной (*B. oleracea* var. *capitata* L.); 4 образца капусты кольраби (*B. oleracea* var. *gongylodes* L.); 12 образцов капусты брокколи (*B. oleracea* var. *italica* Plenck); 5 образцов капусты листовой (*B. oleracea* var. *acephala* DC.), однако в материалах автореферата говорится всего лишь о 4 образцах *B. napus* L.; 15 образцах капусты белокочанной (*B. oleracea* var. *capitata* L.); 1 образце капусты кольраби (*B. oleracea* var. *gongylodes* L.); 3 образцах капусты листовой (*B. oleracea* var. *acephala* DC.);
- 2) На рисунке 2 не показан вариант влияния цефотаксима в норме 100 мг/л, который описан в материалах и методах исследования;
- 3) Рисунки подписаны не по ГОСТу, причем подписей на самих рисунках, как правило, не видно, разновидность исследуемых образцов *B. oleracea* L. не указывается.

**4. Гучетль Саида Заурбиевна**, кандидат биологических наук, заведующая лабораторией молекулярно-генетических исследований отдела биологических исследований ФГБНУ ФНЦ ВНИИМК. Отзыв содержит 1 замечание уточняющего характера: 1) Автор в тексте автореферата и в выводах упоминает о значимости (или отсутствии значимости) различий данных, полученных в ходе проведения экспериментов, но не приводит ни табличных данных полученных результатов, ни НСР, которая подтвердила бы эти утверждения.

**5. Королева Светлана Викторовна**, кандидат сельскохозяйственных наук, заведующая отделом овощекартофелеводства, ведущий научный сотрудник ФГБНУ ФНЦ риса. Отзыв без замечаний.

6. **Костенко Галина Александровна**, кандидат сельскохозяйственных наук, ведущий научный сотрудник группы селекции капустных культур ВНИИО — филиал ФГБНУ ФНЦО. Отзыв без замечаний.

7. **Шумилина Дарья Владимировна**, кандидат биологических наук, генеральный директор ООО Селекционная компания «Астра». Отзыв содержит 2 замечания рекомендательного и дискуссионного характера: 1) Инкубирование микроспор при повышенных температурах проводилось в центрифужных пробирках. Микроспоры в растворах, используемых в работе, в процессе инкубации опускались на дно, аэрация раствора могла быть нарушена, если данная стрессовая обработка не проводилась на шейкере. Рекомендуется в следующей работе проводить инкубацию в чашках Петри или на шейкере; 2) В автореферате нет данных о соотношении выхода удвоенных гаплоидов и гаплоидов в результате применения того или иного изменения в протоколе, эти данные были бы интересны для изучения. Поскольку, имеются свидетельства, что при прямом прорастании эмбриоидов частота выхода удвоенных гаплоидов может снижаться.

В ходе защиты соискатель дала развернутые ответы на замечания.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается их высокой квалификацией и компетентностью в данной области знаний, большим количеством научных исследований и рядом публикаций по тематике исследований диссертационной работы:

[old.timacad.ru/catalog/disser/kd/sinitsina/sv\\_opponent.pdf](http://old.timacad.ru/catalog/disser/kd/sinitsina/sv_opponent.pdf)

[old.timacad.ru/catalog/disser/kd/sinitsina/sv\\_ved\\_org.pdf](http://old.timacad.ru/catalog/disser/kd/sinitsina/sv_ved_org.pdf)

Направления научных исследований **Домблидеса Артура Сергеевича** – теоретические и методические вопросы селекции с изучением генетических и цитоэмбриологических особенностей овощных растений. Является ведущим ученым по ДНК идентификации видов и сортов овощных растений и разработке биотехнологических методов, направленных на ускорение селекционного процесса овощных культур.

Направления научных исследований **Мухиной Жанны Михайловны** – технологии ускоренной селекции масличных и овощных культур на основе ДНК- генотипирования, молекулярного фенотипирования. Является ведущим ученым в области оптимизации технологической схемы получения удвоенных гаплоидов капусты белокочанной.

**Ведущая организация – Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии (ФГБНУ ВНИИСБ)», структурное подразделение – лаборатория прикладной геномики и частной селекции сельскохозяйственных растений.** Работа лаборатории ведётся в направлении как фундаментальной эволюционной геномики растений, так в направлении разработки и совершенствования инструментов для прикладной селекции сельскохозяйственных культур. Результаты научных исследований лаборатории регулярно публикуются в различных изданиях.

**Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:**

**Предложены** способы усовершенствования технологии культуры изолированных микроспор, позволяющие повысить частоту эмбриогенеза, микроспор, прямого прорастания эмбриоидов, формирования проростков и удвоения хромосомных наборов у отдельных генотипов капустных культур.

**Доказано,** что использование 13% раствора сахарозы (рН 5,8) вместо среды В5 (130 г/л сахарозы, 50 г/л маннитола, рН 5,8) на этапе изоляции и очистки микроспор и вместо среды NLN-13 (рН 5,8) на этапе теплового шока не снижает частоту эмбриогенеза в культуре изолированных микроспор *B. oleracea* L.

**Доказано,** что обработка микроспорогенных эмбриоидов *Brassica oleracea* var. *gongylodes* L. низкой положительной температурой (5<sup>0</sup>С) в течение 3-9 дней стимулирует их прямое прорастание.

**Доказано** что антиоксиданты поддерживают жизнеспособность микроспор *B. oleracea* L. на питательной среде и, как следствие, существенно повышают частоту эмбриогенеза в культуре изолированных микроспор.

