

## ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу Киргизовой Ирины Васильевны «Физиологический ответ микроклонов *Solanum tuberosum* L. на заражение мозаичным вирусом (PVS)», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.21 – Физиология и биохимия растений

Развитие картофелеводства требует подбора продуктивных сортов, отвечающих требованиям современной технологии возделывания, а также совокупности климатических и биотических факторов регионов возделывания. В современном мире картофель (*Solanum tuberosum* L.) остается неизменно ценной культурой, занимающей одно из ведущих мест в мире по площадям возделывания. Россия является не исключением и среди всех стран находится на лидирующем месте по площадям, занятым под картофелем. Интерес к этой культуре не случаен, так как она служит, прежде всего, источником полноценного питания, в связи с высоким содержанием углеводов в клубнях. Кроме того, картофель является сырьем для получения спирта, крахмала, белка и другой продукции, используемой в пищевой промышленности, животноводстве, фармацевтической промышленности и других отраслях народного хозяйства. Несомненно, картофель является продовольственно-значимой культурой, так как богата углеводами и витаминами, является калорийным продуктом и имеет большое значение для здоровья человека.

Одним из новых, перспективных путей повышения эффективности селекционного процесса является использование современных методов биотехнологии, которые позволяют изучать устойчивость растений к фитопатогенам, устойчивость к абиотическим факторам среды таким как засухо- и солеустойчивость как на клеточном, так и на молекулярно-генетическом уровне. Все это позволяет иметь базисное представление об изучаемых образцах, проводить их диагностику и отбор по хозяйственно

ценным признакам, и в конечном итоге, включать в технологию классической селекции и сокращать сроки ее проведения.

Актуальным для картофеля является получение сортов с высокой урожайностью (35,0-46,6 т/га), массой товарного клубня (67-141 г), высокими вкусовыми качествами, сохранностью в зимний период, устойчивостью ботвы и клубней к фитофторозу, черной ножке, ризоктониозу, парше обыкновенной, золотистой картофельной нематодой, желательны с коротким периодом формирования клубней.

Вирусы являются одной из главных причин снижения количества и качества основных стратегически важных сельскохозяйственных культур, в том числе и культуры картофеля. Одной из главных особенностей фитовирусов является их распространение на обширных территориях по всему миру. Более того - внутриклеточное развитие и быстрое распространение вирусов затрудняет использование химических средств защиты, так как они не обладают достаточной эффективностью.

В стратегии Министерства сельского хозяйства РФ предусмотрено постоянное развитие селекции и семеноводства картофеля за счет совершенствования агротехники возделывания культуры, применения современных методов биотехнологии, направленных на создание исходного материала, свободного от вирусов, виридов, обладающих устойчивостью к стрессовым факторам абиотической и биотической природы окружающей среды. На сегодняшний день в мире насчитывается более 14 тысяч сортов картофеля, полученные благодаря огромному генетическому разнообразию данной культуры, которое постоянно расширяется.

Исходя из вышеизложенного, диссертационная работа Киргизовой И.В. выполнена на актуальную тему, а полученные результаты имеют как теоретическое, так и практическое значение.



**Научная новизна.** Впервые для сортов картофеля (*S. tuberosum* L) сибирской селекции (Хозяюшка, Алена, Ермак) проведены комплексные исследования получения длительно пассируемой каллусной ткани, растений-регенерантов, а также изучен физиологический ответ соматклонов в ответ на инфицирование растений мозаичным вирусом PVS. Показано, что инфицирование соматклонов картофельным вирусом приводит к изменению содержания крахмала и белка в клубнях, а также повышается по сравнению с контролем общий уровень активности ферментов пероксидазы, каталазы и супероксиддисмутазы. Впервые установлено, что инфицирование вирусом PVS микроклонов картофеля приводит к изменению изоферментного состава антиоксидантных ферментов пероксидазы (КФ 1.11.1.7), каталазы (КФ 1.11.1.6), супероксиддисмутазы (КФ 1.15.1.1). Установлено, что инфицирование растений вирусом приводит к изменению изоферментного состава супероксиддисмутазы и появлению двух изоформ: Fe – и Cu/Zn–SOD, которые играют наиболее значимую роль для формирования антиоксидантной системы и защитного иммунитета растений.

**Теоретическая и практическая значимость работы.** Полученные соматклоны картофеля могут служить в качестве донорных растений для проведения дальнейших исследований по селекции картофеля, что позволит увеличить генетическое разнообразие культуры и выявить перспективные сортообразцы.

Материалы диссертации могут быть использованы в учебном процессе при чтении лекций и проведении лабораторно – практических работ по дисциплинам: «Физиология растений», «Сельскохозяйственная биотехнология», «Прикладная биотехнология», «Культура клеток и тканей растений» для студентов, обучающихся по направлениям «Агрономия» и «Биотехнология».

