

ОТЗЫВ

официального оппонента кандидата сельскохозяйственных наук Тоболовой Галины Васильевны на диссертацию Бычковой Ольги Владимировны на тему: «Создание стрессоустойчивого материала твердой пшеницы методом клеточной селекции», представленную на соискание ученой степени кандидата сельскохозяйственных наук по специальности 06.01.05 – селекция и семеноводство сельскохозяйственных растений

Твердая пшеница является важнейшей продовольственной культурой, но в мировом производстве занимает небольшие посевные площади. Алтайский край один из крупнейших поставщиков высококачественного зерна, однако изменяющиеся природно-климатические условия региона ведут к снижению урожайности сортов твердой пшеницы. В связи с этим диссертационная работа Бычковой Ольги Владимировны, посвященная изучению и созданию адаптированных, соле- и засухоустойчивых генотипов твердой пшеницы методом клеточной селекции в культуре *in vitro* относится к **актуальным и приоритетным** исследованиям.

Научная новизна исследований заключается в том, что впервые были определены закономерности формирования в культуре *in vitro* стрессоустойчивых клеточных линий и регенерантов яровой твердой пшеницы. Проведены исследования направленные на выделение генотипов с высокой осмотической адаптацией. Впервые на основе пыльцевого анализа проведено изучение внутренней и внешней осмотической регуляции у полученных соматоклональных линий и выделены перспективные для селекции линии. Исследования проведены в течение трёх лет с 2014 по 2016 годы. Задачи исследований соответствовали поставленной цели.

Рассматриваемая диссертация представлена в виде рукописи объёмом 180 страниц печатного текста, состоит из списка сокращений и условных обозначений, введения, 4 экспериментальных глав, заключения и практических рекомендаций. Включает 22 таблицы и 38 рисунков. Приложение состоит из 22 таблиц, 1 рисунка и 2 актов о внедрении результатов диссертационной работы. Библиографический список содержит 390 источников, в том числе 186 – зарубежных авторов.

Содержание диссертации

Глава 1. Современные подходы к оценке засухоустойчивости сельскохозяйственных растений (Обзор литературы)

Глава занимает 26 страниц. Включает 1 таблицу и 2 рисунка. В ней приведены анатомо-морфологические и физиолого-биохимические механизмы засухоустойчивости растений. Освещены классические и современные методы оценки засухоустойчивости.

Глава 2. Условия, объекты и методы проведения исследований

Материал главы занимает 14 страниц и включает 1 таблицу и 5 рисунков. Для проведения исследований подобраны 6 сортов твердой пшеницы различного эколого-географического происхождения: Памяти Янченко, Оазис, Гордеиформе 752 (Алтайский НИИСХ, г. Барнаул); линия 1480-Д4 (Самарский НИИСХ, г. Самара); линии 12S1-14 и 12S2-24 (университет Хоэнхайм, г. Штудгард). Объектом исследования клеточной селекции служили зрелые и незрелые зародыши сортов твердой пшеницы. Для физиологической оценки стрессоустойчивости использовали семена и пыльцу 26 соматоклональных линий твердой пшеницы третьего поколения (R_3), родительскими генотипами которых являлись сорта Оазис и линия 12S2-24.

В главе представлены метеорологические условия за 2014-2016 годы и методы исследований.

Экспериментальная часть изложена в 3 и 4 главах диссертации.

Глава 3. Особенности формообразовательных процессов в культуре ткани яровой твердой пшеницы на селективных средах *in vitro*

Глава изложена на 43 страницах, включает 14 таблиц и 18 рисунков. В главе представлены результаты оптимизации технологии получения растений регенерантов в культуре *in vitro*, рассмотрены особенности формообразовательных процессов в культуре ткани в условиях осмотического и солевого стресса, влияние различных факторов на каллусогенные и морфогенетические процессы.

Показано, что использование зрелых зародышей мало эффективно для получения растений – регенерантов. Отбор клеточных линий *in vitro* устойчивых

к осмотическому стрессу следует проводить в культуре незрелых зародышей при концентрации в питательной среде хлорида натрия до 1,3%, ПЭГ-6000 – до 20%. Трехфакторный анализ показал, что образовательные процессы в культуре незрелых зародышей твердой пшеницы зависят на 23-49 % от наследственности сортов и 9-59 % от наличия стрессовых условий.

Глава 4. Физиологическая оценка стрессоустойчивости сомаклональных линий яровой твердой пшеницы

Глава представлена на 26 страницах, включает 6 таблиц и 13 рисунков.

В главе изложены результаты изучения влияния солевого и осмотического стрессов на показатели семян и проростков, оценки осмотической адаптации методом пыльцевого анализа. Проведенная физиологическая оценка развития семян и проростков определила сомаклональные линии с индексом интегративной устойчивости превышающим индекс исходных образцов. Использование дискриминантного анализа позволило автору выделить 14 генотипов с высокой и средней осмоустойчивостью, а применение пыльцевого анализа – подтвердить лучшие генотипы: R₃-С-14-2, R₃-С-67-2, R₃-П-11-2, R₃-П-67-6, которые предложены для селекции твердой пшеницы на соле- и засухоустойчивость.

