

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу Бычковой Ольги Владимировны по теме «Создание стрессоустойчивого материала твердой пшеницы методом клеточной селекции», выполненную в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Алтайский государственный университет» и представленную к защите в диссертационном совете Д 999.176.03 на соискание ученой степени кандидата сельскохозяйственных наук по специальности 06.01.05 – селекция и семеноводство сельскохозяйственных растений

Актуальность темы. Основная задача зерно производителей – получение высокой и стабильной урожайности. Однако в условиях Западной Сибири в течение вегетационного периода часто проявляются засухи различного вида, которые вносят существенные коррективы в производство зерна пшеницы. Проявляются как почвенные, так и воздушные типы засухи, с преобладанием почвенных, а в отдельные годы наблюдаются оба вида засухи. При этом чаще бывают в первой половине вегетации. Существует множество физиологических методов диагностики засухоустойчивости растений, которые изложены в монографиях Кумакова В.А., Генкеля П.А., Удовенко Г.В. и др. Также разработан целый ряд методов, которые используются для оценки твердой пшеницы. Однако селекционеры при оценке засухоустойчивых генотипов чаще используют более доступные показатели: массу зерна с единицы площади, уборочный индекс. Полевая засухоустойчивость оценивается через степень снижения продуктивности в условиях засухи, по сравнению с продуктивностью в благоприятных условиях. Наиболее распространенным методом создания адаптивных и засухоустойчивых сортов является гибридизация с использованием соответствующего исходного материала. Селекционная практика основывается на двух принципиальных подходах: создание генетического разнообразия и отбор желаемых генотипов.

Клеточные технологии предлагают принципиально новые пути для увеличения генетического разнообразия и скрининга форм с искомыми признаками. Существующие методы культивирования изолированных клеток и тканей растений *in vitro* можно разделить на две группы по их использованию с целью создания растений с новыми полезными признаками. Первая группа методов – это технологии для облегчения и ускорения селекционного процесса. Вторая группа – технологии, предназначенные для создания генетического разнообразия исходных форм для селекции. С разработкой техники получения растений-регенерантов (соматклонов) из каллусной ткани появилась возможность получать новые формы растений, отличающиеся как по фенотипическим, так и по генетическим признакам от исходных растений и на основе соматклональных вариаций или индуцированных мутаций отбирать в жестких селективных условиях клетки, характеризующиеся искомыми признаками, т.е. осуществлять клеточную селекцию *in vitro*. В настоящее время наиболее активно развиваются такие направления проведения клеточной селекции как отбор клеток устойчивых к гербицидам, засолению,

экстремальным температурам, патогенам. Проблема солеустойчивости возделывания зерновых культур имеет практическое значение, так как общая площадь солонцовых комплексов в Западной Сибири составляет 8,8 млн. га, в т.ч. пашни - 4,4 млн. га. Увеличивается площадь пахотных земель, подверженных вторичному засолению. Однако исследований, проведенных на твердой пшенице очень мало. В связи с этим проведенные автором исследования являются актуальными.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации. Исследования проведены в ФГБОУ ВО «Алтайский государственный университет». Исходным материалом для исследований послужили сорта селекции АНИИСХ, Самарского НИИСХ и Германии. Материал диссертации изложен в соответствии с поставленными задачами и защищаемыми положениями. Приведенные в диссертации таблицы снабжены критериями значимости. Выводы и предложения соответствуют полученным результатам исследований, вполне обоснованы и подтверждены статистическими расчетами.

Достоверность и новизна. Результаты научных исследований, проведенных О.В. Бычковой достоверны, и сделанные на их основе выводы и рекомендации обладают новизной, поскольку впервые в Западной Сибири на новых сортах алтайской селекции определены закономерности формирования *in vitro* стрессоустойчивых клеточных линий и регенерантов яровой твердой пшеницы на селективных средах, содержащих осмотические компоненты. На основании индексов устойчивости проведена классификация генотипов по устойчивости к засухе. Впервые методом пыльцевого анализа выполнено ранжирование образцов по наличию внутренней и индуцированной осмотической регуляции, выделены перспективные для селекции генотипы, обладающие высокой осмотической адаптацией.

