

ОТЗЫВ

официального оппонента кандидата сельскохозяйственных наук, старшего научного сотрудника отдела ягодных культур ФГБНУ «Федеральный научный центр имени Ивана Владимировича Мичурина» Брыксина Дмитрия Михайловича на диссертацию Земцовой Анны Яковлевны «Генетическая и биохимическая оценка сортообразцов облепихи различного эколого-географического происхождения в коллекции НИИ садоводства Сибири имени М.А. Лисавенко», представленную на соискание ученой степени кандидата сельскохозяйственных наук по специальности 06.01.05 – селекция и семеноводство сельскохозяйственных растений.

1.Актуальность избранной темы. Облепиха является одной из ведущих ягодных культур Алтайского края. Признанным мировым центром по селекции облепихи является НИИ садоводства Сибири имени М.А. Лисавенко, где создано 49 сортов этой культуры, а коллекция института является одной из наиболее многочисленных в мире и насчитывает порядка 50 тысяч гибридных семян и более 700 сортообразцов. В геноме сортообразцов, представленных в коллекции НИИСС, присутствуют источники из различных эколого-географических провинций, однако данных по геномному составу коллекции, ее видовой принадлежности, четкой научно обоснованной классификационной структуры до настоящего времени представлено не было. Недостаток исследований в этой области можно связать с относительной сложностью проведения генетического анализа растительного материала. Разработка и совершенствование методов фрагментного анализа ДНК растений, в частности RAPD, DAF, ISSR и др., в настоящее время открывают новую возможность для детального изучения генома. Подобные эксперименты проводились в Китае, Турции, Швеции, Индии, ряде других стран. Однако генетическое разнообразие облепихи на Алтае существенным образом отличается. В этой связи актуальными становятся две взаимосвязанные задачи: оптимизация методики ПЦР-анализа применительно к алтайскому генофонду и использование этого анализа для

систематической классификации коллекции облепихи НИИСС.

Облепиха относится к культурам, характеризующимся богатейшим биохимическим составом плодов. Основными направлениями использования её плодов являются фармакологическая и пищевая промышленность. Исследования в направлении более глубокого изучения процессов накопления биологически активных веществ, как в плодах, так и в других частях растения в настоящее время являются чрезвычайно востребованными. Детальная биохимическая характеристика группы сортообразцов в коллекции НИИСС, сама по себе представляет несомненный интерес.

В связи с вышеизложенным, генетическая и биохимическая оценка сортообразцов облепихи различного эколого-географического происхождения в коллекции НИИ садоводства Сибири имени М.А. Лисавенко приобретает особую актуальность.

2. Новизна исследования и полученных результатов. Автором диссертации, Земцовой Анной Яковлевной «Генетическая и биохимическая оценка сортообразцов облепихи различного эколого-географического происхождения в коллекции НИИ садоводства Сибири имени М.А. Лисавенко» впервые отработана методика ISSR-анализа для сортообразцов облепихи, произрастающих в условиях лесостепи Алтайского края. На основе ISSR-анализа показана степень генотипического разнообразия образцов облепихи различного эколого-географического происхождения в коллекции НИИСС. Проведена сравнительная оценка биохимического состава плодов облепихи различного эколого-географического происхождения, произрастающих в схожих почвенно-климатических условиях. Впервые показан биохимический потенциал изучаемых экотипов облепихи по содержанию таких веществ, как витамины группы В, жирные кислоты, β -ситостерин, α -, β -, γ -, δ -токоферол, α -, β -каротин, лютеин и ликопин.

3. Степень обоснованности и достоверности выводов и заключений соискателя, сформулированных в диссертации. Земцовой Анной

Яковлевной в диссертации на соискание ученой степени кандидата сельскохозяйственных наук «Генетическая и биохимическая оценка сортообразцов облепихи различного эколого-географического происхождения в коллекции НИИ садоводства Сибири имени М.А. Лисавенко» охвачен широкий круг вопросов:

- отработана методика ISSR-анализа для сортообразцов облепихи, произрастающих в условиях умеренно засушливой колючей степи Алтайского края;

- проведён ISSR-анализ образцов облепихи различного эколого-географического происхождения, произрастающих в схожих почвенно-климатических условиях на участках сортоизучения НИИСС;

- осуществлён кластерный анализ результатов генетических исследований в связи с уточнением классификационной структуры сортообразцов облепихи коллекции НИИСС;

- изучен биохимический состав плодов облепихи различного эколого-географического происхождения;

- дана оценка потенциальных возможностей использования отдельных элементов биохимического состава плодов облепихи для идентификации генотипов.

Данная работа позволяет получить объективную оценку селекционных и биологических исследований по облепихе. Диссертантом обобщён обширный экспериментальный материал, который обработан статистически, что подтверждает правильность сделанных выводов.

Представленные в диссертации данные, их анализ позволяют сделать вывод о том, что все поставленные задачи были выполнены, выдвинутые на защиту положения достаточно аргументированы. Выводы основаны на полученном экспериментальном материале, достоверность которого подтверждается первичной документацией и статистической обработкой данных.

