

«УТВЕРЖДАЮ»  
ВрИО директора  
Федерального государственного  
бюджетного учреждения науки  
Уфимского Института биологии  
Российской академии наук, д.б.н.

В.Б. Мартыненко  
2016 г.

### ОТЗЫВ

ведущей организации по диссертации Динары Серыкбаевны Мурасевой  
«РАЗМНОЖЕНИЕ И СОХРАНЕНИЕ *IN VITRO* РЕДКИХ И ЭНДЕМИЧНЫХ  
ВИДОВ РОДА *FRITILLARIA* L.)», представленной на соискание ученой  
степени кандидата биологических наук по специальности  
03.02.01 – «Ботаника»

Биотехнология сохранения растений – новое перспективное направление решения проблемы сохранения как фиторазнообразия, так и биоразнообразия в целом. Особенно востребованы разработки стратегии сохранения генофонда редких, находящихся под угрозой исчезновения и эндемичных растений на основе создания в условиях *in vitro* коллекций банков их культур. Активное развитие этого направления обусловлено наличием достаточно большого арсенала знаний в области междисциплинарного изучения особенностей этой группы растений. Следует подчеркнуть, что в основе различных междисциплинарных подходов в биотехнологии сохранения растений лежат именно ботанические исследования объектов. Большие успехи в этой области достигнуты в таких ботанических центрах Российской Федерации, как Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина РАН, Волгоградский ботанический сад, Центральный Сибирский ботанический сад СО РАН, Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, Никитский ботанический сад-Национальный научный центр РАН.

В то же время важно продолжать биотехнологические исследования по сохранению обширной группы редких и эндемичных растений. К такой группе относятся и растения рода *Fritillaria* из флоры гор Южной Сибири.

С этих позиций диссертационная работа Д.С. Мурасевой, посвящённая разработке систем микроразмножения и сохранения *in vitro* редких и эндемичных видов рода *Fritillaria* на основе морфо-гистологического анализа процессов регенерации объектов исследования, безусловно, актуальна и отвечает всем требованиям современной науки и практики.

Диссертация изложена на 149 страницах, состоит из введения, 5-ти глав, выводов, списка литературы. Работа подробно иллюстрирована, включает 30 рисунков.

Во **Введении** Д.С. Мурасева даёт общую характеристику темы исследования, её актуальности, чётко ставит цель и задачи работы, приводит основные положения, выносимые на защиту, указывает научную новизну и практическую значимость проведённых исследований.

Обзор литературы (**глава 1**), посвящённый критическому анализу работ по сохранению биоразнообразия геофитов методами *in vitro*, даёт достаточно полное представление о достижениях и проблемах мировой науки в области биотехнологии сохранения растений – новой междисциплинарной науки, дополняющей традиционные ботанические подходы.

Диссертант проанализировала большое количество литературных источников, посвящённых различным вопросам изучения морфогенеза и регенерации растений *in vitro* (от базовых концепций до подробной оценки различных путей морфогенеза и факторов, влияющих на отдельные этапы морфогенеза и регенерации), разработке систем регенерации геофитов *in vitro* с целью сохранения генетических ресурсов растений мировой флоры, оздоровления эксплантов и др.

Особое место Д.С. Мурасева уделила подробному анализу ранее выявленных другими авторами данных, посвящённых особенностям морфогенеза и регенерации представителей рода *Fritillaria* (таблица 1).

Всё это позволяет еще раз оценить актуальность диссертационного исследования и конкретный вклад Д.С. Мурасевой в решение ряда ещё сравнительно мало разработанных проблем биотехнологии сохранения *in vitro* представителей рода *Fritillaria*.

**В главе 2** («Объекты и методы исследования») изложена общая характеристика объектов исследования – редких и эндемичных видов двух подродов *Fritillaria* (сем. Liliaceae), произрастающих на территории Алтае-Саянской горной области. Большинство из них внесены в Красные книги РФ и регионов.

Д.С. Мурасева приводит детальное описание использованных методов исследования (культивирование *in vitro*, укоренение и адаптация к условиям *ex vitro*, морфо-гистологические исследования), а также способов статистической обработки полученных экспериментальных данных.

В целом, решение поставленных перед диссертантом задач проведено с использованием разнообразных методов, которые адекватны цели и задачам диссертационной работы.

**В главах 3-4** Д.С. Мурасева излагает фактический материал, который достаточно полно проиллюстрирован микрофотографиями и сведён в таблицы.

