

В диссертационный совет Д 220.038.04 по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук при ФГБОУ ВО «Кубанский государственный аграрный университет имени И.Т. Трубилина»

СОГЛАСИЕ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

Я, Белоус Оксана Геннадьевна, доктор биологических наук, главный научный сотрудник, заведующая лабораторией физиологии и биохимии растений Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Субтропический научный центр Российской академии наук» (ФИЦ СНЦ РАН), даю свое согласие выступить в качестве официального оппонента по диссертации Пузырновой Валентины Георгиевны на тему «Совершенствование клонального микроразмножения винограда для создания коллекции генофонда *in vitro*» по специальности 03.01.05 – физиология и биохимия растений (сельскохозяйственные науки) и предоставить отзыв в диссертационный совет в установленном порядке.

В соответствии с Федеральным законом от 27.07.2006.г. № 152-ФЗ «О персональных данных» настоящим даю согласие на обработку моих персональных данных в целях включения в аттестационное дело для защиты диссертации соискателя. Согласие распространяется на следующие персональные данные: фамилия, имя, отчество; ученая степень; ученое звание; шифр специальности, по которой защищена диссертация; место основной работы; должность; контактный телефон, e-mail; научные публикации.

Также подтверждаю, что даю согласие на размещение полного текста отзыва на диссертацию и сведений об официальном оппоненте на сайте (портале) ФГБОУ ВО «Кубанский государственный аграрный университет имени И.Т. Трубилина» и в информационно-телекоммуникационной сети «Интернет» с момента подписания настоящего согласия.

Приложение: сведения об официальном оппоненте

Доктор биологических наук
(по специальности 06.01.07 - Плодоводство, виноградарство),
главный научный сотрудник,
заведующая лабораторией физиологии
и биохимии растений



О.Г. Белоус

Председателю диссертационного
совета Д 220.038.04 на базе
ФГБОУ ВО Кубанский ГАУ
Т.Н. Дорошенко

Сведения об официальном оппоненте

по диссертационной работе Пузырновой Валентины Георгиевны
на тему «СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ КЛОНАЛЬНОГО МИКРОРАЗМНОЖЕНИЯ
ВИНОГРАДА ДЛЯ СОЗДАНИЯ КОЛЛЕКЦИИ ГЕНОФОНДА IN VITRO»,
представленной на соискание ученой степени кандидата
сельскохозяйственных наук
по специальности 03.01.05 – физиология и биохимия растений

Фамилия, Имя, Отчество	Белоус Оксана Геннадьевна
Ученая степень (с указанием шифра специальности научных работников, по которому защищена диссертация)	Доктор биологических наук 06.01.07 - плодоводство и виноградарство, ученая степень присуждена решением Высшей аттестационной комиссии Министерства образования и науки Российской Федерации от 15 января 2010 г.
Ученое звание	Доцент
Полное наименование организации в соответствии с уставом на момент представления отзыва	Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Федеральный исследовательский центр «Субтропический научный центр Российской академии наук» (ФИЦ СЦ РАН)
Наименование подразделения	Лаборатория физиологии и биохимии растений
Должность	Заведующая лабораторией, главный научный сотрудник
Список основных публикаций в рецензируемых научных изданиях за последние 5 лет (от 5 до 15 публикаций)	1. Abilfazova Yu., Belous O. Evaluation of the functional state of peach varieties (<i>Prunus persica</i> Mill.) when exposed hydrothermal stress to plants// Potravinarstvo Slovak Journal of Food Sciences, - vol. 12. - 2018. - No. 1, - p. 723-728. doi: https://doi.org/10.5219/974 2. Belous O., Platonova N. Accumulation and transformation of extractive substances in Krasnodar tea // E3S Web of Conferences. Сер.

"Topical Problems of Agriculture, Civil and Environmental Engineering, TPACEE 2020" 2020. С. 04026.

3. Omarova Z., Platonova N., Belous O., Omarov M. Evaluation of the physiological state of feijoa (*Feijoa sellowiana* Berg) in subtropical Russia. *Potravinarstvo Slovak Journal of Food Sciences*. 2020. Vol. 14. 286-291. <https://doi.org/10.5219/1290>

1. Белоус О.Г., Платонова Н.Б. Влияние экзогенных регуляторов роста на ростовые процессы и работу фотосинтетического аппарата растений карликового мандарина (*Citrus unshiu* Marc.) // *Садоводство и виноградарство*. 2020. № 6. С. 18–23.

2. Лагошина А.Г., Пчихачев Э.К., Белоус О.Г. Влияние регуляторов роста растений на функциональные процессы сельскохозяйственных культур (литературный обзор) // *Субтропическое и декоративное садоводство*. 2020. № 74. С. 120–131.

