

УТВЕРЖДАЮ:
Директор ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии»,
доктор биологических наук, профессор РАН,
Академик РАН
Г.И. Карлов
«02» _____ 2024 г.



ОТЗЫВ

ведущей организации – Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии (ФГБНУ ВНИИСБ)» на диссертационную работу Соловьевой Юлии Александровны на тему: «Изучение и оптимизация технологии производства удвоенных гаплоидов растений рода *Cucurbita* L.», представленной на соискание ученой степени кандидата сельскохозяйственных наук по специальности 4.1.2. Селекция, семеноводство и биотехнология растений (сельскохозяйственные науки) в диссертационный совет 35.2.030.08 на базе ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева»

Актуальность темы. Семейство растений Cucurbitaceae является одним из самых значимых в производстве сельскохозяйственной продукции. Представители рода *Cucurbita* L., из разнообразия которого в России выращивают в основном три культурных вида – *Cucurbita pepo* L., *Cucurbita maxima* Duch., *Cucurbita moschata* Duch., отличаются высокой пищевой ценностью. В условиях современного производства необходимо получение конкурентоспособного разнообразного материала в кратчайшие сроки. При селекции F₁-гибридов высокой продолжительностью отличается этап создания родительских чистых линий при невозможности получения 100%-ных гомозигот. Также для повышения разнообразия необходимо изучение возможных источников ценных признаков, идентификация которых в пределах вида часто невозможна. Поиск источников и передача признака женского типа цветения является одним из актуальных направлений селекции тыквенных культур.

В диссертационной работе Соловьевой Ю.А. рассмотрены вопросы оптимизации технологии производства удвоенных гаплоидов растений рода *Cucurbita* L. и наследования женского типа цветения при интрогрессии признака посредством отдаленной гибридизации. Цель исследований отражает актуальность выбранной темы – изучение влияния

факторов на частоту индукции гиногенеза в культуре изолированных семязачатков и изучение наследования типа цветения при отдаленной гибридизации растений рода *Cucurbita* L. (*Cucurbita pepo* L., *Cucurbita maxima* Duch., *Cucurbita moschata* Duch.). Автором были поставлены следующие задачи: изучение влияния температурной предобработки завязей (32°C в течение 2 суток; 4°C в течение 2 суток) на частоту индукции гиногенеза в культуре изолированных семязачатков; изучение влияния температурного (32°C в течение 2 суток; 32°C в течение 4 суток; 4°C в течение 2 суток; 4°C в течение 4 суток) и светового режимов (темновая культура; наличие 16-часового фотопериода) обработки культивируемых эксплантов на частоту индукции гиногенеза в культуре изолированных семязачатков; изучение влияния типа экспланта (изолированные семязачатки; фрагменты завязи; мацерированные сегменты) на частоту индукции гиногенеза в культуре *in vitro*; изучение влияния компонентов индукционной питательной среды (тип среды – СВМ, MS, В5, MSm; источник углеводов – сахароза, мальтоза; концентрация сахарозы – 30 г/л, 40 г/л, 50 г/л, 60 г/л; регуляторы роста – 2 мг/л 2,4-D, 0,2 мг/л TDZ; желирующие агенты – агар, фитогель; гидролизат казеина – 500 мг/л; маннитол – 50 мг/л; пантотенат кальция – 0,5 мг/л; аминокислотно-пептидный состав – 800 мг/л глутамина + 100 мг/л серина + 30 г/л глутатиона, 100 мг/л пролина + 100 мг/л серина + 800 мг/л глутамина, 800 мг/л глутамина + 100 мг/л серина + 100 мг/л пролина + 30 мг/л глутатиона, 800 мг/л глутамина + 10 мг/л серина + 10 мг/л пролина + 9 мг/л глутатиона) на частоту индукции гиногенеза в культуре изолированных семязачатков; изучение наследования женского типа цветения при интрогрессии признака методом межвидовой гибридизации *C. maxima* Duch. и *C. moschata* Duch.