Соответствие диссертации и автореферата требованиям ВАК РФ. Диссертация О.В. Бычковой изложена на 180 страницах компьютерного текста, состоит из введения, 4 глав, выводов, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы и приложений. Содержит 22 таблицы, 38 рисунков, 25 приложений. Библиографический список включает 390 источников, в том числе 186 на иностранном языке. Диссертация и автореферат, в основном, соответствует требованиям ВАК РФ «Положения о порядке присуждения ученых степеней». Материал, представленный в автореферате, согласуется с диссертацией по всем разделам. Диссертационная работа может быть признана научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных лабораторных опытов, проведенных оценок и наблюдений, статистических расчетов изложены обоснованные научные решения.

Научные исследования проводились с непосредственным участием автора, все лабораторные исследования, анализ, интерпретация и представление информации проведены лично автором и диссертация написана самостоятельно. Основные результаты исследований были доложены на VII и

VIII Всероссийской научно-практической конференции «Технологии и оборудование химической, биотехнологической и пищевой промышленности», (г. Бийск, 2014, 2015), XIII Международной научной конференции «Агроэкологические аспекты устойчивого развития АПК», г. Брянск, 2016), Международной научно-практической конференции «Биотехнология и общество в XXI веке», (г. Барнаул, 2015), на 1 Международном форуме студентов и молодых ученых (г. Барнаул, 2017) и опубликованы в 10 печатных работах, в том числе 2 статьи в рецензируемых научных журналах, рекомендуемых ВАК РФ, 1 статья в журнале, индексируемом в базе данных Web of Science. Экспериментальный материал, приведенный в диссертационной работе, соответствует специальности 06.01.05 – селекция и семеноводство сельскохозяйственных растений. К диссертации приложен акт о внедрении результатов исследований в селекционную практику.

Оценка содержания диссертационной работы, ее завершенность, значимость результатов, рекомендаций по использованию. Содержание диссертационной работы соответствует цели и задачам исследований. Приведенный обзор литературы в диссертации довольно полно отражает состояние и проблемы данного направления исследований. Приведены анатомо-морфологические и физиолого-биохимические механизмы засухоустойчивости, методы диагностики засухоустойчивости сельскохозяйственных культур, как классические, так и с использованием культуры клеток и тканей. В результате проведенных исследований определен вклад различных факторов в процессы каллусогенеза, морфогенеза и регенерации в культуре зрелых и незрелых зародышей, разработана система отбора устойчивых к осмотическому и солевому стрессу соматклонов яровой твердой пшеницы, предложена система физиологической оценки засухо- и солеустойчивости. На основе комплексной лабораторной оценки выделены перспективные линии для использования в селекции яровой твердой пшеницы на соле- и засухоустойчивость. Результаты исследований иллюстрированы в таблицах, рисунках и приложениях и обеспечивают обоснованное изложение материала. Диссертация и автореферат изложены грамотно, с незначительными погрешностями. Представленная О.В. Бычковой диссертационная работа является завершенной научной работой, выводы и предложения которой могут быть использованы в проведении дальнейших научных исследований по культуре клеток и тканей и нетрадиционной клеточной селекции, а полученные линии (соматклоны) представляют интерес как исходный материал при создании стрессоустойчивых сортов яровой твердой пшеницы.

Замечания и предложения

Положительно оценивая актуальность, новизну, научную обоснованность, значимость и завершенность диссертационной работы, следует обратить внимание автора на некоторые недостатки и вопросы:

1. Вводная часть диссертационной работы и автореферата немного расходятся в изложении: В диссертации «Положения, выносимые на защиту»,

«Публикация материалов исследований» в автореферате «Защищаемые положения», «Публикации».

2. В автореферате глава 1 изложена очень кратко. После названия нужно было указать, что это обзор литературы. Кроме того, в автореферате отмечено, что рассмотрены механизмы устойчивости к осмотическому стрессу, а в диссертации – механизмы устойчивости к засухе.