В результате исследования морфогенетического потенциала органов и тканей и особенностей регенерации *in vitro* изучаемых объектов Д.С. Мурасевой чётко выявлены видовые различия рябчиков по скорости индукции морфогенного ответа при использовании в качестве первичных эксплантов сегментов луковичных чешуй. Установлено, что морфогенетический потенциал флоральных эксплантов *F. meleagris* возрастает в ряду: тычинки – завязь – листочки околоцветника, при этом морфогенной областью является зона срастания тычинок, завязи и листочков

околоцветника. Большой научной удачей Д.С. Мурасевой можно считать впервые установленные успешность и перспективность использования флоральных органов рябчика шахматного как первичных эксплантов для введения в культуру *in vitro*.

Диссертантом достоверно показано, что на этапе собственно размножения генотипические различия изучаемых видов проявлялись в интенсивности (скорости) морфогенных процессов в ответ на гормональное воздействие. Однако общим для всех исследуемых рябчиков являлась большая эффективность БАП в сравнении с другими цитокининами.

Установлено, что для *F. dagana* и *F. sonnikovae* на стадии собственно размножения характерна прямая регенерация микролуковичек – геммогенез, а для *F. meleagroides* – не прямой геммогенез. Впервые диссертантом показано влияние минерального состава среды на путь морфогенеза (прямой геммогенез, не прямой гемморизогенез) у *F. meleagris* при использовании одинаковой комбинации регуляторов роста. Такой результат позволяет приблизиться к управлению путями морфогенеза *in vitro* растений в нужном биотехнологу направлении.

Отдельный блок исследований автор посвятила выявлению роли низких положительных температур на морфогенез и регенерацию *in vitro* эксплантов изучаемых рябчиков, иначе говоря – холодной стратификации этих процессов. Такого рода исследований в литературе представлено довольно много, но именно для рябчиков Д.С. Мурасева установила, что культивирование при низких положительных температурах на стадии укоренения способствует более интенсивному ризогенезу и росту луковичек, а также ускорению прорастания и развития растений-регенерантов при последующем переносе их в условия *ex vitro*.

Полученные данные не всегда соответствуют результатам, ранее полученным другими исследователями, как указывает и сама Д.С. Мурасева. В то же время диссертант убедительно, с привлечением морфологического

анализа и математического аппарата, доказывает верность полученных данных в условиях выполненных экспериментов.

Итоговая глава 5 посвящена практическому применению биотехнологических методов для размножения и создания коллекции *in vitro* растений рода *Fritillaria*. На основе разработанных диссертантом систем клонального микроразмножения создана коллекция *in vitro* 8-ми видов рябчиков, среди которых имеются редкие и эндемичные виды, занесённые в Красную книгу РФ (2008). В целом, Д.С. Мурасевой в результате подбора наиболее оптимальных питательных сред и условий культивирования разработана схема процесса размножения исследуемых видов рода *Fritillaria* в культуре *in vitro*, включающая выбор первичного экспланта, размножение и депонирование микролуковичек *in vitro*, укоренение и дальнейшую адаптацию растений-регенерантов к условиям *ex vitro* (рис. 30 диссертации).

Основные результаты диссертации полно отражены в 8 обоснованных выводах.

Список использованной литературы, составлений согласно действующему ГОСТ, включает достаточное количество работ отечественных и зарубежных авторов.

*В ходе анализа диссертационной работы возникли замечания, касающиеся главным образом оформления работы.*

1. *В диссертационной работе отсутствует отдельная глава «Заключение», и это право автора. Важно, что Д.С. Мурасева в каждом подпункте глав 3-5 проводит анализ полученных экспериментальных результатов в сравнении с аналогичными литературными данными. Но всё-таки хотелось бы видеть в конце диссертации некое обобщение с ответом на вопрос, защищены ли в итоге автором основные положения, выносимые на защиту.*

2. *Не ясно, почему обзорную статью Т.Б. Батыгиной в журнале «Физиология растений» (1999, т. 6, № 6) автор назвала «монографической сводкой» (стр. 15 диссертации). Кроме того,*

монографическая сводка «Эмбриология цветковых растений» (конкретно том 3 2000-го года издания, на который ссылается диссертант) опубликована под редакцией Т.Б. Батыгиной, но никак не под авторством Татьяны Борисовны, как это можно понять из текста диссертации (стр. 15).

3. Методика какого автора была использована при выборе реактива FAA (стр. 59 диссертации)? В практикуме З.П. Паушевой (1988), на который автор ссылается ранее, реактив именно с таким названием и такого состава не упоминается (стр. 24-26 практикума).

4. Аналогичный вопрос касается методики заливки объектов в paraplast (стр. 59 диссертации) – кто автор? По какой именно схеме шла заливка, сколько времени объект выдерживался в каждом растворе?