**Теоретическая значимость исследований обоснована тем**, что проведенный анализ эмбриогенной отзывчивости гомозиготных (ЛУГ, инбредные линии) и гетерозиготных генотипов (F1-гибриды, линии высокой степени гетерозиготности) капусты белокочанной показал, что соотношение высоко и средне отзывчивых к низко и неотзывчивым одинаково для гомозиготных 27,3/72,7% и гетерозиготных 24,5/75,5% образцов. Установлена высокая положительная связь ( $r = 0,87$ ) числа морфологически зрелых эмбриоидов с числом эмбриоидов, прорастающих прямым путем. Показано, что инкубирование микроспор в растворе мальтозы или маннитола полностью ингибируют эмбриогенез микроспор; раствор сахарозы увеличивает частоту эмбриогенеза и конечный выход удвоенных гаплоидов рапса, не оказывает значимого влияния на частоту эмбриогенеза и конечный выход УГ капусты белокочанной. Показано, что инкубирование изолированных микроспор в среде с путресцином при тепловом шоке не влияет на эмбриогенез микроспор и образование проростков из эмбриоидов рапса, однако стимулирует образование эмбриоидов и растений-регенерантов неотзывчивого к эмбриогенезу генотипа капусты белокочанной.

**Значение полученных соискателем результатов исследований для практики подтверждаются тем**, что использование раствора сахарозы (130 г/л) на этапе изоляции, очистки и инкубирования микроспор 48 ч. при 32,5<sup>0</sup>С позволяет снизить трудоемкость и стоимость этих этапов, при этом не влияя на частоты эмбриогенеза, частоты образования проростков, частоты спонтанной диплоидизации образцов *B. oleracea* L. Установлено, что воздействие температуры 5<sup>0</sup>С на эмбриоиды кольраби после их пересадки на твердую питательную среду увеличивает частоту прямого прорастания в 2 раза и частоту образования проростков из эмбриоидов до 94,4-97,2%. Показано, что антиоксиданты (аскорбат натрия, глутатион) поддерживают



уровень жизнеспособности микроспор и повышают (в 1,7 раза) частоту эмбриогенеза отзывчивых и способствуют эмбриогенезу неотзывчивых генотипов *B.oleracea*. Установлено, что инкубирование изолированных микроспор в питательной среде с цефотаксимом (50 мг/л) на этапе теплового шока (24-48 ч.) стимулирует эмбриогенез неотзывчивого генотипа *B.oleracea* var. *capitata* L. и существенно (в 3-7 раз) повышает частоту эмбриогенеза, частоту образования проростков (до 91,7%) и частоту прямого прорастания эмбриоидов (до 60%) *B. napus* L.

**Оценка достоверности результатов исследований выявила, что:**

**для экспериментальных работ использовано сертифицированное оборудование,** прослеживается высокая воспроизводимость результатов исследований, проведенных на современном методическом уровне с использованием статистических методов анализа экспериментальных данных. Данные первичной документации отвечают требованиям, предъявляемым к регистрации научных результатов, и соответствуют содержанию предоставленной научной работы;

**теория построена** на основе анализа и рассмотрения достаточного количества источников научной литературы, достоверных, проверяемых данных и согласуется с опубликованными результатами по теме диссертации;

**идея базируется** на данных ранее проведенных научных исследований и возможности интеграции современных биотехнологических методов в практический селекционный процесс;

**установлено** отсутствие противоречий результатов с данными, представленными в независимых источниках по данной тематике, и являются их логическим продолжением и новым дополнением;

**использованы** современные методики сбора и обработки исходной информации, актуальные методы анализа результатов.

**Личный вклад соискателя состоит** в непосредственном участии и постановке опыта, формулировании цели и задач исследования, обсуждении

полученных данных и формулировании выводов, в личном участии в апробации результатов работы на научных конференциях. Эксперименты и статистическая обработка данных выполнены автором лично.

В диссертации приведены научные положения, выносимые на защиту, выполненная работа соответствует критерию внутреннего единства, что подтверждается строгим соблюдением решаемых задач и поставленной цели.

Диссертационный совет пришел к выводу о том, что в диссертации:

- соблюдены критерии, установленные Положением о присуждении ученых степеней, которым должна отвечать диссертация, представленная на соискание ученой степени кандидата наук;

- отсутствуют недостоверные данные в диссертации и опубликованных работах, отражающих основные положения и научные результаты диссертации;

- решения, предложенные автором, аргументированы и оценены в сравнении с другими известными решениями;

- Автор ссылается на источники заимствования отдельных результатов, теоретических и практических материалов.

В ходе защиты диссертации критических замечаний высказано не было. Соискатель Сеницына Анастасия Александровна ответила на задаваемые ей в ходе заседания вопросы.

На заседании 28 июня 2023 года диссертационный совет принял решение: за разработку и усовершенствование элементов технологии создания удвоенных гаплоидов растений рода *Brassica* L. в культуре изолированных микроспор присудить Сеницыной Анастасии Александровне ученую степень кандидата сельскохозяйственных наук по специальности 4.1.2. Селекция, семеноводство и биотехнология растений (сельскохозяйственные науки).

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 11 человек, из них 5 докторов наук по специальности 4.1.2. Селекция, семеноводство и биотехнология растений (сельскохозяйственные

науки), участвовавших в заседании, из 11 человек, проголосовали: за 11, против нет, недействительных бюллетеней нет.

Заместитель председателя

диссертационного совета 35.2.030.08  
доктор биологических наук, профессор

Пыльнев  
Владимир Валентинович

Ученый секретарь

диссертационного совета 35.2.030.08  
доктор сельскохозяйственных наук, доцент

Вертикова  
Елена Александровна

«28» июня 2023 г.