ОТЗЫВ

официального оппонента доктора сельскохозяйственных наук, доцента Бухаровой Альмиры Рахметовны на диссертационную работу Аль-Дейени Муаяд Насеир Муслим на тему «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. Диссертационная работа посвящена важному направлению исследований – оптимизацию питательной среды для ускоренного размножения ценных линий баклажана в культуре *in vitro*.

Баклажан – это одна из ведущих овощных культур в защищенном грунте и последние годы особенно настойчиво входит в пищевой рацион россиян. В связи государственной политикой импортозамещения в России, в целом, Белгородской области, в частности, стремительно развивается овощеводство защищенного грунта и, следовательно, испытывается дефицит в отечественных сортах и гибридах, способных дать высокий урожай. Успех селекции зависит от выбора родительских форм с высокой комбинационной способностью, создания и поддержания ценных линий, путем ускоренного размножения и получения на их основе сортов и гибридов для современных зимних теплиц. При создании новых конкурентоспособных сортов, гибридов, следовательно, существует необходимость в совершенствовании способов быстрого тестирования и отбора родительских линий, устойчивых к биотическим и абиотическим факторам среды. Размножение линий в короткие сроки возможно методом *in vitro* (клеточной селекции, эмбриокультуры), который способен существенно оптимизировать и значительно ускорить процесс получения исходного материала.

Исследования автора по оптимизации состава питательных сред, методов стерилизации, условий культивирования, адаптации растений-регенерантов определяет актуальность настоящей работы.

Научная новизна. Автором, впервые усовершенствованы питательные среды для ускоренного размножения родительских линий баклажана в культуре *in vitro,* изучены условия стерилизации и культивирования, сроки регенерации для индукции каллусогенеза и морфогенеза эксплантатов.

Значимость для науки и производства полученных автором результатов. Диссертантом проведены экспериментальные исследования, в

результате которых разработаны и предложены методические рекомендации по клеточной технологии создания и размножения исходного селекционного материала баклажана в культуре *in vitro*. Создан новый сорт баклажана «Снежная лавина» и передан для испытания в ФГБУ «Государственной комиссии по испытанию и охране селекционных достижений РФ».

Степень обоснованности и достоверности выводов и заключений соискателя сформулированных в диссертации

Выводы и практические рекомендации диссертационной работы: «Оптимизация питательной среды для ускоренного размножения ценных линий баклажана *in vitro*» подтверждаются результатами экспериментальных исследований, выполненных в лабораторно-тепличном комплексе УНИЦ «Агротехнопарк» федерального государственного образовательного бюджетного учреждения высшего образования «Белгородский государственный аграрный университет имени В. Я. Горина». Сбор исходной информации произведен автором на основе общепринятых методов. Соискатель грамотно обосновывает полученные результаты, выводы и рекомендации применяя методы дисперсионного анализа.

В работе исследуются 15 линий (F_{4-5}), стабильных по морфологическим признакам и комплексу хозяйственно-ценным показателям.

Оценка содержания диссертации и автореферата

Диссертация изложена на 135 страницах печатного текста; содержит 21 таблицу, 10 рисунков, 1 приложение; состоит из введения, 6 глав, выводов, практических рекомендаций, списка литературы, включающего 252 источника, из них 165 иностранных.

Во введении автор указывает на актуальность темы исследований, подчёркивает особую значимость оптимизации питательной среды для ускоренного размножения и сохранения ценных линий баклажана в условиях *in vitro*. Представлены также цель, задачи, научная новизна исследования, теоретическая и практическая значимость работы, основные положения, выносимые на защиту, апробация научной работы, личный вклад соискателя, структура и объем диссертации.

В первой главе диссертантом оценивается изученность выбранной научной темы, обобщен материал, посвященный биотехнологическим методам размножения в селекции и семеноводстве, подробно описаны биотехнологические способы создания селекционного материала, применение

молекулярных ДНК-маркеров в селекции, клеточные технологии в культуре *in vitro* для ускорения селекции и семеноводства сортов и гибридов овощных культур. Подробно рассмотрена возможность культивирования в условиях баклажана *in vitro.*

Во второй главе достаточно емко и информативно описаны материалы изучения, условия проведения исследований. Детально изложены методы проведения исследований, сопутствующих наблюдений. Дано описание используемых в работе методик. Использованные методы соответствуют поставленным целям и задачам диссертационной работы.

В третьей главе представлены условия стерилизации баклажана для микроклонального размножения, подбор стерилизующего вещества и описаны режимы стерилизации.

