

О Т З Ы В

официального оппонента на диссертацию Зайцевой Юлианны Геннадьевны "Особенности морфогенеза и размножения *in vitro* некоторых представителей рода *Rhododendron L.*", представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.01 - ботаника

Представленная на отзыв диссертационная работа Ю.Г. Зайцевой выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Центральном ботаническом саду СО РАН. Она изложена на 128 страницах машинописного текста и состоит из списка сокращений, введения, 6 глав, выводов, списка литературы, включающего 214 источников, в том числе 159 – на иностранных языках, приложения. Диссертация содержит 15 таблиц, 26 рисунков.

Актуальность избранной темы. Не вызывает сомнения, что проведенные автором исследования являются вполне актуальными. Данная научная работа в основном затрагивает вопросы экспериментальной ботаники. В то же время она имеет определенный теоретический интерес для познания фундаментальных основ морфогенеза растений. Как известно, культура клеток высших растений *in vitro* представляет большие возможности для моделирования процессов, которые определяются взаимодействием условий внешней среды и генетической программы онтогенеза. В этой связи выявление особенностей морфогенеза высших растений в условиях *in vitro*, разработка технологий быстрого клонального микроразмножения, позволяющая сохранить без генетических изменений генотипы редких и ценных видов, является насущной и своевременной задачей.

Автор диссертации вполне обоснованно поставила целью своих исследований выявление особенностей органогенеза побегов *in vitro* морозоустойчивых видов и сортов рододендронов и разработку эффективных технологий их клонального микроразмножения.

Для достижения цели автором поставлены следующие задачи исследований:

1. создать системы регенерации побегов из проростков, листовых и флоральных эксплантов с использованием различных регуляторов роста;
2. исследовать влияние тидиазулона на процессы инициации морфогенеза в культуре *in vitro*;
3. установить тип и последовательность этапов морфогенеза из листовых эксплантов на основе морфогистологического анализа;
4. разработать протоколы клонального микроразмножения морозоустойчивых видов и сортов рода *Rhododendron*,

включающие эффективные приёмы укоренения и адаптации регенерантов.

Поставленные автором задачи успешно им выполнены. Это отражено как в изложении экспериментального материала по главам диссертации, так и в выводах.

Научная новизна работы. Диссертационная работа Ю.Г. Зайцевой имеет достаточную научную новизну. Она заключается в том, что впервые проведена оценка морфогенетического потенциала различных типов эксплантов в зависимости от действия регуляторов роста и генотипов рододендронов. Установлена эффективность использования синтетического регулятора роста – тидиазурона, путем импульсной обработки или при внесении в среды для стимуляции побегообразования в культуре *in vitro*. Впервые проведен гистологический анализ хронологической последовательности этапов морфогенеза при регенерации побегов из листовых эксплантов *R. sichotense* и *R. carawbiense* «Granddiflorum».

Практическая значимость. Разработаны протоколы клонального микроразмножения с использованием различных типов эксплантов морозоустойчивых представителей рода рододендрон: *R. dauricum*, *R. sichotense*, *R. schlipenbachii*, *R. catawbiense* «Granddiflorum» и *R. «Pohjola's Dauther»*, включающие получение стерильных культур, разработку и оптимизацию состава индукционных сред для запусков процессов прямого органогенеза, укоренение и адаптацию регенерантов к условиям *ex vitro*. Использование импульсной обработки регуляторами роста, а также предкультивирование на безгормональных средах позволяет существенно сократить продолжительность некоторых этапов клонального микроразмножения. Оптимизирован процесс укоренения и адаптации регенерантов к условиям *ex vitro*. Созданная эффективная система регенерации из листовых эксплантов является основой для дальнейшего получения новых форм и сортов рододендронов.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций.

Достоверность и обоснованность лично автором проведенных научных исследований основана на большом фактическом материале. Научные положения, выводы и рекомендации аргументированы статистически достоверными экспериментальными данными. Они не вызывают сомнения.

Диссертация Ю.Г. Зайцевой производит очень благоприятное впечатление хорошим литературным языком и оформлением цветными рисунками, которые отличаются превосходным качеством, а также отсутствием опечаток и погрешностей.

В качестве **положительных сторон** проведенной автором работы также хочется отметить следующие.

В **главе 1** (обзор литературы) автор дает достаточно полный обзор информации по всем вопросам, затронутым в диссертации. Все это позволило обосновать актуальность, новизну, методы исследований проведенной работы.

В **главе 2** автор подробно описала материалы и методы исследований. Объектами исследований послужили 3 дикорастущих вида *Rhododendron* (семена 2011 г. сбора представлены Ботаническим садом-институтом ДВО РАН): *R. dauricum* L., *R. sichotense* Pojark., *R. schlippenbachii* Maxim. и 2 красивоцветущих сорта *R. catawbiense* «Granddiflorum» и *R. «Pohjola's Dauther»*. Выполнен большой объем исследований.