3. Кунина В.А., Белоус О.Г. состояние фотосинтетических пигментов листьев древесных растений в условиях городской среды // *Ученые записки Крымского федерального университета имени В.И. Вернадского. Биология. Химия*. 2020. Т. 6 (72). № 2. С. 108–118.

4. Рындин А.В., Белоус О.Г., Омаров М.Д., Абильфазова Ю.С. Оценка эффективности применения новых регуляторов роста в субтропическом садоводстве // *Проблемы агрохимии и экологии*. 2019. № 3. С. 34–38.

5. Белоус О.Г., Рындин А.В., Платонова Н.Б. Физиологическое состояние растений мандарина под влиянием экзогенных регуляторов роста растений // *Биология растений и садоводство: теория, инновации*. 2019. № 4 (153). С. 110–120.



О.Г. Белоус

О.Г. Белоус
октябрь 2021 г.

ОТЗЫВ

**официального оппонента доктора биологических наук, главного научного
сотрудника, заведующей лабораторией физиологии и биохимии растений
Белоус Оксаны Геннадьевны**

на диссертацию Пузырновой Валентины Георгиевны на тему:
«Совершенствование клонального микроразмножения винограда для
создания коллекции генофонда *in vitro*», представленную на соискание
учёной степени кандидата сельскохозяйственных наук по специальности
03.01.05 – физиология и биохимия растений.

Актуальность избранной темы

В последние годы большое внимание ученых сконцентрировано на
проблеме сохранения генофонда с целью быстрого размножения растений,
свободных от инфекций, а также для длительного и надежного хранения
генофонда вне действия на него глобальных экологических проблем.

При этом традиционных средств сохранения биологического разнообразия
растений уже недостаточно, в связи с чем встает необходимость исследований по
разработке и совершенствованию протоколов введения в культуру и длительного
содержания *in vitro* ценных сортов культур сельскохозяйственного назначения.

В связи с этим, изучение развития растений винограда при
культивировании в коллекции *in vitro*, разработка методик хранения коллекции
ценных сортов представляет несомненную актуальность.

Соискателем ученой степени поставлены теоретико-методологические
вопросы разработки научных основ хранения растений винограда в
коллекции *in vitro*, обеспечивающих продолжительное беспересадочное
хранение и высокую регенерационную способность растений.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Научная обоснованность определяется, прежде всего, логической
структурой исследования. Соискатель последовательно раскрывает проблему
кинетики роста растений под действием антибиотиков и углеводов, изучает и
анализирует известные достижения и теоретические положения других авторов в
соответствующей области.

В качестве цели диссертационного исследования соискателем указана
разработка стратегии среднесрочного хранения *in vitro* перспективных сортов
винограда, включенных в реестр селекционных достижений, допущенных к
использованию с учетом сортовых особенностей, состояния растений и
происходящих морфогенетических процессов, для создания генетического банка
стерильных культур.

Ознакомление с содержанием диссертации показало, что
сформулированные в исследовании задачи и выдвигаемые на защиту основные

научные положения в полной степени соответствуют поставленной цели и обеспечивают ее достижение, что подтверждает обоснованность результатов исследования.

Следует подчеркнуть последовательность в изложении материала, что позволило соискателю добиться целостности диссертации и обеспечить аргументированность всех положений и выводов. Представленные в работе авторские научные положения хорошо проиллюстрированы с помощью графиков и таблиц.

Достоверность и новизна исследования, полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Достоверность выводов и результатов обеспечена использованием в качестве теоретической и методологической базы фундаментальных научных трудов зарубежных и отечественных авторов, монографий российских и зарубежных ученых, статей из периодических изданий, посвященных проблеме обеспечения замедленного роста растений при содержании генофонда в условиях коллекции *in vitro*. Перечисленные труды послужили базой для обобщения накопленных знаний в исследуемой области и отправной точкой для выявления актуальных задач и выработки методологии их решения. В ходе исследования диссертантом использован 181 источник, включая 87 - иностранных авторов.

Применение соответствующего инструментария, в качестве которого использовались методики планирования и проведения исследований, а также, применение системного подхода и статистических методов обработки информации подтверждают достоверность результатов диссертационного исследования.

Выводы и результаты, полученные диссертантом, обоснованы и достоверны, так как вытекают из анализа исследований, проведенных лично автором, постановкой необходимого числа экспериментов, данные которых проанализированы с помощью методов математической статистики.

Значимость для науки и практики полученных автором результатов

К числу достоинств диссертационной работы Пузырновой В.Г. следует отнести тот факт, что она имеет не только теоретико-методологическое, но и практическое значение.

Теоретическая значимость заключается в выявлении научных основ кинетики роста растений под действием антибиотиков и углеводов. Результаты научных исследований являются основой для совершенствования существующих и создания новых технологий и протоколов хранения растений в коллекциях *in vitro*. Соискателем разработана стратегия (схема) и методология создания банка асептических культур.

