ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу Аль-Дейени Муаяда Насеира Муслима по теме: «Оптимизация питательной среды для ускоренного размножения ценных линий баклажана *in vitro*», представленной на соискание ученой степени кандидата сельскохозяйственных наук по специальности 06.01.05 – селекция и семеноводство сельскохозяйственных растений.

Актуальность темы исследований. Расширение сортимента и создание нового генофонда баклажана путем ускоренного размножения ценных линий баклажана *in vitro* является актуальным направлением.

Диссертация А.М. Аль-Дейени направлена на изучение биотехнологических методов для повышения устойчивости растений баклажана и ускоренного их размножения с минимальными затратами. Особенно важным является поиск более надежных критериев оценки и методов отбора в культуре тканей и подбор оптимальных питательных сред для размножения.

Актуальность избранной диссертантом темы не вызывает сомнений, так как, проблема ускоренного размножения ценных селекционных генотипов баклажана является основной на пути к обеспечению населения качественной и здоровой пищей.

Научная новизна и практическая значимость работы. Впервые усовершенствован способ ускоренного размножения ценных линий овощных растений семейства *Solanaceae* L. в культуре *in vitro*, который заключается в разработке эффективной регенерационной системы для индукции каллусогенеза и морфогенеза эксплантатов баклажана, за счет усовершенствования питательной среды, что обеспечивает максимальный коэффициент размножения и регенерацию растений в культуре *in vitro*.

В результате проведенных исследований разработаны методические рекомендации по клеточной технологии создания и размножения исходного

селекционного материала баклажана в культуре *in vitro*, для ускорения селекционного процесса, а также внедрение в учебный процесс Белгородского государственного университета им. В.Я. Горина и других учебных заведений.

Автором в соавторстве создан сорт баклажана Снежная Лавина, который был размножен по разработанной автором методике.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации, их достоверность.

Достоверность научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в работе, подтверждена экспериментальными исследованиями, выполненными с применением современных приборов и методов анализа, пакетов прикладных программ, разработанными и утвержденными нормативными документами.

Апробация работы. Результаты исследований апробированы на: Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посвященный 140-летию НИУ БелГУ и 100-летию со дня рождения селекционера, ученого и педагога, доктора с.-х. наук, профессора Щелоковой Зои Ивановны (Белгород, 24-26 ноября 2016 года), Международной научно-технической конференции «Биотехнология, генетика, селекция в лесном и сельском хозяйстве, мониторинг экосистем» (Воронеж, 21-22 июня 2017). Международной научно-практической конференции «Современные проблемы адаптации (Жученковские чтения IV)», Белгород, 24–26 сентября 2018 г.; XVII Международной научно-практической конференции: Фундаментальные и прикладные научные исследования: Актуальные вопросы, достижения и инновации (г. Пенза,15 ноября 2018), XXIII международной научно-производственной конференции «Инновационные решения в аграрной науке - взгляд в будущее» (Белгород, 2019г.).

Публикации. По результатам диссертации опубликовано 10 печатных работ, в том числе – 2 статьи в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК РФ, 2 статьи в зарубежных журналах, входящих в базу Scopus.

Личный вклад автора в работу. Автор принимал участие в планировании эксперимента, постановке целей и задач исследований. Самостоятельно проводил лабораторные исследования, анализ и обобщение полученных данных. Доля личного участия в выполнении работы и написании статей – 80 %.

Основное содержание работы.

Диссертационная работа изложена на 134 страницах компьютерного текста, включает 21 таблицу, 10 рисунков. Состоит из введения, списка сокращений, 6 глав, заключения, рекомендаций, списка использованной литературы, приложения. Библиографический список содержит 252 источника, из них165 на иностранном языке.

Во **введении** дается описание актуальности темы исследований, научной новизны работы, практической ценности полученных результатов, положений, выносимых на защиту, а также апробация выполненной работы, объем и структура работы, информация о публикациях результатов.