Научная новизна работы состоит в том, что впервые выявлен разнонаправленный эффект светового режима во время термической обработки, оказываемый на частоту индукции гиногенеза (использование 16-часового фотопериода способствует повышению частоты индукции гиногенеза *C. pepo* L., однако снижает частоту прямого эмбриогенеза *C. maxima* Duch., у эксплантов *C. moschata* Duch. не выявлено статистически достоверной разницы при изменении режима темновой культуры на режим фотопериода 16/8 ч.); впервые показана эффективность использования питательной среды В5 в культуре изолированных семязачатков *C. maxima* Duch., заключающаяся в повышении частоты прямого эмбриогенеза; впервые установлено, что замена агара (7 г/л) на фитогель (3,5 г/л) способствует увеличению частоты прямого эмбриогенеза *C. pepo* L., несмотря на снижение общей гиногенной отзывчивости; впервые показано, что добавление в индукционные питательные среды 500 мг/л гидролизата казеина способствует значительному повышению частоты индукции гиногенеза и

частоты прямого эмбриогенеза в культуре изолированных семязачатков *C. pepo* L., *C. maxima* Duch. и *C. moschata* Duch.; впервые отмечено отсутствие реакции эксплантов *C. pepo* L. и *C. moschata* Duch. в культуре изолированных семязачатков на изменение аминокислотно-пептидного состава индукционной среды СВМ; впервые показано негативное влияние добавления 50 г/л маннитола, как вещества-инициатора осмотического стресса, в состав питательной среды на частоту индукции гиногенеза *C. pepo* L. и *C. maxima* Duch.; впервые установлено снижение частоты индукции гиногенеза *C. pepo* L. и *C. maxima* Duch. в культуре изолированных семязачатков при добавлении 0,5 мг/л пантотената кальция в состав индукционной питательной среды; впервые выявлен доминантный характер наследования женского типа цветения при отдаленной гибридизации *C. maxima* Duch. и *C. moschata* Duch. и установлено влияние фактора цитоплазмы на проявление типа цветения.

Теоретическая и практическая значимость. В результате изучения влияния режимов предобработки завязей (32°C, 4°C в течение 48 час.), режимов обработки семязачатков в культуре *in vitro* (32°C, 4°C в течение 2 и 4 сут.) выявлено отсутствие эффективности использования температуры в качестве фактора регуляции гиногенной способности семязачатков трех исследованных видов рода *Cucurbita* L. в связи с разнонаправленностью реакции эксплантов на изменение температурного режима, обусловленную высокой генотипспецифичностью и слабой зависимостью формирования эмбриокомпетентных семязачатков от температурного фактора; установлено преимущество использования в качестве эксплантов изолированных семязачатков и мацерированных сегментов в связи с конкуренцией соматических тканей завязи *C. pepo* L. при использовании фрагментов завязей; показана возможность усовершенствования технологии производства удвоенных гаплоидов *C. pepo* L. в культуре изолированных семязачатков путем добавления в состав индукционной питательной среды СВМ 500 мг/л гидролизата казеина, изменения концентрации сахарозы (40 г/л), исключение из состава среды пантотената кальция (0,5 мг/л), а также замена индукционной питательной среды на среду В5; показана возможность управляемо осуществлять межгеномную интрогрессию контролирующих тип цветения генов из генома *C. moschata* Duch. в геном *C. maxima* Duch. с созданием новых генетических источников признака женский тип цветения.

Достоверность результатов исследований. Полученные Соловьевой Ю.А. научные результаты и выводы являются обоснованными и достоверными и обеспечиваются высоким уровнем теоретического и методического обоснования с использованием научных трудов ведущих отечественных и зарубежных ученых. Выбранные методические подходы адекватны, использованы правильно, объем экспериментального

материала достаточен. Достоверность результатов подтверждается статистической обработкой данных с использованием дисперсионного анализа и t-критерия Стьюдента.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из основных разделов, включающих введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты и заключение. Работа представлена на 141 странице. В работе присутствуют 16 таблиц, 22 рисунка, 2 приложения. Библиографический список включает 163 источника. В первой главе проведен анализ литературы, включающей вопросы влияния факторов на индукцию гиногенеза и частоту эмбриогенеза в культуре изолированных семязачатков представителей рода *Cucurbita* L. с оценкой возможности их применения для оптимизации технологии производства удвоенных гаплоидов и особенностей получения межвидовых гибридов в пределах рода. Во второй главе описаны материалы и методы, которыми автор пользовался в процессе выполнения работы. Третья глава включает результаты проведенных исследований, на которых построены выводы диссертационной работы.