3. Название главы 3.2 в диссертации - особенности формообразовательных процессов в культуре ткани яровой твердой пшеницы в условиях осмотического и солевого стресса, а в оглавлении отбор стрессоустойчивых клеточных линий и регенерантов яровой твердой пшеницы на селективных средах.

4. Глава 3.3 влияние различных факторов на каллусогенез и морфогенетические процессы, в оглавлении влияние различных факторов на каллусогенез и морфогенетические процессы яровой твердой пшеницы.

5. Новизна исследования не вызывает сомнения, но первый абзац следовало бы изменить: впервые в Западной Сибири на новых сортах алтайской селекции определены закономерности формирования *in vitro* стрессоустойчивых клеточных линий и регенерантов яровой твердой пшеницы на селективных средах, содержащих осмотические компоненты.

6. Неоднотипные ссылки на литературные источники: например на стр.19 Kavi Kishor et al., 2005., Matysik, Alia Bhalu et al, 2002., Kaul, Sharma, Mehta, 2008, Erdei, Trivedi, Takeda et al, 1990. Кстати, Alia и Bhalu разные авторы. Можно было бы при наличии трех и более авторов ссылку сократить, например Erdei et al, 1990, вместо Erdei, Trivedi, Takeda et al, 1990.

7. На стр. 39 отмечено: «при использовании в качестве эксплантов зрелых зародышей их изолировали из зрелых семян (время после опыления более 25 суток). На этой стадии зародыш сформировался, но зерно зрелое вряд ли, это фаза молочной спелости, для формирования зерновки необходимо 38-42 суток (в зависимости от группы спелости).

6. При обсуждении результатов исследований по каллусогенезу, морфогенезу, регенерации было бы не лишним сравнить с ранее проведенными исследованиями. По твердой пшенице близкие к теме исследований защищены диссертации Гапоненко А.К., 1992, Шаяхматов И.Ф., 2001, Диас Фердинандес Тамара, 1994, в условиях Сибири по мягкой пшенице - Ступко В.Ю., 2009, по ячменю - Россеев В.М., 2001; Коньшева Е.К., 2004. Тем более что выход рекомбинантов по твердой пшенице получен довольно высокий, а в ранних работах он низок. К сожалению, их в списке литературы нет.

7. Сорт твердой пшеницы Жемчужина Сибири, со ссылкой на работу (Розовой, Зиборова, 2016), отнесен к числу незасухоустойчивых сортов. Позвольте не согласиться. На основании изучения сорта в различных экологических пунктах Казахстана и России по программе КАСИБ этот сорт показал себя как экологически пластичный, засухоустойчивый. Высокая пластичность сорта обеспечила широкий ареал распространения: он включен в Госреестр РФ по 9, 10, 11 регионам и РК по Северо-Казахстанской и

Костанайской областям. Засухоустойчивость данного сорта подтверждается и данными, представленными в приложении 24: интегративные индексы устойчивости, по всем признакам в среднем по трем стресс-факторам у сорта Оазис (засухоустойчивый) составляют 0,53, Жемчужины Сибири - 0,55. Поэтому при дискриминантном анализе часть рекомбинантов попала в не свою группу.

8. Индексы устойчивости представлены в разных единицах: большая часть в %, а приложение 24 – в десятых долях.

9. Продолжительность периода приводится в основном в сутках, а на стр. 51 в сутках и днях.

10. В случае, когда ссылка производится на автора работы, перед фамилией автора нужно указывать инициалы: стр. 16 «в работах Тюнина (2004)», «Мокроносова и Борзенковой (1987)», стр. 57: «в работе Mzori и Amssa (2002)».

11. Сортные различия по калуссогенезу в контроле, приведенные на стр. 77-78 на основании табл.11 не достоверны. 2014 г. сортные различия 9,7%, НСР 12,5%, 2015 г., соответственно, 7,7 и 8,8%, 2016 г. 6,9 и 9,1%.

12. Интересный факт увеличения частоты морфогенеза на средах с NaCl по отдельным генотипам по сравнению с контролем. Следовало бы пояснить за счет чего? (табл.12 и стр.82).