Практическая значимость определяется тем, что полученные результаты позволяют усовершенствовать биотехнологию создания и содержания коллекций винограда *in vitro*. Проведенные соискателем исследования позволяют изменить

кинетику роста культуры, увеличивают временной интервал между субкультивированиями, что обеспечивает длительное беспересадочное хранение растений винограда исследуемых сортов; оптимизировать существующие способы ввода в культуру *in vitro*, микроразмножения и хранения. Создан протокол введения и содержания в коллекции *in vitro* сортов винограда Каберне Совиньон и Фиолетовый ранний, что способствует производству оздоровленного сертифицированного посадочного материала.

Оценка содержания диссертации, ее завершенности

В структуре работы можно условно выделить три части. Первая глава диссертации – теоретическая – посвящена анализу литературы по введению в культуру *in vitro*. Уделено внимание вопросам микроразмножения растений. Соискателем рассмотрены методики длительного хранения и возможность применения антибиотиков для оздоровления материала.

Во второй главе «Методика исследований» описаны методики и условия проведения экспериментов и наблюдений; описаны этапы микрклонального размножения и сохранения в культуре *in vitro* сортов винограда, факторы и параметры хранения генофонда. Описаны условия микрочеренкования и приготовления питательных сред, представлена схема опыта.

Третья глава «Результаты исследований» – практическая – посвящена вопросам формирования банка оздоровленных растений, включая изучение влияния антибиотиков и препаратов регуляторного действия на приживаемость и регенерацию меристем на этапе ввода в культуру. Пузырновой В.Г. определено влияние места расположения эксплантов на приживаемость и развитие меристем, а также влияние места расположения микрочеренков на приживаемость и сохранность растений. Рассмотрена возможность применения антибиотиков для оздоровления и регулирования ростовых процессов. Изучено осмотическое действие углеводов на ростовые процессы мериклонов.

Подводя итог проведенному исследованию, соискатель предлагает стратегию (схему) и методологию создания банка асептических растений винограда, основанную на выборе места расположения эксплантов, применении хемотерапии и осуществлении контроля за состоянием растений винограда в процессе хранения.

Конкретные рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации

Соискателем ученой степени в ходе проведенных исследований установлены особенности оптимизации регенерационной способности меристем; рекомендовано использование антибиотика Цефотаксим в концентрации 200 – 300 мг/л для оздоровления материала при подготовке к микроразмножению

и углеводов для ингибирования ростовых процессов в длительном хранении коллекции.

По результатам исследований соискателем ученой степени опубликовано 11 научных работ, в том числе 3 публикации в рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК РФ, и две – в сборниках, индексируемых системой Web of Science.

Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации

Отмечая теоретическую и практическую значимость диссертационного исследования Пузырновой В.Г., необходимо отметить следующие недостатки и спорные моменты.

1. В ссылках по тексту принято использовать или квадратные скобки с номерами ссылок, или фамилии авторов с упоминанием года ссылки. Нет необходимости прописывать инициалы авторов при написании ссылок.
2. В задачах исследований (пункт первый) указан поиск и изучение антибиотиков нового поколения, однако, в исследовании использованы известные препараты. В чем заключался поиск?
3. Третий и четвертый пункт задач (изучение морфогенеза и разработка протокола морфогенеза) можно было бы объединить, логически это оправданно.
4. Очень много положений вынесено на защиту, с учетом того, что многие из положений узконаправленны (например, положение 6 и 7), их тоже можно было бы объединить.
5. Термины индолмасляная и индолуксусная не совсем корректны – правильнее индолилуксусная и индолилмасляная, или в данном случае – индол-бутановая.
6. В составе сред (стр. 19) используется то знак *, то ·, что не допустимо. Правильно использовать ·.
7. В главе «Методика исследований» нет описания физиолого-биохимических методов.
8. В главе «Результаты исследований» описание антибиотиков следовало бы перенести в методическую часть.
9. На стр. 35 в информации о создании коллекции *in vitro* дикорастущих видов барбариса в Карагандинском университете дана ссылка на исследования сотрудников Сочинского научного центра, которые вели работы по хризантеме.
10. Выводы по Цефотаксиму (стр. 48) противоречат таблице и ее трактовке (стр. 47). Также и по результатам влияния концентраций Рибавирина.
11. При изучении приживаемости микрочеренков из разных частей растений и разных сортов следовало бы установить причину различий, используя параметры физиологического состояния или биохимического состава (например, содержание гормонов).