4. Оценка содержания диссертации. Диссертантом Земцовой Анной Яковлевной в диссертации на соискание ученой степени кандидата сельскохозяйственных наук «Генетическая и биохимическая оценка сортообразцов облепихи различного эколого-географического происхождения в коллекции НИИ садоводства Сибири имени М.А. Лисавенко» на основе проведенных исследований сделано заключение:

1. Проведено комплексное генетико-биохимическое исследование форм облепихи различного эколого-географического происхождения в коллекции НИИСС, направленное на установление степени генетического сходства между различными экотипами, а также на раскрытие биохимического потенциала изучаемых сортообразцов.

2. Оработана методика ISSR-анализа для облепихи, произрастающей в условиях умеренно засушливой и колочной степи Алтайского края. Выделены 6 эффективных ISSR-маркеров (UBC 873, НВ 12, НВ14, 814, 17899А, 17899В) для анализа полиморфизма ДНК облепихи. Предложена оптимальная концентрация праймеров в количестве 2 мкл 10 мМ раствора. Установлена оптимальная температура отжига для каждого праймера. Рекомендовано для выделения ДНК из свежей растительной ткани листа облепихи использовать наборы Nucleospin Plant II.

3. На основе отработанной методики проведен ISSR-анализ 17 сортообразцов облепихи, относящихся к 10 различным экотипам. Показана принципиальная применимость метода ISSR-анализа при изучении генетического разнообразия облепихи, произрастающей на Алтае.

4. Использование различных подходов к интерпретации данных ISSR-анализа устойчиво подтверждает генетические различия между такими подвидами облепихи, как *mongolica*, *carpatica* и *fluviatilis*. Внутри подвида *mongolica* не установлено исключительно достоверных различий между экотипами. Вместе с тем чуйский экотип показал устойчивую генетическую схожесть во всех трех вариантах интерпретации, а катунский -- в двух вариантах из трех. Полагая, что определенные расхождения на филограммах

вызваны, прежде всего, гибридным происхождением исходного материала, мы склоняемся к принятию гипотезы о том, что подвид облепихи *Hipporhae rhamnoides* ssp. *mongolica* представлен более мелкими классификационными единицами – экотипами, с определенной, свойственной такому уровню классификации, степенью генетического сходства.

5. На основе биохимического анализа изучаемых сортообразцов облепихи показан уровень варьирования питательных и биологически активных веществ у различных экотипов и выделены формы с максимальным и минимальным содержанием растворимых сухих веществ, суммы сахаров, органических кислот, значению сахарокислотного индекса, витамина С, суммы полифенолов, витаминов группы В, масла, жирных кислот, β -ситостерина, α -, β -, γ -, δ -токоферолов, суммы каротиноидов, α -, β -каротина, лютеина и ликопина. Полученные результаты могут быть использованы селекционерами в работах, направленных на улучшение биохимического состава плодов облепихи.

6. Достоверно установлено, что некоторые биохимические показатели могут характеризовать принадлежность сортообразцов к определенному экотипу. Существенные различия по содержанию жирных кислот липидной фракции плодовой мякоти и семени отмечены для дунайского экотипа, принадлежащего к подвиду *carpatica*. Для остальных эколого-географических групп использование этого критерия не дало достоверных различий. Дополнительным показателем для идентификации может служить содержание органических кислот и полифенолов, количество которых у подвида *mongolica* в большинстве случаев значительно ниже по сравнению с другими изучаемыми подвидами. Сочетание отдельных витаминов группы В также может служить достоверным критерием принадлежности сортообразцов к определенному подвиду, и даже экотипу внутри подвида *mongolica*. Содержание токоферолов также может применяться при выявлении схожести или различия между сортообразцами разных подвидов, в частности, содержание δ -токоферола в липидах мякоти у

сортообразцов, не принадлежащих к подвиду *mongolica*, значительно выше, чем у представителей этого подвида. Для оценки принадлежности сортообразцов к определенному подвиду и экотипу внутри подвида *mongolica* можно использовать содержание β -ситостерина в липидах семени облепихи. Анализ данных по содержанию каротиноидов свидетельствует о варьировании этого показателя в плодах облепихи различных эколого-географических форм и может также являться критерием при идентификации сортообразцов.

7. Внутри подвида *mongolica* статистически достоверные отличия по содержанию питательных и биологически активных соединений установлены для бурятского экотипа, который существенно выделялся по ряду биохимических показателей, в связи с чем он рекомендуется для более детального изучения в направлении использования в селекционных программах по улучшению биохимического состава плодов.

Представленные в диссертации экспериментальные материалы, их анализ и интерпретация свидетельствуют о том, что цель и все задачи выполнены, выдвинутые на защиту положения достаточно аргументированы. Положения и заключение основаны на большом экспериментальном материале, достоверность которого неоспорима и подтверждается первичной документацией и статистической обработкой данных современными методами статистики с вероятностью 95-99 %.