В первой главе диссертантом рассмотрены создание источников устойчивости к биотическим факторам методами клеточной селекции, биотехнологические способы создания селекционного материала, применение молекулярных ДНК-маркеров в селекции, клеточные технологий в культуре *in vitro* для ускорения селекции и семеноводства сортов и гибридов, микроклональное размножение, питательные среды, баклажан, как объект *in vitro*. Автор делает выводы, что для баклажана наиболее эффективной технологией является культура изолированных клеток и тканей, благодаря высокой регенерационной способности различных эксплантатов баклажана и доступности ее методов, клеточная селекция, культура изолированных зародышей, микроклональное размножение. Благодаря привлечению современных биотехнологических методов, возможно,

осуществить ускорение традиционной селекции, в частности при решении ключевых вопросов обеспечения селекционного процесса перспективным исходным материалом, способным повысить конкурентоспособность новых генотипов национальной селекции.

Во второй главе представлены методы исследований, которые были направлены на разработку биотехнологического метода размножения селекционного материала баклажана, подбор условий стерилизации баклажана для микроклонального размножения, оптимизацию состава питательной среды при микроклональном размножении.

В третьей главе соискателем показан подбор стерилизующего вещества и режима стерилизации. В результате проведенных опытов наилучший эффект был получен при использовании 2,6 % раствора гипохлорита натрия с экспозицией 15 минут, что позволило получить 69,5 % жизнеспособных эксплантов. При использовании гипохлорита натрия (1,7 % раствора) наиболее эффективной получилась обработка в течение 25 мин, что позволило получить 27,6% жизнеспособных стерильных эксплантов, что немного больше, чем в контрольном варианте (экспозиция 15 мин). Обработка растворами с концентрацией гипохлорита натрия меньше 1,7 % при любой продолжительности экспозиции была не эффективной, так как при культивации практически все экспланты погибли от инфекции. Поэтому такие концентрации режима стерилизации не стоит использовать на культуре баклажана.

Автор делает вывод, что оптимальным режимом является режим с использованием в качестве стерилизатора гипохлорита натрия в концентрации 2,6 % с продолжительностью экспозиции 15 мин, который позволяет получить до 69,5 % жизнеспособных эксплантов.

В четвертой главе приведены результаты многолетней работы по оптимизация состава питательных сред для клонального микроразмножения культуры баклажана. При оценке влияния испытуемых температурных режимов культивирования (фактор В) на инициацию прорастания семян

различных сортовых генотипов баклажана (фактор А) выявлена статистическая значимость всех факторов, а также влияние их взаимодействия на конечный признак-инициацию прорастания семян. При этом сила влияния взаимодействия факторов (фактор АВ) оказалась наибольшей – 74%.

Установлено, что наиболее подходящей для роста и развития линий баклажана в условиях *in vitro* является питательная среда обогащенная 0,5 мг/л Мивал-агро или 6-бензиламинопурина, на которой получен максимальный процент проросших семян, достоверно выше, чем на без гормональной среде MS. Питательные среды «MS+0,5 мг/л 6-БАП» и «MS+0,5 мг/л Мивал-агро» обеспечили надежную индукцию каллусогенеза от 61,1% до 85,7 % и являются наиболее эффективными для микроклонирования.

В пятой главе приводится результаты исследований по определению условий адаптации растений-регенерантов баклажана к условиям *in vivo*.

Установлено, что для обеспечения 99-100 % приживаемости пробирочных растений баклажана при первичной адаптации следует применять торфяную смесь, состоящую из азота (N) – общего – 150 мг/л; фосфора (P2O5) – 150 мг/л; калия (K2O) – 250 мг/л; магния (Mg) – 30 мг/л; кальция (Ca) – 120 мг/л. + микроэлементов. Смесь должна содержать не менее 20 % перлита. В течение адаптации поддерживать влажность воздуха на уровне 75-80 % и проводить некорневую подкормку растений питательным раствором. Данный прием способствует быстрому нарастанию вегетативной массы у пробирочных растений и формированию хорошо развитой корневой системы.

Автором в результате проведенных исследований разработана эффективная технология регенерационной системы для проведения клеточной селекции баклажана, которая включает использование как первичных эксплантатов семядолей семидневных проростков баклажана, сбалансированное по составу питательной среды MS для индукции

каллусогенезу и образования растений-регенерантов, первичную адаптацию пробирочных растений к нестерильным условиям и оптимальные субстраты для высадки адаптированных пробирочных растений в теплицу.

В шестой главе соискателем рассчитана экономическая эффективность биотехнологических методов при создании и использовании нового сорта баклажана.

В результате исследований показано, что возможность осуществлять манипуляции с растительными тканями и клетками в культуре *in vitro*, без влияния сезонности, обеспечивает возможностью оценивать в лабораторных условиях большие объемы селекционного материала и ускоряет продолжительность отбора ценных генотипов в 2-3 раза.