12. В тексте при изучении влияния антибиотиков идет речь об их действии на обмен веществ и развитие, но нет экспериментального подкрепления с использованием физиолого-биохимических методов.
13. При изучении осмотиков желательнее было бы использовать такой физиолого-биохимический параметр состояния растений, как содержание пролина.
14. В разделе по изучению Флорона этот препарат указан как ингибитор, что не совсем корректно, так как Флорон является классическим стимулятором. В данном случае ингибирование развития произошло, по моему мнению, из-за высокой концентрации препарата что, однако, не делает его ингибитором в классическом понимании этого класса регуляторов.
15. В заключении приведено 15 пунктов, что слишком много, тем более что два пункта (пункт 1 и 2) не вытекают из проведенных исследований, а являются общепризнанными.
16. В рекомендациях пункт 2 не окончен; а пункт 6 – предложение использовать сахарозу – противоречит положению 7 диссертации и автореферата (поиск альтернативных сахарозе углеводов).
17. Количество выводов в диссертации и автореферате не совпадает.
18. По тексту имеются опечатки (стр. 29, 33, 85 и т.д.), некорректное использование знаков препинания (стр. 32, 37, 55, 61, 63, 75, 94, 97), окончаний (стр. 22, 33, 34, 63), есть повторы предложений (стр. 56 и 57).

Впрочем, отмеченные недостатки и указанные выше замечания, не снижают высокого качества исследования, они не влияют на главные теоретические и практические результаты диссертации.

Заключение о соответствии диссертации критериям, установленным положением о порядке присуждения ученых степеней

Представленная диссертационная работа Пузырновой Валентины Георгиевны является завершенной научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований разработаны протоколы микроразмножения сортов винограда и рассмотрена возможность длительного хранения растений в культуре *in vitro* с учетом сортовых особенностей.

Результаты, полученные лично автором, обладают научной новизной и практически значимы, демонстрируют вклад автора в расширение представлений о методах оздоровления и сохранения сортов винограда. Это характеризует соискателя как вполне сложившегося исследователя, умеющего самостоятельно ставить и решать сложные научные задачи.

Выводы и рекомендации обоснованы. Автореферат диссертации и опубликованные научные труды отражают сделанные выводы и основные положения, выносимые на защиту.

По актуальности темы диссертации, новизне исследований и полученных результатов, степени обоснованности и достоверности научных положений,

выводов и рекомендаций и их значимости для науки и производства диссертация Пузырновой Валентины Георгиевны «Совершенствование клонального микроразмножения винограда для создания коллекции генофонда *in vitro*» отвечает критериям предъявляемым к кандидатским диссертациям и установленным в разделе II «Положения о порядке присуждения учёных степеней», утверждённым постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. №842, а ее автор Пузырнова В.Г. заслуживает присуждения ученой степени кандидата сельскохозяйственных наук по специальности 03.01.05 – физиология и биохимия растений.

Официальный оппонент,
доктор биологических наук, доцент,
заведующая лабораторией
физиологии и биохимии растений
Федерального исследовательского центра
«Субтропический научный центр
Российской академии наук»,
Почетный работник науки и высоких технологий

О.Г. Белоус

Специальность 06.01.07 – плодоводство и виноградарство,
«Биологические особенности культуры чая в
условиях влажных субтропиков России»

354202, Сочи, ул. Я.Фабрициуса, 2/28,
+7 (918) 105-91-15,
oksana191962@mail.ru

Подпись официального оппонента заверяю

Ученый секретарь
Федерального исследовательского центра
«Субтропический научный центр
Российской академии наук»
к.с.-х.н.



Е.Н. Журавлева

29.12.2021 г.

Председателю диссертационного
совета Д 220.038.04 на базе
ФГБОУ ВО Кубанский ГАУ
Т.Н. Дорошенко

Уважаемая Татьяна Николаевна!

Я, Панкин Михаил Иванович, доктор сельскохозяйственных наук, ведущий научный сотрудник ФГБНУ «Северо-Кавказский федеральный научный центр садоводства, виноградарства, виноделия», согласен быть официальным оппонентом по диссертационной работе Пузырновой Валентины Георгиевны на тему «СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ КЛОНАЛЬНОГО МИКРОРАЗМНОЖЕНИЯ ВИНОГРАДА ДЛЯ СОЗДАНИЯ КОЛЛЕКЦИИ ГЕНОФОНДА IN VITRO», представленной на соискание ученой степени кандидата сельскохозяйственных наук по специальности 03.01.05 – физиология и биохимия растений.


Предоставляю необходимые сведения о себе и согласен на размещение этих сведений и отзыва на официальном сайте Кубанского ГАУ и в единой информационной системе, а также на включение моих персональных данных в аттестационное дело и их дальнейшую обработку.

Приложение: сведения об официальном оппоненте
(1 экз., на 2 л.)