13. Библиографический список оформлен по ГОСТ Р.7.05-2008, который принят во многих научных журналах. Диссертация оформляется по ГОСТ Р 7.0.11-2011. Библиографические записи заполняются следующим образом: автореферат - Березина О.В. Структурно-функциональная организация фотосинтетического аппарата сортов твердой и мягкой пшеницы в связи с их продуктивностью: автореф. дис. ...канд. биол. наук: шифр темы/ Березина имя и отчество. – Казань, 1989. - 23 с.; статья – Абдуллаев А. Влияние почвенной засухи на компонентный состав запасных белков пшеницы /А. Абдуллаев, Г.Ф. Касимова, И.А. Сабоиев // Доклады академии наук республики Таджикистан.- 2011. - Т.54. - № 11. - С. 936-941. В случае, когда более трех авторов в статье, приводится название статьи, а после этого авторы, и остальные вводные данные.

14. Согласно ГОСТ Р 7.0.11-2011, пункт 5.3.8. Порядковый номер страницы печатают на середине верхнего поля страницы, ссылки на таблицу - например, (таблица 3, не табл.3).

15. Практическая значимость не вызывает сомнения, но она была бы выше, если бы соматоклональные линии передать в селекционные учреждения, в которых ведется селекция по твердой пшенице (АНИИСХ, СибНИИСХ). При этом будет объективная оценка этих генотипов к засухе в естественных условиях, поскольку устойчивость клетки и растения к селективному фактору может совпадать и не совпадать. В частности, клеточная устойчивость может быть только частью общего механизма, работающего в целом растении, как это наблюдается при создании устойчивости к засолению.

Заключение

Диссертационная работа Ольги Владимировны Бычковой на тему: «Создание стрессоустойчивого материала твердой пшеницы методом клеточной селекции» является законченной научно-исследовательской работой. Тема исследований посвящена поиску нетрадиционных путей в селекции твердой пшеницы и является весьма актуальной. В результате проведенных исследований определен вклад различных факторов в процессы калусогенеза, морфогенеза и регенерации в культуре зрелых и незрелых зародышей, разработана система отбора устойчивых к осмотическому и солевому стрессу соматклонов яровой твердой пшеницы, предложена система физиологической оценки засухо- и солеустойчивости. На основе комплексной лабораторной оценки выделены перспективные линии для использования в селекции яровой твердой пшеницы на соле- и засухоустойчивость. Выводы и предложения соответствуют приведенным результатам исследований, достоверность которых обоснована статистической обработкой. Материал диссертации изложен грамотно, логически последовательно, оформлен с учетом требований. Экспериментальный материал, приведенный в диссертационной работе, соответствует специальности 06.01.05 – селекция и семеноводство сельскохозяйственных растений. Результаты исследований опубликованы в 10 печатных работах, в том числе 2 статьи в рецензируемых научных журналах, рекомендуемых ВАК РФ, 1 статья в журнале, индексируемом в базе данных Web of Science. В целом работа выполнена на высоком теоретическом уровне и отражает целесообразность дальнейших исследований в данном направлении.

Диссертационная работа является научно-квалификационной работой, в которой изложены пути решения проблем, имеющих большое значение в селекции твердой пшеницы на адаптивность и засухоустойчивость в условиях Западной Сибири и соответствует критериям, установленным «Положением о присуждении ученых степеней» (Постановление правительства РФ от 24.09.2013, №842, ред. от 28.08.2017), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор Бычкова Ольга Владимировна, заслуживает присвоения ученой степени кандидата сельскохозяйственных наук по специальности 06.01.05 – селекция и семеноводство сельскохозяйственных растений.

Главный научный сотрудник лаборатории
селекции твердой пшеницы
ФГБНУ «Омский аграрный научный центр»,
доктор с.-х. наук
644012, Омск, проспект Королева, д. 26
E-mail: misha-emg@rambler.ru
тел. 381-2 – 77-69-51

 Евдокимов
Михаил Григорьевич

Подпись М.Г. Евдокимова удостоверяю:
ученый секретарь, канд. с.-х. наук

 Качур
Ольга Тимофеевна

6. 06. 2018.