Апробация работы. По материалам диссертации опубликовано 6 научных работ, в том числе 3 в рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ, 3 статьи в сборниках докладов и тезисов, также подана 1 заявка на выдачу патента на изобретение. Результаты диссертационной работы доложены и обсуждены на 2-х международных и 2-х всероссийских конференциях.

Вопросы и замечания по диссертационной работе:

При изучении диссертационной работы и автореферата Соловьевой Юлии Александровны возникли некоторые замечания и пожелания:

1. В работе содержится ряд глав, которые представляют высокий научный интерес, но тем не менее напрямую не относятся к теме исследования и в данной диссертации являются лишними и затрудняющими понимание ее сути и концепции (отдалённая гибридизация, спасение зародышей, изучение отдалённых гибридов, анализ наследования женского типа цветения).

2. Автору следовало бы отразить данные по частоте укоренившихся растений, частоте растений, завязавших семена от самоопыления, а также информацию о последующей работе с гаплоидными растениями. Также была бы интересна информация о получении потомства у тетраплоидных растений, которая представляет большой интерес при селекционно-генетических исследованиях.

3. При описании морфологического изучения потомства, полученного от гиногенных растений следовало указать количество истинных удвоенных гаплоидов и растений, сформировавшихся из соматических тканей.

Перечисленные замечания не умаляют научной значимости полученных автором результатов и практической ценности выполненной работы. К очевидным достоинствам работы можно отнести:

1. Несомненным преимуществом работы является всестороннее и многогранное изучение факторов, влияющих на формирование гиногенных растений-регенерантов у рода *Cucurbita*, включающее в себя стрессовые предобработки, составы питательных сред и условий культивирования. Комплекс изученных факторов является отличным базисом для составления высокоэффективных протоколов создания линий удвоенных гаплоидов рода *Cucurbita*.

2. Большой интерес в данной работе представляет использование такого типа экспланта как «мацерированные сегменты завязей». Данный тип экспланта не является широко распространенным в биотехнологии, в связи с чем использование его в работе достаточно ограничено. Демонстрация его высокой эффективности в индукции прямого эмбриогенеза, представленная в данной работе, может представлять интерес в увеличении эффективности гаплоидных технологий не только для рода *Cucurbita*, но и для других представителей семейства Cucurbitaceae.

3. Высокой оценки заслуживает описание изучения расщепления потомства от полученных гиногенных растений для анализа гетерозиготности и гомозиготности полученных линий. В исследовательских работах такой оценкой часто пренебрегают, хотя она является достаточно простой, доступной и точной.

Заключение по диссертационной работе. Диссертация Соловьевой Юлии Александровны по теме «Изучение и оптимизация технологии производства удвоенных гаплоидов растений рода *Cucurbita* L.» представляет собой законченную научно-квалификационную работу, в которой содержится решение задачи, имеющей значение для развития селекции и семеноводства растений рода *Cucurbita* L. Полученные результаты и выводы являются значимыми для науки и практики. Содержание автореферата отражает основные положения диссертации. Диссертационная работа отвечает критериям, установленным «Положением о присуждении ученых степеней» от 24.09.2013 № 842, раздел II, п. 9-14, а ее автор, Соловьева Юлия Александровна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата сельскохозяйственных наук по специальности 4.1.2. Селекция, семеноводство и биотехнология растений.

Отзыв рассмотрен и обсужден на заседании лаборатории прикладной геномики и частной селекции сельскохозяйственных растений 02 декабря 2024 года, протокол № 02/12 кн от 02.12.2024 г.

Дивашук Михаил Георгиевич



Кандидат биологических наук по специальности 03.00.15 - генетика, ведущий научный сотрудник, заведующий лабораторией прикладной геномики и частной селекции сельскохозяйственных растений Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии» (ФГБНУ ВНИИСБ) 127550 Москва, ул. Тимирязевская, д. 42 8-499-976-65-44, E-mail:iab@iab.ac.ru



Подпись

Заверяю

Учасьи секретарь ФГБНУ ВНИИСБ

Александр Георгиевич

М.Д. Дивашук

2024 г.