Доктор сельскохозяйственных наук *М.И. Панкин* М.И. Панкин

25.10.2021

Татьяна Николаевна, я уверена.
На основании этого документа
В.В. Жуковская



Председателю диссертационного
 совета Д 220.038.04 на базе
 ФГБОУ ВО Кубанский ГАУ
 Т.Н. Дорошенко

Сведения об официальном оппоненте

по диссертационной работе Пузырновой Валентины Георгиевны
 на тему «СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ КЛОНАЛЬНОГО МИКРОРАЗМНОЖЕНИЯ
 ВИНОГРАДА ДЛЯ СОЗДАНИЯ КОЛЛЕКЦИИ ГЕНОФОНДА IN VITRO»,
 представленной на соискание ученой степени кандидата
 сельскохозяйственных наук
 по специальности 03.01.05 – физиология и биохимия растений

Фамилия, Имя, Отчество	Панкин Михаил Иванович
Ученая степень (с указанием шифра специальности научных работников, по которому защищена диссертация)	Доктор сельскохозяйственных наук 06. 01. 08 - Плодоводство, виноградарство.
Ученое звание	Доцент ВАК
Полное наименование организации в соответствии с уставом на момент представления отзыва	ФГБНУ «Северо-Кавказский федеральный научный центр садоводства, виноградарства, виноделия»
Наименование подразделения	Лаборатория управлением воспроизводством в ампелоценозах и экосистемах
Должность	Ведущий научный сотрудник
Список основных публикаций в рецензируемых научных изданиях за последние 5 лет (от 5 до 15 публикаций)	<p>THE KUBAN GRAPES WILD FORMS GROWING ON THE RED FOREST NATURE RESERVE TERRITORY Gorbunov I.V., Ilnitskaya E.T., Lukyanov A.A., Makarkina M.V., Mikhailovsky S.S., Pankin M.I. В сборнике: IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. Krasnoyarsk Science and Technology City Hall. Krasnoyarsk, Russian Federation, 2021. С. 42072.</p> <p>VARIETY OF WILD-GROWING GRAPES OF THE UTRISH RESERVE Gorbunov I.V., Ilnitskaya E.T., Lukyanov A.A., Mikhailovsky S.S., Makarkina M.V., Pankin M.I., Bykhalova O.N. В сборнике: IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. III International Scientific Conference: AGRITECH-III-2020: Agribusiness,</p>

	<p>Environmental Engineering and Biotechnologies. Krasnoyarsk Science and Technology City Hall of the Russian Union of Scientific and Engineering Associations. 2020. С. 42050.</p>
	<p>ЭЛЕМЕНТЫ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ РЕШЕНИЙ ДЛЯ ПРОИЗВОДСТВА ОЗДОРОВЛЕННОГО ПОСАДОЧНОГО МАТЕРИАЛА ВИНОГРАДА Серет О.Л., Петров В.С., Панкин М.И., Малых Г.П. Плодоводство и виноградарство Юга России. 2020. № 62 (2). С. 35-45.</p>
	<p>ВЫСОКИЕ ТЕХНОЛОГИИ В ВИНОГРАДАРСТВЕ Панкин М.И., Серет О.Л. Научные труды Северо-Кавказского федерального научного центра садоводства, виноградарства, виноделия. 2019. Т. 24. С. 83-86.</p>
	<p>АГРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ И УВОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА НОВЫХ СОРТОВ ВИНОГРАДА СЕЛЕКЦИИ ГЕРМАНИИ И РОССИИ В АГРОЭКОЛОГИЧЕСКИХ УСЛОВИЯХ ЗАПАДНОГО ПРЕДКАВКАЗЬЯ Дергачёв Д.В., Ларькина М.Д., Петров В.С., Панкин М.И., Цику Д.М., Марморштейн А.А., Митрофанова Е.А. Плодоводство и виноградарство Юга России. 2020. № 66 (6). С. 48-58.</p>
	<p>АНАПСКАЯ АМПЕЛОГРАФИЧЕСКАЯ КОЛЛЕКЦИЯ – КРУПНЕЙШИЙ ЦЕНТР АККУМУЛЯЦИИ И ИЗУЧЕНИЯ ГЕНОФОНДА ВИНОГРАДА В РОССИИ. / М.И. Панкин, В.С. Петров, А.А. Лукьянова, Е.Т. Ильницкая, Г.Е. Никулушкина, А.Г. Коваленко, В.А. Большаков// Вавиловский журнал генетики и селекции. 2018;22(1): с. 54-59 /DOI 10.18699/VJ18.331/</p>
	<p>ВЛИЯНИЕ БИОЭФФЕКТИВНЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ИНДУЦИРОВАНИЕ РОСТКОРРЕКТИРУЮЩИХ ЭФФЕКТОВ У ПОДВОЙНЫХ ЧЕРЕНКОВ ВИНОГРАДА И ВЫХОД КАЧЕСТВЕННЫХ ПРИВИТЫХ САЖЕНЦЕВ. / М. А. Никольский, М. И. Панкин / «Плодоводство и виноградарство Юга России». Тематический журнал СКЗНИИСиВ, 2018. -№54 (06). С. 22-32. – URL: http://www.journal.kubansad.ru/pdf/18/11/25.pdf.</p>

 М.И. Панкин

«25» октября 2021 г.

