

О Т З Ы В

официального оппонента на диссертацию **Мурасевой Динары Серыкбаевны** "**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

Представленная на отзыв диссертационная работа Д.С. Мурасевой выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Центральном ботаническом саду СО РАН. Она изложена на 149 страницах машинописного текста и состоит из списка сокращений, введения, 5 глав, выводов, списка литературы, включающего 315 источников, в том числе 248 – на иностранных языках, приложения. Диссертация содержит 16 таблиц, 30 рисунков.

Актуальность избранной темы. Не вызывает сомнения, что проведенные автором исследования являются вполне актуальными. Данная научная работа в основном затрагивает вопросы экспериментальной ботаники, стратегии сохранения природного биоразнообразия через биотехнологический подход. В частности, виды рода *Fritillaria* (рябчик) в силу внешней привлекательности, раннего цветения, лекарственного применения в природных популяциях находятся под угрозой исчезновения. Диссертация Д.С. Мурасевой имеет и 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 микоразмножения, позволяющая сохранить без генетических изменений генотипы редких и ценных видов, является насущной и своевременной задачей.

Автор диссертации вполне обоснованно поставила целью своих исследований провести морфогистологический анализ процессов регенерации редких и эндемичных видов рода *Fritillaria* и на его основе разработать высокоэффективные системы микоразмножения и сохранения *in vitro*.

Для достижения цели автором поставлены следующие задачи исследований:

1. выявить морфогенетический потенциал различных типов эксплантов (луковичных чешуй, флоральных органов) в культуре *in vitro*;
2. определить влияние гормональных, трофических и физических факторов на микоразмножение рябчиков;

3. провести морфогистологические исследования процессов регенерации побегов в культуре ткани;
4. разработать эффективные протоколы размножения и сохранения *in vitro* восьми редких и эндемичных видов рода *Fritillaria*.

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 Д.С. Мурасевой имеет достаточную научную новизну. Она заключается в том, что впервые проведена оценка морфогенетического потенциала различных типов эксплантов сибирских видов рябчика в зависимости от минеральной основы сред и экзогенных регуляторов роста. Показано, что исследуемые виды различаются по скорости индукции морфогенного ответа в тканях сегментов луковичных чешуй. Проведен гистологический анализ процессов регенерации в культуре луковичных чешуй *F. sonnikovae* и *F. meleagris*. Впервые использованы флоральные органы как первичные экспланты для введения в культуру ткани рябчика шахматного.

Практическая значимость. Разработаны эффективные методы введения в культуру *in vitro* видов рода *Fritillaria* с использованием в качестве первичных эксплантов луковичных чешуй и флоральных органов. Оптимизированы протоколы клонального микроразмножения восьми редких и эндемичных видов рода *Fritillaria*, включая подбор минеральных основ питательных сред, а также комбинации и концентрации экзогенных регуляторов роста. Определены оптимальные режимы укоренения и адаптации пробирочных растений *Fritillaria* к нестерильным условиям *ex vitro*. Установлено положительное влияние низких температур на дифференциацию луковицы и преодоление покоя при адаптации растений. Подобраны условия для длительного беспересадочного хранения культур в условиях замедленного роста и создана коллекция *in vitro* исследуемых видов.

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 Д.С. Мурасевой 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 4 редких и эндемичных вида *Fritillaria*, произрастающих на территории Алтае-Саянской горной области (*F. dagana*, *F. meleagris*, *F. meleagroides*, *F. sonnikovae*), а также и 4 других представителя этого таксона (*F. camschatcensis*, *F. crassifolia* subsp. *crassifolia*, *F. michailovskyi*, *F. ruthenica*) из других территорий Земного Шара. Выполнен большой объем исследований с использованием классических приёмов работы с изолированными тканями и органами растений.

Глава 3 посвящена изучению морфогенного потенциала органов и тканей редких и эндемичных представителей рода *Fritillaria* и особенностям регенерации растений в условиях *in vitro*. Убедительно доказаны видовые различия по скорости морфогенного ответа у разных видов рябчиков после подбора оптимальных приёмов введения луковичных чешуй в культуру *in vitro*. Показано, что регенерация луковичек у всех изученных видов проходит по пути прямого органогенеза. Эффективность регенерации зависит от применения холодной стратификации. Выявлен лучший вариант для использованных питательных сред ВДС и В₅, стимулирующий процессы регенерации. Установлено влияние минерального состава питательной среды и регуляторов роста (особенно БАП) на этапе собственно размножения для *F. sonnikovae*, *F. dagana*, *F. meliagris*, *F. meleagroides*. У последнего вида выявлен также непрямой путь морфогенеза через формирование каллуса при культивировании на всех вариантах питательных сред.