5. При анализе собственных экспериментальных данных считаем неуместным приводить ссылки на свою же публикацию («Мурасева и др., 2015», стр. 82, 99 диссертации), к тому же эту публикацию не следовало включать в список использованной литературы (стр. 120 диссертации). Такие ссылки были бы уместны, если бы данная публикация не была включена в автореферат, а именно в список работ, опубликованных по теме диссертации.

6. Считаем, что словосочетание «пробирочные растения» (стр. 10, 112 диссертации) и слово «микрорастения» (стр. 97, 111 диссертации) относятся к рабочему жаргону и вряд ли уместны в итоговом варианте диссертационной работы.

7. Отмечены досадные неточности в подписях к рисункам. Например, в подписи к рис. 21 диссертации указывается, что это «гистологический анализ...», тогда как на рисунке приведены микрофотографии гистологических срезов, а их анализ приводится к тексту диссертации. Кроме того, на наш взгляд, было бы правильнее давать оценку времени событий морфогенеза и регенерации растений в сутках, а не в днях. К тому же не на всех рисунках приводятся данные о

*времени культивирования (рис. 11, 20, 25, 28, 29 диссертации). Даже если время культивирования понятно по контексту, всё же было бы правильнее отразить этот показатель также и в подписи к рисунку.*

Однако указанные замечания отнюдь не умаляют общего хорошего впечатления от диссертационной работы Д.С. Мурасевой. В целом, на основании анализа экспериментальных данных, изложенных в диссертационной работе, в сравнении с мировой практикой аналогичных исследований, можно сделать вывод о том, что диссертант проделала большую плодотворную работу на актуальную тему. Во многом полученные ею данные отличаются новизной. Обоснованность выводов и достоверность полученных результатов обеспечены достаточным объемом фактического материала, обработанного с применением современных математических методов. Следует подчеркнуть, что проведенные Д.С. Мурасевой исследования представляют не только теоретический («кабинетный») научный интерес, но и имеют несомненный эвристический выход. Изложенные в диссертационной работе подходы могут быть использованы при разработке биотехнологий сохранения других редких, находящихся под угрозой исчезновения и эндемичных геофитов. Кроме того, полученные результаты могут быть использованы на биологических факультетах ВУЗов при разработке спецкурсов по современным методам охраны растений, включая биотехнологию сохранения растений, а также по экспериментальному морфогенезу растений *in vitro*.

**Автореферат** включает все основные положения диссертации.

Результаты исследований были представлены Д.С. Мурасевой на международных и Всероссийских конференциях и тем самым прошли достаточную апробацию. Материалы диссертации полно отражены в 10 публикациях, в том числе 3 статьях, опубликованных в журналах, включенных в перечень ВАК МОН РФ для опубликования основных научных результатов диссертации на соискание ученой степени. Публикация всех 10 работ нами подтверждается.

Таким образом, диссертационная работа «РАЗМНОЖЕНИЕ И СОХРАНЕНИЕ *IN VITRO* РЕДКИХ И ЭНДЕМИЧНЫХ ВИДОВ РОДА *FRITILLARIA* L.)» - это завершённое исследование на актуальную тему, представляющее несомненный научный интерес. Диссертация является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение задач, имеющих существенное значение для разработки проблем ботаники, в частности, систем размножения цветковых растений, а также сохранения редких и эндемичных видов растений методами культуры *in vitro*.

Работа соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук согласно п. 9 раздела II положения «О порядке присуждения учёных степеней», утверждённого постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 г. (с изменениями согласно постановлению Правительства РФ № 748 от 02 августа 2016 г.), а её автор, Мурасева Динара Серыкбаевна, заслуживает присуждения учёной степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.01 – ботаника.

Отзыв заслушан и утверждён на заседании лаборатории экспериментальной эмбриологии растений Федерального государственного бюджетного учреждения науки Уфимского Института биологии Российской академии наук 14 сентября 2016 г., протокол № 5.

Заведующая лабораторией экспериментальной эмбриологии растений,  
доктор биологических наук (03.02.01 – ботаника), профессор

Круглова Наталья Николаевна

Ведущий научный сотрудник лаборатории экспериментальной эмбриологии растений, кандидат биологических наук (03.01.05 – физиология и биохимия растений)

Сельдимирова Оксана Александровна

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Уфимский Институт биологии Российской академии наук; 450054, г. Уфа, пр. Октября, д. 69; тел./факс: +7(347)235-62-47; e-mail: [ib@anrb.ru](mailto:ib@anrb.ru); <http://ib.anrb.ru>