Получено
Назначение
кадров

 М.И. Панкин
М.И. Панкин
М.И. Панкин

 М.И. Панкин

ОТЗЫВ

официального оппонента доктора сельскохозяйственных наук доцента ВАК, ведущего научного сотрудника Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Северо-Кавказский федеральный научный центр виноградарства, виноделия», Панкина Михаила Ивановича

на диссертационную работу Пузырновой Валентины Георгиевны «Совершенство клонального микроразмножения винограда для создания коллекции генофонда *in vitro*», представленной на соискание ученой степени кандидата сельскохозяйственных наук по специальности 03.01.05 — физиология и биохимия растений.

1. Актуальность избранной темы.

Главное преимущество клонального микроразмножения по сравнению с традиционными методами — это получение генетически однородного, безвирусного посадочного материала, так как вирусные и микоплазменные заболевания наносят виноградарству постоянный экономический ущерб. Выращивание сертифицированного посадочного материала, из оздоровленного *in vitro*, обеспечивает повышение продуктивности виноградников и продление их продуктивной эксплуатации.

Сегодня во всем научном мире этот способ общепризнан как альтернативный дополнительный инструмент размножения, применяемый как для крупномасштабного быстрого размножения растений, свободных от инфекций, так и для хранения генофонда. Необходимость сохранения генофонда винограда общепризнана, и во всем мире ведется формирование банков каллусных, суспензионных, меристематических культур, культуры семяпочек, пыльников и пыльцы, криосохранение растительных тканей. Коллекции винограда *in vitro* позволяют не просто собирать и хранить генетически ценный материал, но и производить обмен генетическими ресурсами на международном уровне.

Проблеме сохранения биоразнообразия уделяется внимание на различных уровнях от международных фондов и научных организаций до небольших волонтерских движений. Указом Президента Российской Федерации от 7 мая 2018 года № 204 сохранение биологического разнообразия отнесено к национальным целям и стратегическим задачам развития Российской Федерации на период до 2024 года.

Проблема сохранения и стабильного использования генетических ресурсов винограда важна для современной науки, успешного развития промышленного виноградарства, современных людей и будущих поколений. Актуальность подготовленной диссертационной работы заключается в том, что она направлена на развитие и совершенствование биотехнологии сохранения растений. Разработка теории и методов длительного хранения растений в условиях *in vitro* необходима для сохранения уникального генофонда.

В связи с вышесказанным считаем, что изучаемый автором вопрос формирования банка оздоровленных растений и сохранения генофонда винограда *in vitro* при помощи биотехнологических методов весьма актуален и не вызывает сомнений.

2. Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации.

Автор достаточно корректно использует известные научные методы обоснования полученных результатов, выводов и рекомендаций. Пузырновой Валентиной Георгиевной изучены и критически проанализированы известные достижения и теоретические положения других авторов по вопросам разработки научных основ хранения растений винограда в коллекции *in vitro*, обеспечивающие продолжительное беспересадочное хранение и высокую регенерационную способность растений. Список литературы содержит 181 наименование, из них 87- иностранных авторов.

Методологическим решением исследований автора является анализ имеющегося отечественного и зарубежного опыта, на основании которого выработана и экспериментально проверена концепция научных основ хранения растений винограда в коллекции *in vitro*, обеспечивающая продолжительное беспересадочное хранение и высокую регенерационную способность растений. Используемые в экспериментах методы — стандартные, апробированные. Параметры достоверности различий определены по методике полевого опыта Б.А. Доспехова.

Для подтверждения теоретических положений автором выполнены экспериментальные исследования, целью которых являлось:

- усовершенствование способа ввода меристем в культуру, сочетающего применение апикальных меристем и хемотерапию (Рибавирин, Цефотаксим, Мелафен;

- улучшение качественных характеристик мериклонов на этапе микроразмножения за счет определения оптимального расположения микрочеренков на побеге;

- исследование приемов замедления ростовых процессов для среднесрочного хранения;

- выявление оптимальных концентраций антибиотиков Цефотаксим, Гентамицин, Амоксициллин для элиминации бактериальной инфекции и замедления ростовых процессов;

- исследование влияния углеводов (сахароза, фруктоза, сорбит) в составе питательных сред на ход ростовых процессов, установить возможность применения их для сохранения винограда в коллекции *in vitro*;

- изучение возможности применения ингибитора Флорон с целью создания коллекции винограда *in vitro*;

- исследование возможности изменения кинетики культуры за счет уплотнения питательной среды;

- осуществление контроля за состоянием растений и их регенерационной способностью при хранении в коллекции *in vitro*.