В четвертой главе проведены исследования по оптимизации состава питательных сред для микроклонального размножения культуры баклажана. Глава состоит из 3 разделов. В первом разделе изучено влияние температурных условий на культивирование баклажана в культуре *in vitro*. В 2, 3 разделах осуществлен подбор оптимальной среды для каллусообразования и укоренения эксплантов баклажана.

В пятой главе определены условия адаптации растений-регенерантов баклажана к условиям *in vivo*. Глава состоит из двух разделов, в которых изучаются адаптация пробирочных растений к грунтовым условиям и изменчивость морфологических признаков растений регенерантов в процессе доращивания.

В главе 6 представлена эффективность микроклонального размножения баклажана в практической селекции и семеноводстве.

В заключение работы приведены выводы, отражающие результаты проведенных исследований. Сформулированы они грамотно, вытекают из материалов исследований, отражают ее сущность. Рекомендации производству следуют (за небольшим исключением, о чем будет сказано ниже) из экспериментальных исследований, изложенных в диссертации, и имеют практическую значимость.

Перспективы использованию выводов в дальнейшей работе

Результаты, приведенные в диссертационной работе, имеют

практическое значение. Автором разработаны основные элементы метода микроклонального размножения баклажана, способы стерилизации, условия выращивания и адаптации.

Рекомендованный сорт и методы ускоренного размножения исходных форм могут быть использованы для организации рентабельного производства в пленочных теплицах Белгородской области.

Материалы, полученные в ходе выполнения диссертационной работы, можно использовать в учебном процессе для студентов, обучающихся по направлениям «Агрономия», «Биотехнология» и др.

ЗАМЕЧАНИЯ ПО ДИССЕРТАЦИИ И ПОЖЕЛАНИЯ

1. **В ходе обсуждения итогов исследований, желательно видеть не только констатацию фактов, но и объяснение причин обнаруженных закономерностей хотя бы в виде предположений или гипотез**, например:

a) В страницах 65, 74 диссертации и вывод 8: «Выявлена характерная особенность каллусов баклажана – проявление **ярко выраженной антоциановой** окраски. Это следует рассматривать, как четкий признак необходимости проведения следующего этапа (пересадки на свежую питательную среду)». Хотелось бы знать мнение автора, из-за чего происходит проявление антоциановой окраски, с какими процессами это связано и почему ее появление **следует рассматривать, как необходимость пересадки эксплантов**?

b) Страница 81диссертации: «... Поскольку для пробирочных растений в первые 7-10 дней **проблематично даже усвоение воды**». Однако автор не делает никаких предположений по поводу того, из-за чего происходит эта проблема и как пробирочные растения **обходятся в условиях дефицита влаги в течение 7-10** дней? Не сделана попытка решить эту проблему одним из существующих методов.

2. **Встречаются некорректные названия разделов и как следствие,** несоответствие **выводов** в конце раздела, например:

а) Раздел 4.2. страница 58, озаглавленный как: «**Подбор оптимальной среды для каллусообразования**». Раздел не содержит никакой информа-

ции о каллусообразовании. В тексте автор указывает, что «Данные по прорастанию семян ценных линий баклажана в условиях *in vitr*о на разных питательных средах представлены в таблице 9», страница 61. Однако **заголовок таблицы 9** говорит о «Влияние состава питательной среды на проявление инфицированности семян баклажана в культуре in vitro». Кроме того данные этого опыта явно свидетельствуют о степени изначальной инфицированности семян различных линий, а не о влияние состава питательной среды **на проявление инфицированности семян.**

b) Раздел 4.3, страница 62. «**Подбор оптимальной среды для укоренения эксплантов баклажана»**. Автор не отчетливо формулирует название раздела, так как в этом разделе изучается влияние различной среды **на калусообразование**, о чем говорят таблицы 11-15. Вывод в конце раздела информирует о рекомендации автором среду для получения ризогенного каллуса, а не укоренения, так как в тексте говорится: «Образование **ризогенного каллуса** у баклажан происходит на безгормональной питательной среде. Частичный ризогенез наблюдали **на питательной среде «MS+2 мг/л ИУК»** с каллусогенезом и четкими морфогенными зонами, что дает возможность рекомендовать эту питательную среду для обеспечения корнеобразования у регенерантов».

c) Раздел 5.2, страница 82. «**Изменчивость морфологических показателей растений регенерантов в процессе доращивания**». В этом разделе изучаются «**изменчивость биометрических** показателей растений регенерантов» (**количество боковых ветвей, листьев**), «влияние генотипа и состава питательной среды на высоту растений баклажана при адаптации», «хозяйственно-ценные показатели растений баклажана различных сортотипов». Материал, который приводится в разделе и вывод в конце раздела **не свидетельствует об изменчивости морфологических признаков в процессе доращивания**.