Заключение по диссертационной работе аргументировано и статистически подтверждено.

Общее заключение по диссертации

Диссертантом лично проведены лабораторные исследования, полученные материалы проанализированы, обобщены и изложены в диссертации. Сделанные теоретические обобщения и заключение, достоверно подтверждены результатами статистической обработки.

Автореферат соответствует диссертационной работе и содержит основные результаты проведенных опытов.

По результатам исследований опубликовано 10 научных статей, две из которых напечатаны в рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ, одна – в журнале, индексируемом в базе данных Web of Scirnce. Результаты исследований были доложены: на Международных

конференциях (Бийск, 2014, 2015; Брянск, 2016; Барнаул, 2015) и на I Международном форуме студентов и молодых ученых (Барнаул, 2017).

Наряду с положительными результатами, в работе имеются некоторые недостатки. Замечания:

1. Почему сорт твердой пшеницы Памяти Янченко с вегетационным периодом 83-98 дней (36 с.) отнесен к среднеспелым, а сорт Оазис к среднепоздним с вегетационным периодом 81-95 дней (37 с.).
2. Достоверное снижение каллусогенеза, приведенное в тексте на странице 70 по данным таблицы 6 относится только к среде 20% NaCl, а не 20-25%.
3. Частота каллусогенеза в культуре зрелых зародышей яровой твердой пшеницы в зависимости от концентрации хлорида натрия от 0 до $23,0 \pm 1,4\%$ варьировала у сорта Оазис (74 с.).
4. Максимальную частоту каллусогенеза за три исследованных года имел не сорт Гордеиформе 752 (91,9%), а сорт Памяти Янченко – 97,9% (78 с.).
5. Уровень каллусогенеза в условиях солевого стресса у линии 12S2-24 в среднем за три года уменьшился не на 11,2%, а на 9,9% (80 с.)
6. Приведенная в тексте на странице 81 частота морфогенеза у сорта Памяти Янченко не соответствует данным таблицы 12.
7. На странице 82 приведено варьирование уровня морфогенеза в средах с добавлением 1,3% хлорида натрия по годам, а не по генотипам.
8. Уровень сформировавшихся морфогенных каллусов на среде NaCl относительно контроля, у линии 1480-Д4 составил 14%, а не 25,4% (рисунок 22, 52 с.).
9. Минимальное снижение частоты морфогенеза у генотипов Гордеиформе 752, Оазис, Л-1480-Д4, Памяти Янченко, приведенное на странице 83 не соответствует данным таблицы 12.
10. Максимальное варьирование частоты каллусогенеза, приведенное на странице 89 не соответствует данным таблицы 12.
11. По данным таблицы 13 в 2015 году уровень регенерации наряду с линией 12S-14 (91 с.) не снизил также сорт Оазис ($120 \pm 5,9\%$).

12. На рисунке 26 (95 с.) приведены индексы устойчивости показателей проростков к стрессовым факторам у исходных генотипов твердой пшеницы. Что обозначает «генотип» у А и В?

13. Площадь проекции цитоплазмы пыльцы, приведенной на странице 113 была меньше исходной не на 5,5%, а на 13,9%.

14. Добавление в 55% ПЭГ 10 mM хлорида калия увеличило площадь пыльцы в среднем по всем образцам не на 3,2%, а на 11,8% (113 с.).

15. В таблице 22 (115 с.) у сорта Оазис внутренняя осмотическая адаптация составляет 0,11, а не 1,10; C/B=10,5, а не 1,05.

16. В Приложении 23 (179 с.) показатель «длина проростка» не указано значение ПЭГ-6000.

Указанные замечания не снижают ценности выполненной работы. Считаю, что диссертация «Создание стрессоустойчивого материала твердой пшеницы методом клеточной селекции» является законченным научным исследованием и соответствует всем требованиям Положения ВАК России, а её автор Бычкова Ольга Владимировна заслуживает присуждения ученой степени кандидата сельскохозяйственных наук по специальности 06.01.05 – селекция и семеноводство сельскохозяйственных растений.

Официальный оппонент доцент кафедры технологии производства, хранения и переработки продукции растениеводства ФГБОУ ВО «Государственный аграрный университет Северного Зауралья», доцент, кандидат сельскохозяйственных наук,
г. Тюмень, ул. Республики, 7
tg60@mail.ru, 8-904-876-90-25

Тоболова Г.В.

Подпись Тоболовой Г.В. заверяю
Проректор по УВР ФГБОУ ГАУ Северного Зауралья



Абдразаков Р.И.

9 июня 2018 год