3. Достоверность и новизна исследований полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации.

Достоверность полученных результатов подтверждается достаточным количеством наблюдений, анализов и учетов в лабораторных однофакторных опытах, а также критериями статистической оценки и экономической эффективности. Научные результаты экспериментальных исследований, заключения по диссертации оригинальны, обоснованы и получены в результате использования современ-

ных методик. Данные первичной документации отвечают требованиям, предъявляемым к регистрации научных результатов, и соответствуют представленной научной работе.

Результаты исследований доложены на I Всероссийской конференции молодых ученых АПК "Актуальные вопросы развития отраслей сельского хозяйства 1-3 октября 2019 г; на III Всероссийской научно практической конференции "Проблемы и перспективы биологического земледелия " ЮФУ, Ростов-на Дону, 2019; на международной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых, Магарач, 2019; на VII-й Международной дистанционной научно-практической конференции молодых ученых, Краснодар, 2017; на XIV Международная научно - практическая конференция «Состояние и перспективы развития агропромышленного комплекса» (Конференция «Интерагромаш 2021»), Ростов-на-Дону, 24-26 февраля 2021 г.

4. Значимость для науки и практики полученных автором результатов.

Теоретическая значимость заключается в выявлении научных основ кинетики роста растений под действием антибиотиков и углеводов. Результаты научных исследований являются основой для совершенствования существующих и создания новых технологий и протоколов хранения растений в коллекциях *in vitro*. Разработана стратегия (схема) и методология создания банка асептических культур.

Практическая значимость заключается в том, что полученные результаты исследований позволяют усовершенствовать биотехнологию создания и содержания коллекций винограда *in vitro*. Разработанная технология создания и хранения мериклонов винограда в коллекции *in vitro*, позволяет изменять кинетику роста культуры, увеличивать временной интервал между субкультивированиями, что обеспечивает длительное беспересадочное хранение растений винограда исследуемых сортов. Показана экономическая эффективность предложенных приемов замедления роста. Научные результаты позволили оптимизировать существующие способы ввода в культуру *in vitro*, микроразмножения и хранения. Создан протокол введения и содержания в коллекции *in vitro* сортов винограда Каберне Совиньон и Фиолетовый ранний.

5. Оценка содержания работы, ее завершенности в целом, оформления и стиля диссертации и автореферата.

Рецензируемая диссертационная работа изложена на 221 странице компьютерного текста, включает введение, состояние изученности вопроса, методику и условия проведения работы, результаты исследований, заключение и практические рекомендации, содержит 30 таблиц, 19 рисунков, список использованных источников включает 181 наименование, в том числе 87 иностранных, 13 приложений.

Во введении дана общая характеристика работы, актуальность и цель исследований. Определены задачи исследований, их новизна, теоретическая и практическая значимость, а также положения, выносимые на защиту.

В разделе «Состояние изученности вопроса» дан подробный анализ результатов исследований отечественных и зарубежных ученых, рассмотрены направления совершенствования технологии хранения растительного материала в условиях *in vitro* на основе новых и совершенствование существующих методов микрокло-

нального размножения винограда, соответствующие обобщения по разработке и усовершенствованию факторов длительного хранения в культуре *in vitro*.

В главе «Результаты исследований» представлены данные проведенных 25 опытов по изучению влияния препаратов Цефотаксим, Гентамицин, Амоксициллин, Рибавирин, Флорон, сахароза, фруктоза, сорбит на этапах ввода, микроразмножения и хранения мериклонов винограда в коллекции в условиях *in vitro*. Автором работы установлены факторы и параметры создания и хранения генофонда, к которым относятся: влияние места расположения микрочеренков на приживаемость и сохранность растений, регенерация микрочеренков в зависимости от их размеров и экспозиции в пробирке, применение антибиотиков для оздоровления и регулирования ростовых процессов, осмотическое действия углеводов (сахарозы, сорбита, фруктозы) на ростовые процессы мериклонов, влияние плотности питательной среды на рост и развитие растений в культуре *in vitro*. Рассчитано экономическое обоснование депонирования растений винограда в коллекции *in vitro*.

Материалы диссертации и автореферата хорошо иллюстрированы таблицами, графиками и рисунками.

6. Автором даны следующие конкретные рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации, которые могут быть применены в работе научно-исследовательских учреждений, занимающихся содержанием коллекций винограда *in vitro*.

1. Ввод апикальных меристем размером 0,1-0,2 мм в культуру необходимо дополнять хмотерапией с применением препаратов Рибавирин (10,0 мг/л) и Цефотаксим (200,0 мг/л). Для оптимизации регенерационной способности меристем вводить в питательную среду Мелафен в концентрациях 10⁻⁷-10⁻⁹.