3. В ряде случаев автор недостаточно корректно использует некоторые термины:

a) Страница 47: «**визуальные наблюдения** за ростом пробирочного материала, учеты новообразований в культуре in vitro – **частота каллусогенеза и морфогенеза (%), объем каллуса (мм^3)**. На странице 48 диссертант: пишет: «**Объем каллуса** обсчитывали как произведение видимых величин, ширины и высоты, которые измеряли **глазомерно**…», то есть объем каллуса (мм^3), обсчитывали как «**произведение видимых величин, ширины и высоты**, которые измеряли глазомерно, без вынимания каллуса из культивационной емкости и повреждения экспланта». Что значит, «**измеряли глазомерно»,** именно глазомерно, или с помощью линейки? Желательно, чтобы автор привел формулу для расчета **объем каллуса, поскольку «произведение ширины и высоты» даст только площадь, а не объем.** Кроме того при таких весьма приблизительных расчетах приводить числа с точностью до второго знака после запятой (табл.10, 11 стр. 66-67), по-видимому нецелесообразно.

b) Страница 75 диссертации: «Причинами неудовлетворительной приживаемости пробирочных растений является **недостаточное функционирование устьиц, недостаточное развитие кутикулярных клеток листьев, отсутствие у пробирочных растений градиента температуры между атмосферой и субстратом». Далее автор утверждает:** «преодолеть вышеуказанные нарушения позволяет **первичная адаптация растений регенерантов**, задачей которой является восстановление в них водного и минерального обмена». Данные высказывания достаточно голословны. Неясно, как адаптация растений регенерантов может поправить недостаточное **функционирование устьиц, недостаточное развитие кутикулярных клеток листьев и отсутствие у пробирочных растений градиента температуры между атмосферой и субстратом?** Ведь восстановление в растениях водного и минерального обмена не доказывает восстановление **функции** устьиц и нормальное развитие **кутикулярных клеток листьев.** Хотелось бы услышать обоснование данного высказывания на основании литературных данных или в виде гипотез.

4. В таблицах (кроме таблицы 5), диаграммах, рисунках нет указания на **годы проведения исследований**. Отсутствуют также **повторности испытаний** (кроме таблицы 6).

5. В разделе 1.4 автор приводит **результаты двухфакторного опыта об изменении доли проросших семян** в зависимости **от температуры и биологических особенностей** семян инцухтированных линий баклажана. Автор рассчитал вклад этих факторов в развитие анализируемого признака, однако не указал использованную при этом **методику.** Вызывает сомнение и численные значения «влияния факторов (%)», указанные в таблице 8, сумма которых **превышает 100%**. Как впрочем, непонятно и само построение таблицы.

6. На безгормональной среде MS после пересадки при регенерации отмечено образование адвентивных побегов с высокой вероятностью проявления **самоклональных** вариантов в каллусных тканях». По-видимому, автор имеет в виду **сомаклональную** изменчивость. Однако никаких числовых данных такой изменчивости в диссертации не приведено. Кроме того автор говорит о «**высокой вероятности**» таких отклонений. Следует ли понимать это как предположение (гипотезу) или автором рассчитана конкретная статистическая величина?

7. На странице 87 название таблицы 19 – «Влияние сортотипа пробирочных растений на **биологоморфологические признаки** растений баклажана в культуре *in vivo*». В таблице приведены данные приживаемости (%) и высоты (см), т. е. **морфологические признаки как таковые отсутствуют**. Автор достаточно подробно фиксирует результаты наблюдений и анализов, отмечая закономерности, а в ряде случаев и отклонения от закономерностей. Однако хотелось бы увидеть не только констатацию фактов, но и анализ причин приводящих к ним (хотя бы гипотетических) и вытекающих из них следствий (возможно отдаленных).

8. Соискатель поставил одну из задач (5) «Рассчитать экономическую эффективность использования биотехнологических методов

при создании и размножении ценного линейного материала баклажана». Однако ни в методике, ни в тексте диссертации, ни в выводах не конкретизировано, как создавались ценные линии, как создан сорт.