Уровень рентабельности при выращивании, созданной с использованием биотехнологических методов, новой линии баклажана Снежная лавина составил 468%. В исследованиях по выращиванию новой линии баклажана, полученной с помощью методов клеточной селекции, расчет экономической эффективности позволил автору сделать вывод о целесообразности её выращивания.

Общие замечания и пожелания к работе.

1. В Главе 1 не приведены литературные данные о современных достижениях в области селекции баклажана. Необходимо представить данные о созданных в России сортах и гибридах и использовании этих сортов в промышленном производстве.

2. В описании методики исследований автор не приводит схему опыта по изучению влияния температурных условий на культивирование баклажана в культуре *in vitro*.

3. В таблице 5 (стр. 52) указано наличие инфекции после стерилизации эксплантов гипохлоритом натрия 1% (экспозиция 15, 25 минут). При этом отсутствует описание инфекции (грибная и/или бактериальная), что крайне важно для отработки эффективной методики стерилизации и реакции того или иного вида инфекции на конкретный способ стерилизации. Кроме этого,

не приведены статистические данные по проявлению данной инфекции, что предполагает заражение всех 250 эксплантов, а с учетом двух вариантов - 500 эксплантов. Полное заражение двух вариантов и отсутствие инфекции в других, практически невозможно, что говорит о вероятном несоблюдении мер асептики при введении эксплантов в культуру ткани в данных вариантах.

4. На странице 55 непонятен смысл фразы: «Проращивание семян баклажана на питательной среде при температуре 25°С обеспечило формирование от 1 % до 4 % проростков, или у 40 % высаженных генотипов».

5. В таблице 6 (Эффективность прорастания семян баклажана при различных температурных режимах в условиях *in vitro)* указано, что на питательные среды высажено по 100 семян, а на этапе введения их получено значительно меньше.

6. В таблице 20 отсутствует расчет наименьшей существенной разности.

7. В Главе 5 не приводится детальный расчет экономической эффективности использования биотехнологических методов, автор указывает экономический эффект от ускорения селекционного процесса. Необходимо провести сравнение с традиционными методами размножения селекционного материала баклажана.

Данные замечания не влияют на достоверность полученных результатов и научную значимость проведенной работы.

Заключение по диссертационной работе. Материал, изложенный в автореферате, согласуется с диссертацией по всем разделам. Основные теоретические и практические результаты диссертации опубликованы в 10 статьях, среди которых 2 публикации в ведущих рецензируемых изданиях, рекомендованных перечнем ВАК РФ, 2 публикации в зарубежных журналах, входящих в базу Scopus. Весь экспериментальный материал, изложенный в диссертационной работе и автореферате, соответствует специальности 06.01.05 – селекция и семеноводство сельскохозяйственных растений.

Диссертация Аль-Дейени Муаяда Насеира Муслима «Оптимизация питательной среды для ускоренного размножения ценных линий баклажана *in vitro*» соответствует пунктам 9-14 Положения о присуждении ученых степеней ВАК РФ (Постановление от 24.09.2013 № 842). Диссертация является научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований разработаны теоретические положения и практические разработки, совокупность которых можно квалифицировать как решение научной проблемы, имеющей хозяйственное значение, а ее автор Аль-Дейени Муаяд Насеир Муслим заслуживает присуждения ученой степени кандидата сельскохозяйственных наук по специальности 06.01.05 – селекция и семеноводство сельскохозяйственных растений.

Ведущий научный сотрудник
лаборатории овощных культур и картофеля
НИО генофонда Центра генофонда и биоресурсов растений
ФГБНУ «Всероссийский
селекционно-технологический институт
садоводства и питомниководства»,
доктор сельскохозяйственных наук
(специальность 06.01.05 – селекция и
семеноводство сельскохозяйственных растений)

Бохан Александр Иванович

Подпись Бохана Александра Ивановича заверяю:
Ученый секретарь ФГБНУ ВСТИСП,
кандидат биол. наук Келина Анна Викторовна

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский селекционно-технологический институт садоводства и питомниководства»

Адрес организации: 115598, Россия, г. Москва, улица Загорьевская, дом 4.
Телефон приемной директора: 8(495) 329-51-66, e-mail: vstisp@vstisp.org.

22.10.2020г.