2. С целью повышения эффективности оздоровления меристемы следует выделять из пробирочных растений.

3. Проведение предварительного оздоровления на питательной среде с Цефотаксимом (200-300 мг/л) позволит повысить сохранность растений в коллекции *in vitro*.

4. При создании коллекции из пробирочных растений микрочеренки следует отбирать из верхней и средней части побегов.

5. Применять антибиотики Цефотаксим (200-300 мг/л) и Гентамицин (0,005) для увеличения продолжительности беспересадочного хранения растений в коллекции.

6. Для клонального микроразмножения и создания коллекции следует применять углеводы: сахароза, фруктоза, сорбит.

7. Оценка содержания диссертации, ее завершенность.

Диссертацию является законченным научно-исследовательским трудом, выполненным автором самостоятельно на хорошем научном уровне. Полученные автором результаты достоверны, выводы и заключения обоснованы.

8. Достоинства и недостатки в содержании и оформлении диссертации, мнение о научной работе соискателя в целом.

Работа базируется на достаточном числе исходных данных, примеров и расчетов. Она написана доходчиво, грамотно и аккуратно оформлена. По каждой главе и работе сделаны выводы. Автореферат в основном, соответствует содержанию диссертации.

По диссертационной работе имеются некоторые замечания:

- в диссертации на странице 11 в «Структуре работы», в автореферате на странице 6 в «Объем и структура диссертации» опечатка, вместо «17 рисунков» должно быть «19 рисунков»;
- в таблицах 6 -8 не указаны сорта винограда;
- на странице 52 в первом абзаце речь идет о четырех сортах, при этом дважды делается ссылка на таблицу 9 в которой представлены данные по одному сорту Каберне Совиньон;
- на странице 67-68 сделана очень короткая интерпретация данных таблицы 17-18, следовало бы более подробно остановиться на полученных данных.
- не понятно предназначение предложения после таблицы 18: «Проведены исследования по хемотерапии на сортах Каберне Совиньон, Фиолетовый ранний, Кобер 5ББ для закладки на хранение»;
- на странице 81 рисунок 12 характеризует состояние растений на питательной среде с сорбитом, а не сохранность растений, ссылку следует сделать после первого предложения;
- на странице 96 опечатка, вместо таблицы 29 указана таблица 34;
- в таблицах 9-14, 16, 18-25, 28 имеется графа «Коэффициент полярности», в тексте работы только при интерпретации данных таблицы 22 упоминается на страницах 80 и 81 этот термин, что он характеризует и почему в остальных 15 таблицах он не востребован?
- в приложении Н представлены результаты статистической обработки данных опытов на 52 страницах, в тексте работы только в таблицах 13, 16, 19-21, 23. 25 имеются данные математической обработки, а в таблицах 9-12,14,18, 22, 24, 28 имеющие одинаковые по структуре наименования показатели не приведены данные математической обработки, при этом в тексте работы нет интерпретации данных приложения и таблиц;
- судя по материалам приложения Н в диссертационной работе выполнена хорошая статистическая обработка экспериментальных данных, которую следовало показать в самой работе и на ее основе выдвинуть методологию или предложить метод;
- имеется некоторое различие текста раздела «Заключение» диссертационной работы и автореферата.

Отмеченные недостатки в содержании и оформлении диссертации не снижают качество исследований и не влияют на главные теоретические и практические результаты работы.

Таким образом, диссертация Пузырновой Валентины Георгиевны: «Совершенствование клонального микроразмножения винограда для создания коллекции генофонда *in vitro*» выполненная под руководством доктора сельскохозяйственных наук Дорошенко Натальи Петровны, является научноквалификационной работой, в которой содержится решение задачи по разработке усовершенствованной технологии среднесрочного хранения *in vitro* перспективных сортов винограда, включенных в реестр селекционных достижений, допущенных к использованию с учетом сортовых особенностей, состояния растений и происходящих морфогенетических процессов, для создания генетического банка стерильных культур, име-

ющей значение для совершенствования существующих и создания новых технологий и протоколов хранения растений в коллекциях, имеющих существенное значение для развития всей виноградарской отрасли Российской Федерации.

Данная работа соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата сельскохозяйственных наук, а ее автор заслуживает присуждения искомой ученой степени.

14 января 2022 г.

Официальный оппонент,
доктор сельскохозяйственных наук,
доцент ВАК, ведущий научный сотрудник
Федерального государственного
бюджетного научного учреждения
«Северо-Кавказского федерального научного
центра виноградарства, виноделия»,
350901, Краснодарский край, г. Краснодар, ул. 40-летия Победы, 39
Тел. 8(861) 252-70-74
Mail: PankinMI@mail.ru



/М.И. Панкин/

Полностью согласен с м.и. заверен.
Секретарь *Судов* *Григорьев*