9. Глава 6- «**Экономическая эффективность биотехнологических методов** при создании и использовании нового сорта баклажана». Здесь, очевидно, речь идет о доказательности эффективности **биотехнологических методов** при создании и использовании нового сорта баклажана. В тексте же производится расчёт экономической эффективности, уровня рентабельности «...**при выращивании нового сорта** баклажана Снежная лавина в условиях Белгородской области», то есть эффективность использования **биотехнологических методов при создании сорта - не обосновано.**

В заключении (13,14) автор указывает, что «Созданы перспективные линии баклажана и передан в Государственное сортоиспытание сорт «Снежная лавина». 14. Уровень рентабельности при выращивании нового сорта баклажана Снежная лавина составил 468 % (Приложение А). Ни название диссертации и тем более исследования соискателя не указывают на создание линейного материала, и тем более сорта. Автор перед собой не ставит задачу – создать сорт. В диссертации есть только один абзац, констатирующий, что были созданы линии и сорт (стр. 95). Раз в ходе исследований был создан сорт, то необходимо было бы **обосновать задачу по его созданию, а** в **исследованиях пошагово показать селекционный процесс** и цифровые данные, указывающие превосходство отобранного образца по сравнению со стандартом. Создание сорта - процесс многоплановый. Одним из условий является **конкурсное сортоиспытание**, в диссертации нет данных по конкурсному испытанию линий и вновь созданного сорта. Только в этом случае уместен расчёт экономической эффективности при выращивании нового сорта баклажана Снежная лавина.

10. Автор рекомендует (рекомендации, стр. 103): «Метод микроклонального размножения у баклажана экономически целесообразен, так как

результате которых разработаны и предложены методические рекомендации по клеточной технологии создания и размножения исходного селекционного материала баклажана в культуре *in vitro*. Создан новый сорт баклажана «Снежная лавина» и передан для испытания в ФГБУ «Государственной комиссии по испытанию и охране селекционных достижений РФ».

Степень обоснованности и достоверности выводов и заключений соискателя сформулированных в диссертации

Выводы и практические рекомендации диссертационной работы: «Оптимизация питательной среды для ускоренного размножения ценных линий баклажана *in vitro*» подтверждаются результатами экспериментальных исследований, выполненных в лабораторно-тепличном комплексе УНИЦ «Агротехнопарк» федерального государственного образовательного бюджетного учреждения высшего образования «Белгородский государственный аграрный университет имени В. Я. Горина». Сбор исходной информации произведен автором на основе общепринятых методов. Соискатель грамотно обосновывает полученные результаты, выводы и рекомендации применяя методы дисперсионного анализа.

В работе исследуются 15 линий (F_{4-5}), стабильных по морфологическим признакам и комплексу хозяйственно-ценным показателям.

Оценка содержания диссертации и автореферата

Диссертация изложена на 135 страницах печатного текста; содержит 21 таблицу, 10 рисунков, 1 приложение; состоит из введения, 6 глав, выводов, практических рекомендаций, списка литературы, включающего 252 источника, из них 165 иностранных.

Во введении автор указывает на актуальность темы исследований, подчёркивает особую значимость оптимизации питательной среды для ускоренного размножения и сохранения ценных линий баклажана в условиях *in vitro*. Представлены также цель, задачи, научная новизна исследования, теоретическая и практическая значимость работы, основные положения, выносимые на защиту, апробация научной работы, личный вклад соискателя, структура и объем диссертации.

В первой главе диссертантом оценивается изученность выбранной научной темы, обобщен материал, посвященный биотехнологическим методам размножения в селекции и семеноводстве, подробно описаны биотехнологические способы создания селекционного материала, применение

имеет ряд преимуществ - позволяет быстро получать из соматических тканей генетические копии определенного исходного растения, проводить их размножение в течение года в лабораторных условиях и повысить **эффективность селекционного процесса на 30 % с сокращением времени на создание сорта до 4-5 лет».** Однако в материалах диссертации автор **не приводит данные**, доказывающие **увеличение эффективности селекционного процесса на 30% и сокращение времени на создание сорта до 4-5 лет.**

Заключение

Представленная к защите диссертационная работа Аль-Дейени Муаяд Насеир Муслим на тему «Оптимизация питательной среды для ускоренного размножения ценных линий баклажана in vitro», соответствует пунктам 9-11, 13, 14 «Положение....» ВАК РФ, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата сельскохозяйственных наук по специальности 06.01.05 - селекция и семеноводство сельскохозяйственных растений.

29.10.2020

Официальный оппонент:

Бухарова Альмира Рахметовна, доктор сельскохозяйственных наук, доцент, профессор кафедры земледелия и растениеводства.

Специальность, по которой защищена докторская диссертация: 06.01.05 - селекция и семеноводство (год присвоения ученой степени - 2009) Полное название организации: федеральное государственное бюджетное образовательного учреждение высшего образования «Российский государственный аграрный заочный университет»

Адрес: 143907, г. Балашиха Московской области, ул. Ш. Энтузиастов, д.50, тел./факс: 8 (495)521-52-52, e-mail: regnbukh@inbox.ru.

ВЕРНО
29 10 20 г.
Подпись

Начальник отдела кадров