Глава 3 посвящена изучению морфогенного потенциала семян некоторых представителей рода *Rhododendron* в культуре *in vitro*. Убедительно доказано, что семена двух дикорастущих видов *R. dauricum* и *R. schlippenbachii* имеют высокие показатели общей всхожести и энергии прорастания, но у второго вида они ниже. Для семян исследуемых видов характерен неглубокий физиологический тип эндогенного покоя (тип В₁) согласно классификации М.Г. Николаевой (1985). Выявлен лучший вариант питательной среды с 100-процентной жизнеспособностью эксплантов. Присутствие в среде тидиазурина (ТДЗ) в концентрации 1,0 мкМ не только снимает апикальное доминирование, но и вызывает адвентивное побегообразование у 50 % эксплантов *R. dauricum* и 90 % у *R. schlippenbachii*, что свидетельствует о видоспецифичности морфогенного потенциала у рододендронов. Адвентивные почки имеют больший потенциал для размножения, чем пазушные меристемы. В результате разработаны протоколы клонального микроразмножения *R. dauricum* и *R. schlippenbachii*.

В **главе 4** представлены особенности регенерации побегов *de novo* из листовых эксплантов *R. sichotense* и *R. catawbiense* путем формирования «протуберанцев» на адаксиальной стороне листа или же через стадию образования эмбриоидоподобных структур. Разработаны способы получения максимального процента регенерации *de novo* и развития нормальных побегов при культивировании на оптимальной питательной среде с добавлением ТДЗ или после импульсной обработки ТДЗ. В результате проведенного гистологического анализа впервые выявлены видовые различия прохождения этапов морфогенеза у листопадных и полувечнозеленых рододендронов.

В **главе 5** рассмотрены особенности регенерации побегов *de novo* из флоральных элементов. Сделанные выводы позволили углубить представления о морфогенетическом потенциале *in vitro* тканей и органов цветков для *R. dauricum*, *R. sichotense* Pojark., *R. «Pohjola's Dauther»*. Разработан оригинальный метод введения в культуру флоральных эксплантов с

использованием предкультивирования на безгормональной среде. Показано также, что такое предкультивирование позволяет ускорить получение морфогенного ответа и увеличить частоту регенерации после индукции адвентивного побегообразования на цветоножках.

В главе 6 дано убедительное научное обоснование оптимизации системы укоренения исследуемых рододендронов с использованием импульсной обработки регенерантов индолил-масляной кислотой и с последующим переносом растений в условия *ex vitro* на смесь торфа и песка (1:1). В результате удалось увеличить выход адаптированных растений с хорошо развитой корневой системой и сократить сроки получения качественного посадочного материала.

Из выше изложенного видно, что диссертация Зайцевой Ю.Г. представляет собой законченное исследование, имеющее актуальность, научную новизну и практическое применение.

На наш взгляд, выводы диссертации в целом и общем соответствуют поставленной цели и задачам исследований.

Структура и содержание реферата соответствуют таковым в диссертации.

В диссертации Зайцевой Ю.Г. **имеется ряд несущественных недостатков**, которые можно представить скорее в виде пожеланий:

1. При оформлении рисунков 12, 13, 24, 97 для наглядности достоверности различий вариантов опыта желательно было бы рассчитать и показать доверительный интервал.

2. На рисунке 18 следовало было бы дать буквенные обозначения имеющихся тканей и морфогенных структур.

3. Непонятен выбор концентрации 148 мкМ для ИМК в питательной среде при импульсной обработке при укоренении регенерантов в условиях *in vitro*. Чем обусловлена такая точность?

4. В протоколе для *R. sichonense* пропущено описание этапа получения стерильной культуры из листовой пластинки.

В заключение хочется подчеркнуть, что, несмотря на замеченные мелкие недочеты в диссертационной работе Зайцевой Ю.Г., проведенные авторские исследования в области экспериментальной и теоретической ботаники для рода *Rhododendron L.* заслуживают высокой оценки. Они имеют существенное значение для сохранения, а также ускоренного размножения ценных для интродукции зимостойких листопадных и полувечнозеленых видов и сортов. Автору удалось предложить для практического использования оригинальные протоколы клонального микроразмножения трех видов и двух сортов, позволяющие к определенному сроку получать большое количество генетического материала для последующего использования его как в целях

ландшафтного декорирования, так и для селекционной генетической трансформации.

Опубликовано 7 статей по теме диссертации, том числе 2 статьи в рецензируемых изданиях из списка ВАК. В статьях достаточно полно отражено содержание диссертации. Работа хорошо апробирована на всероссийском и международном уровнях.

Диссертация Зайцевой Юлианны Геннадьевны **соответствует** критериям, установленным Положением ВАК о порядке присуждения ученых степеней. **Соискатель заслуживает** присуждения ей искомой ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.01 – ботаника.

Заведующая лабораторией биотехнологии
и цитологии ФГБНУ «НИИСС»
доктор биологических наук,
старший научный сотрудник

О.В. Мочалова

4 октября 2015 г.

Подпись О.В. Мочаловой удостоверяю:
Зам. директора по научной работе

Ю.А. Зубарев

Мочалова Ольга Владимировна,
656045, г. Барнаул 45, Алтайский край
Змеиногорский тракт 49
ФГБНУ «НИИСС»
Тел.: 8-(3852)-685065, 8-909-506-28-71
e-mail: mochalov.olga@yandex.ru
Заведующая лабораторией биотехнологии и цитологии
доктор биологических наук,
старший научный сотрудник

Федеральное агентство научных организаций
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ «НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
САДОВОДСТВА СИБИРИ ИМЕНИ М.А. ЛИСАВЕНКО» (ФГБНУ «НИИСС»)