**Обоснованность и достоверность результатов работы.** Работа основана на результатах лабораторных и полевых экспериментов и является обобщением многолетних исследований, выполненных автором лично или в

сотрудничестве с коллегами. В работе использованы общепринятые методы исследований в области биотехнологии, физиологии и биохимии растений. Определение биохимических показателей (ферментативной активности) проводили в четырехкратной повторности и 2-3 аналитических повторностях. Статистическая обработка результатов проведена с помощью программ Microsoft Office Excel 2010, GraphPad Prism (v 6.01) (GraphPad Prism User Guide, 2019).

**Апробация работы.** Основные положения работы и результаты исследований были представлены на международных конференциях.

По теме диссертации опубликовано 13 научных работ в отечественных и зарубежных изданиях, в том числе 1 статья в изданиях, рекомендованных ВАК РФ и 4 - в научных изданиях, индексируемых международными базами данных, перечень которых определен в соответствии с рекомендациями ВАК РФ (Scopus, Web of Science и CA(pt)).

**Структура и объем работы.** Диссертация состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, изложения и обсуждения результатов, заключения, выводов, списка литературы и приложения. Работа изложена на 152 страницах машинописного текста. Содержит 8 таблиц, 30 рисунков и 8 приложений. Список цитируемой литературы включает 294 источника, в том числе 201 - на иностранном языке.

**Оценка содержания диссертации, ее стиля и оформления.** Заявленная тема диссертации соответствует полученным результатам и задачам. Главы и разделы сформированы корректно, отражают последовательность и логику исследований. Стиль написания соответствует научным и литературным нормам. Работа оформлена согласно требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям.

**Во введении** автор обосновывает актуальность исследуемой темы, ее общенаучное значение, а также ее практическую и теоретическую



значимость. Исходя из современного состояния вопроса, обоснованно поставлена цель работы - изучение физиологического ответа микроклонов картофеля (*S. tuberosum* L.) на заражение мозаичным вирусом PVS, а также сформулированы конкретные задачи работы. Кроме того, во введении представлена информация о публикациях соискателя и апробации результатов работы.

**В Главе 1 «Обзор литературы»** (общий объем 41 страница) приведен анализ современного состояния вопроса выращивания и селекции картофеля в условиях Западно-Сибирского региона, приведены методы клеточной биотехнологии, позволяющих получать безвирусный посадочный материал. Подробно описываются ответные реакции растений картофеля на факторы стресса, в частности, на заражение вирусами. Приводятся ссылки на современные литературные источники российских и зарубежных авторов.

**В Главе 2 «Объекты и методы исследований»** (общий объем 16 страниц) подробно приводится обоснование выбора объекта исследований, приводятся основные методы получения каллусной ткани и растений-регенерантов, а также физиолого-биохимические методы анализа, направленные на характеристику соматклонов картофеля после инокуляции растений PVS вирусом. В конце главы приводятся методы статистической обработки данных.

**Глава 3 «Результаты и обсуждения»** (общий объем 30 страниц) включает 12 разделов, в которых приведены основные результаты исследований.

Объектом исследования служили три сорта картофеля (Ермак, Алена, Хозяюшка), отличающиеся по восприимчивости к вирусам. Для исследуемых сортов, диссертантом установлены оптимальные условия выращивания (минеральный и гормональный состав питательной среды), а также тип первичного экспланта, позволяющие получать хорошо пролиферирующую каллусную ткань и в последствии растения-регенеранты. Установлено, что полученные соматклоны картофеля отличались различным содержанием

белка и крахмала между собой и контрольным вариантом. Кроме того, показано, что частота соматической вариативности увеличивается от продолжительности культивирования каллусной ткани *in vitro*. Экспериментально доказано, что наибольшие показатели общего содержания крахмала и белка было отмечено для соматических клонов сорта Хозяюшка.

Диссертантом проведено детальное изучение биохимических показателей микроклонов после их инфицирования мозаичным вирусом (PVS). Установлено, что искусственное инфицирование микроклонов приводило к повышению общего уровня активности ферментов пероксидазы, каталазы и супероксиддисмутазы по сравнению с контрольными растениями. Это было характерно для соматических клонов, полученных от сорта Алена и Хозяюшка. В то время, как для соматических клонов, полученных от сорта Ермак, повышение изучаемых показателей не наблюдалось. Кроме того, соискателем показано, что инфицирование вирусом PVS соматических клонов картофеля приводит к изменению изоферментного спектра пероксидазы: у инфицированных растений выявлено 5–6 изоформ, у контрольной группы – 4–5 изоформ. Отмечены изменения в активности каталазы: у инфицированных растений выявлено 3 изоформы, у контрольной группы – 1 изоформа.

Таким образом, приведенные в главе 3 результаты изложены последовательно, логично, хорошо иллюстрированы таблицами, рисунками и графиками. Выводы отражают основное содержание диссертационного исследования и соответствуют поставленным задачам.

Автором получен большой экспериментальный материал, проведен достаточный объем исследований и анализов, результаты корректно обработаны и представлены в работе.

Текст автореферата и опубликованных работ полностью соответствуют содержанию диссертационного исследования.