5. Значимость для науки и практики выводов диссертанта. Новизна и направленная практическая значимость исследований Земцовой Анны Яковлевны достаточно весомы. Предложенная методика генетического анализа сортообразцов облепихи позволяет с высоким уровнем достоверности определять степень генетического сходства между растениями одного сорта, экотипа, подвида. Полученные в результате работы данные о генетическом разнообразии рода *Hippophae* L. могут быть использованы при решении вопросов систематики и филогении видов и подвидов рода *Hippophae* L. Работа дополняет собой развивающееся

направление в области изучения генетической variability рода *Hippophae* L. Биохимические исследования плодов облепихи представляют собой значимость для селекционного использования, в связи с установлением генотипов с ценным биохимическим составом плодов.

6. Соответствие работы требованиям Положения ВАК РФ, предъявляемым к диссертациям. Научные положения и заключение, изложенные в диссертации на соискание ученой степени кандидата сельскохозяйственных наук «Генетическая и биохимическая оценка сортообразцов облепихи различного эколого-географического происхождения в коллекции НИИ садоводства Сибири имени М.А. Лисавенко» и автореферате Земцовой Анны Яковлевны соответствуют требованиям п. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней» ВАК РФ, предъявляемым к кандидатским диссертациям на соискание ученой степени кандидата сельскохозяйственных наук и по пунктам 1 и 2 соответствует паспорту специальности 06.01.05 – селекция и семеноводство сельскохозяйственных растений.

Содержание диссертации в полной мере отражено в автореферате, основные результаты диссертационной работы в основном опубликованы в открытой печати.

7. Личный вклад соискателя. Соискатель самостоятельно и успешно провела исследовательские работы по генетической и биохимической оценке сортообразцов облепихи различного эколого-географического происхождения в коллекции НИИ садоводства Сибири имени М.А. Лисавенко

Диссертация содержит добротный фактический многолетний материал, полученный в течение 2014-2016 гг. Проведение исследований, анализ полученных результатов, сделанные на их основе выводы выполнены лично автором. Биохимические исследования проведены в лаборатории технологий переработки плодов и ягод ФГБНУ «НИИСС», а также лаборатории UBF GmbH, Германия. В лаборатории UBF GmbH анализ проводили на материале,

хранившемся 6 месяцев при температуре -25°C . Генетические исследования осуществлены в лаборатории биоинженерии АлтГУ совместно с Институтом химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН.

По теме диссертации опубликовано 6 печатных работ, 2 из которых в изданиях, рекомендованных Перечнем ВАК РФ.

8. Структура диссертации. Диссертационная работа изложена на 171 странице, состоит из введения, 4 глав, выводов, содержит 19 таблиц, 11 рисунков и 24 приложения. Список литературы включает 184 источника, из них 86 иностранных.

Наряду с несомненными достоинствами рассматриваемой диссертационной работы, в ней имеются и недостатки:

1. В разделе "Объекты и методы проведения исследований" целесообразно указать более подробное происхождение сортообразцов и гибридов иностранной селекции.

2. В работе следовало бы указать корреляционные связи погодных условий в период формирования и созревания плодов и изучаемых показателей биохимического состава плодов, после чего утверждение о незначительном влиянии погодных условий на накопление биохимических показателей в плодах, прозвучавшее в работе, было бы обоснованным.

3. В работу следовало бы включить раздел "Рекомендации для селекции" и отразить источники биохимических показателей для дальнейших селекционных исследований.

Заключение. В целом диссертация Земцовой Анны Яковлевны на соискание ученой степени кандидата сельскохозяйственных наук «Генетическая и биохимическая оценка сортообразцов облепихи различного эколого-географического происхождения в коллекции НИИ садоводства Сибири имени М.А. Лисавенко» выполненная лично многолетним добросовестным трудом, представляет собою решение научной проблемы, имеющей важное теоретическое и практическое значение в области биологии и селекции редких культур. Земцова Анна Яковлевна показала себя как

эрудированный, самостоятельный научный сотрудник, готовый решать важные научные проблемы в селекции и биологии садовых культур.

Диссертация является законченной научно - квалификационной работой. Она полностью отвечает требованиям ВАК РФ, пункты 9-14, предъявляемым к кандидатским диссертациям и заслуживает положительной оценки. Автор диссертации Земцова Анна Яковлевна, достойна присуждения ученой степени кандидата сельскохозяйственных наук по специальности 06.01.05 – селекция и семеноводство сельскохозяйственных растений

Официальный оппонент:

Старший научный сотрудник отдела ягодных культур Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр имени И.В. Мичурина»,

кандидат сельскохозяйственных наук

Брыксин Дмитрий Михайлович

1 июня 2017 года.

Федеральное агентство научных организаций (ФАНО России), Россия, 393774, г. Мичуринск, ул. Мичурина, 30

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение ФГБНУ «федеральный научный центр имени И.В. Мичурина» (ФГБНУ «ФНЦ им. И.В. Мичурина»)

Тел. (47545) 2-07-61, 2-03-26

Факс (47545) 2-07-61

E-mail: info@vniismich.ru

Web-site: http:// http://vniismich.ru

Подпись Брыксина Дмитрия Михайловича заверяю:

специалист по кадрам

ФГБНУ «ФНЦ им. И.В. Мичурина»



Л.Н. Радучай