Вид рябчика *F. meleagris* был использован как модельный по определению оптимального режима стерилизации и морфогенетического потенциала флоральных органов (листочков околоцветника, завязи, тычинок). Выявлены наиболее эффективная индукционная среда и тип флорального экспланта на этапах введения в культуру *in vitro* и собственно размножения. Доказано, что минеральный состав питательной среды оказывает определяющее воздействие на путь морфогенеза рябчика шахматного.

Особенно ценным в диссертации Д.С. Мурасевой является проведение гистологического исследования путей морфогенеза в культуре луковичных чешуй у трех видов рябчика. Доказан путь прямого геммогенеза без стадии каллусообразования на примере модельного вида *F. sonnikovae* и непрямого гемморизогенеза при закладке эмбрионидных структур на поверхности каллуса в культуре луковичных чешуй *F. meleagris*.

В главе 4 подробно и убедительно представлены особенности укоренения и адаптации растений регенерантов к условиям *ex vitro*, которые обеспечивают преодоление покоя, успешную дифференциацию луковицы, активное формирование микролуковиц и корней. Установлено ускорение онтогенетического развития исследуемых видов рябчиков по сравнению с естественными условиями.

В главе 5 дано полное описание практического применения усовершенствованных автором приёмов биотехнологии для воспроизводства других ценных представителей рода *Fritillaria* (4 вида) и для создания коллекции *in vitro*. От одной донорской луковицы удалось получить не менее 30 микролуковиц каждого вида. Беспересадочный этап культивирования при поддержании коллекции восьми видов рябчиков составляет 9-12 месяцев.

Из выше изложенного видно, что диссертация Мурасевой Д.С. представляет собой завершённое 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 Мурасевой Д.С. **имеется ряд несущественных недостатков**, которые можно представить скорее в виде пожеланий:

1. При описании объектов исследования отсутствуют изображения (фотографии) четырех дополнительных не сибирских видов рябчика. В описании этих видов отсутствуют указания о том, какой тип размножения (семенной или вегетативный) у них преобладает.

2. При отсутствии конкретных протоколов размножения для всех изученных видов рода *Fritillaria* в приложении желательно было бы поместить обобщающую таблицу с рекомендациями на каждом этапе воспроизводства посадочного материала *in vitro* и *ex vitro*.

3. Данные по непрямому геммогенезу у вида *F. meleagroides* (С. 88) при 0,1 и 0,5 мкМ БАП желательно было отобразить в виде диаграммы с указанием доверительного интервала.

4. Вызывает сожаление отсутствие гистологического исследования при использовании флоральных элементов в качестве эксплантов для вида *F. meleagris*, у которого на поверхности каллуса обнаружены эмбриоидные структуры (С. 92).

В заключение хочется подчеркнуть, что, несмотря на замеченные мелкие недочеты в диссертационной работе Мурасевой Д.С., проведенные авторские исследования в области экспериментальной и теоретической ботаники для рода *Fritillaria* L. заслуживают высокой оценки. Они имеют существенное значение для сохранения, а также ускоренного размножения и реинтродукции редких и

эндемичных видов рябчика. Автору удалось предложить для практического использования оригинальные протоколы клонального микроразмножения восьми редких сибирских и других видов рябчика, позволяющие к определенному сроку получать большое количество генетического материала.

Опубликовано 10 статей по теме диссертации, том числе 3 статьи в рецензируемых изданиях рекомендованных ВАК. В статьях достаточно полно отражено содержание диссертации. Работа хорошо апробирована на всероссийском и международном уровнях.

Диссертация Мурсевой Динары Серыкбаевны **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».


Доктор биологических наук
(03.02.01 – «Ботаника»),
старший научный сотрудник,
заведующая лабораторией

Мочалова Ольга Владимировна

Лаборатория биотехнологии и цитологии
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт
садоводства Сибири имени М.А. Лисавенко»
(ФГБНУ «НИИСС»)
656045, г. Барнаул 45, Алтайский край
ул. Змеиногорский тракт 49
Тел.: 8-(3852)-685065, 8-909-506-28-71
e-mail: mochalov.olga@yandex.ru
сайт: www.niilisavenko.org

28 сентября 2016 г.

Подпись О.В. Мочаловой удостоверяю;
Ст. инспектор ОК

 С.В. Жданова