**Замечания и пожелания.** К диссертационной работе имеются



следующие замечания-вопросы:

1) В работе уделяется внимание изучению активности антиоксидантных ферментов картофеля у микроклонов и контрольных растений сибирских сортов картофеля в ответ на заражение вирусной инфекцией PVS. Однако, для растений важное значение при воздействии стрессоров окружающей среды имеют низкомолекулярные антиоксиданты, принимающие участие в дезактивации активных форм кислорода. Автором не проведено исследование участия низкомолекулярных антиоксидантов в защитном ответе растений картофеля, не относящихся к модельным растениям.

2) В работе при получении каллусной ткани картофеля в качестве контрольного варианта использовали питательную среду без гормонов. Были ли в исследованиях еще один контроль, который наилучшим образом показывает зависимость каллусогенеза от фитогормонов?

3) Крайне интересные результаты, на наш взгляд, были представлены в п.3.4. Сомаклональные варианты картофеля, полученные из каллуса» главы «Результаты и обсуждение». Автор отмечает изменчивость у соматклонов по таким признакам, как цвет мякоти, цветка растений. Показано изменение окраски клубня. Отмечается двукратное изменение содержания крахмала в клубнях (рис.20) у вариантов сорта «Хозяюшка». Следует отметить, что отмеченные признаки являются характеристиками сортов. Диссертант, к сожалению, никак не обсуждает возможность изменения генотипа у изучаемых сортов после «клонирования», несмотря на то, что в обзоре вопросы соматклональной изменчивости поднимаются. Поэтому закономерным, на наш взгляд, будет вопрос – могут ли быть получены новые сорта в результате процедуры микроклонального размножения, была ли выполнена идентификация исходного генотипа сортов и генотипов вариантов, отличающихся от исходного по морфологическим признакам (стр. 87), по содержанию крахмала, белка (рис. 20,21).

По ходу диссертации встречаются неточности в оформлении таблиц.

1. Так в таблицах 20 и 21 контрольные образцы отмечены как варианты, достоверно отличающиеся непонятно от кого или чего?
2. Есть претензии к корректности текста диссертации. К сожалению, встречаются ошибки (в большей мере это пропуски букв). Стр. 15, абзац 3 «...микролонов...»; Интересно выглядит вывод 2 (Заключение, стр 107) из «заключения» – «... 2. Разработан протокол получения растений-регенеранов изучаемых сортов картофеля из длительно пассируемой каллусной ткани».
3. Наверное, следовало бы более строго отнестись к оформлению ссылок в тексте диссертации – стр.6, абзац 2 ... Спиридонов И., 2021... и, на этой же странице приведена ссылка на Evans D.A., 1984. Обычно отечественные исследователи имеют ФИО, тогда как для зарубежных авторов отчество является излишним. Далее по тексту можно встретить ссылки на полное указание ФИО.
4. Имеются замечания по оформлению, в частности, в списке литературы: источник 278 дублирует источник 279, а источник 262 дублирует источник 263; в источник 272 имеется опечатка.
5. Желательно в конце названия рисунков 4, 5, 6, 10 привести ссылки на первоисточники.

Данные замечания не имеют принципиального характера и не влияют на общую положительную оценку работы.

### **Заключение**

Диссертационная работа Киргизовой Ирины Васильевны «Физиологический ответ микроклонов *Solanum tuberosum* L. на заражение мозаичным вирусом (PVS)», является законченной научно-квалификационной работой, выполненной на актуальную тему, имеющей значимость, как в теоретическом, так и практическом плане. Полученный достоверный и обширный фактический материал тщательно обработан и проанализирован. Сформулированные в работе выводы статистически



обоснованы. Публикации соответствуют теме диссертационного исследования. Содержание автореферата соответствует основным положениям диссертации.

Диссертационная работа Киргизовой И. В. «Физиологический ответ микроклонов *Solanum tuberosum* L. на заражение мозаичным вирусом (PVS)» соответствует требованиям пп. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 № 842, а ее автор, Киргизова Ирина Васильевна заслуживает присуждения ей искомой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.21 – Физиология и биохимия растений.

Официальный оппонент:

Ведущий научный сотрудник отдела сельскохозяйственной геномики  
Института агробιοтехнологий им. А.В.Журавского  
ФИЦ Коми НЦ УрО РАН - обособленное подразделение  
ФГБУН Федерального исследовательского центра  
«Коми научный центр Уральского отделения Российской академии наук»  
доктор биологических наук (1997), профессор (2004)

**Зайнуллин Владимир Габдуллович**

«29» марта 2024 г.

Институт агробιοтехнологий им. А.В. Журавского Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра «Коми научный центр Уральского отделения Российской академии наук» (Институт

агробиотехнологий ФИЦ Коми НЦ УрО РАН), 167023, Республика Коми, г. Сыктывкар, ул. Ручейная, д. 27, телефон (8212) 31-95-03, 31-90-20 Email [zainullin.v.g@yandex.ru](mailto:zainullin.v.g@yandex.ru)

Подпись ведущего научного сотрудника Института агробиотехнологий ФИЦ Коми НЦ УрО РАН Зайнуллина Владимира Габдулловича заверяю



Директор Института Агробиотехнологий

ФИЦ Коми НЦ УрО РАН

Канд.эконом.наук А.А. Юдин