

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации

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

В настоящее время все большую актуальность приобретают различные методы микрклонального размножения сельскохозяйственных культур (прежде всего вегетативно размножаемых) в системе *in vitro*. Данные технологии позволяют создавать банки длительного хранения ценных форм растений и отдельных их органов и разрабатывать методы криосохранения оздоровленного материала.

Необходимость сохранения генофонда винограда имеет важное значение не только в нашей стране, но и во всем мире. Именно поэтому в настоящее время особенное внимание уделяется изучению процессов совершенствования микроразмножения этой культуры *in vitro*.

В связи с этим тема диссертационного исследования Пузырновой Валентины Георгиевны является актуальной.

Впервые автором разработаны научные основы хранения растений винограда в коллекции *in vitro*, обеспечивающие беспересадочное хранение и высокую регенерационную способность растений.

Диссертантом в результате проведённых экспериментов были разработаны и обоснованы приемы введения растительного материала в стерильную культуру. Выявлено, что для оптимизации способа оздоровления от вирусной инфекции необходимо совмещать культуру апикальных меристем и хемотерапию (Рибавирин, Цефотаксим, Мелафен). Подробно изучено действие осмотиков (сахарозы, сорбита, фруктозы) на ростовые процессы мериклонов. Так, было установлено, что сорбит может быть использован в составе питательных сред для регулирования скорости ростовых процессов при культивировании *in vitro*. Также оценено влияние плотности питательной среды на длительность беспересадочного хранения растений в культуре *in vitro*.

Результаты проведенных автором исследований широко освещены в научных изданиях. Так, по теме диссертации опубликовано 11 научных работ, из них 2 – в изданиях, индексируемых Web of Science, и 3 – в рецензируемых журналах из перечня ВАК РФ. Также полученные в процессе исследований ценные данные позволили Валентине Георгиевне разработать практические рекомендации по совершенствованию клонального микроразмножения винограда.

Представленная работа характеризуется новизной, значительной теоретической и практической значимостью. Исследование Пузырновой В.Г.

выполнено на высоком методическом уровне и основано на достаточном фактическом материале.

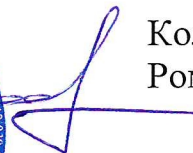
Считаю, что диссертация Пузырновой Валентины Георгиевны «Совершенствование клонального микроразмножения винограда для создания коллекции генофонда *in vitro*» соответствует требованиям ВАК РФ от 24.09.2013 г. №842, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а её автор заслуживает присуждения учёной степени кандидата сельскохозяйственных наук по специальности 03.01.05 – физиология и биохимия растений.

Доцент кафедры экологии и физиологии растений, кандидат биологических наук



Рафина
Саидметовна
Гамзаева

Подпись Гамзаевой Р.С. заверяю
Проректор по научной и инновационной работе, кандидат ветеринарных наук



Колесников
Роман Олегович

Гамзаева Рафина Саидметовна, доцент кафедры экологии и физиологии растений ФГБОУ ВО СПбГАУ, email: r.gamzaeva@yandex.ru

федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный аграрный университет» (ФГБОУ ВО СПбГАУ). Почтовый адрес: 196601. С.-Петербург, г. Пушкин, Петербургское шоссе, д. 2, лит. А. Телефон: (812) 470-04-22; email: agro@spbgau.ru

Отзыв на автореферат

Пузырновой Валентины Георгиевны

«СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ КЛОНАЛЬНОГО МИКРОРАЗМНОЖЕНИЯ
ВИНОГРАДА ДЛЯ СОЗДАНИЯ КОЛЛЕКЦИИ ГЕНОФОНДА *IN VITRO*»,

представленный на защиту по специальности

03.01.05 – физиология и биохимия растений

При достаточно разработанной методике микрклонального размножения актуальной задачей современной биотехнологии является адаптация методики к конкретным культурам и сортам и анализ физиологических механизмов адаптации растений к культуре *in vitro*. Диссертационное исследование Валентины Георгиевны Пузырновой посвящено комплексному изучению процесса микрклонального размножения винограда: проанализировано действие различных антибиотиков, ингибиторов роста на разных стадиях процесса, сравнивается жизнеспособность эксплантов и микрочеренков из различных частей побега, оценено влияние плотности среды культивирования; определены оптимальные значения исследованных факторов. Работа имеет большое практическое значение для создания коллекций винограда *in vitro*, т.к. в результате исследования разработана схема и методика получения и хранения оздоровленного посадочного материала винограда. Автореферат написан хорошим языком, работа не носит признаков заимствования, выводы обоснованы. По результатам диссертационного исследования опубликованы три работы в изданиях, рекомендованных ВАК.

В качестве замечания можно сказать, что из автореферата непонятно, по какому принципу были отобраны разные сорта для изучения влияния разных факторов.

Замечание не снижает значимость обширного экспериментального исследования Валентины Георгиевны. Диссертация соответствует п. 9–14 Положения «О порядке присуждения ученых степеней», утвержденного

Постановлением правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842, а ее автор, Пузырнова Валентина Георгиевна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата сельскохозяйственных наук по специальности 03.01.05 – физиология и биохимия растений.

Новикова Любовь Юрьевна

доктор с.-х. наук (06.01.01 - общее земледелие, растениеводство)

ведущий научный сотрудник,

заведующий отделом автоматизированных информационных систем

генетических ресурсов растений,

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение

«Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова» (ВИР)

190000 г. Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, д. 42

l.novikova@vir.nw.ru

Л.Новикова

/Л.Ю. Новикова



14.01.2022

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации
ПУЗЫРНОВОЙ ВАЛЕНТИНЫ ГЕОРГИЕВНЫ
на тему: «СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ КЛОНАЛЬНОГО МИКРОРАЗМНОЖЕ-
НИЯ ВИНОГРАДА ДЛЯ СОЗДАНИЯ КОЛЛЕКЦИИ ГЕНОФОНДА *IN VITRO*»,
представленной на соискание ученой степени кандидата
сельскохозяйственных наук по специальности
03.01.05 — физиология и биохимия растений

Представленное диссертационное исследование является актуальным, поскольку клональное микроразмножение – это основа биотехнологии хранения генофонда культурных растений и быстрого размножения ценных форм.

Целью исследований являлась 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.

Научная новизна, теоретическая и практическая значимость, а также степень достоверности и результаты апробации не вызывают сомнения. При проведении исследований использовались современные методики. Следует отметить, что автором проведен большой объем исследований и получен обширный массив данных, опубликовано большое количество печатных работ по теме диссертации.

В результате проведенных исследований автором:

- разработана стратегия (схема) и методология создания банка генофонда растений в асептической среде;
- выявлено, что для оптимизации способа оздоровления от вирусной и фитомикоплазменной инфекции необходимо дополнять культуру апикальных меристем хемотерапией;
- определено, что меристемы следует выделять из нижней и средней части пробирочных растений, а в питательную среду вводить препарат Мелафен в установленных концентрациях;
- установлена сортовая дифференциация побегов для отбора микрочеренков;
- определены лучшие концентрации антибиотика Цефотаксим для массового размножения и содержания коллекции для сортов винограда;
- выявлено, что добавление сахарозы в питательную среду в изученной концентрации способствовало улучшению ризогенеза и роста опытных растений;
- выявлены концентрации сорбита для ингибирования и стимулирования ростовых процессов при микроразмножении и хранении сорта Каберне Совиньон;
- выявлено, что введение сорбита в питательную среду способствовало наиболее продолжительному беспересадочному хранению растительного материала *in vitro*;
- выявлены концентрации фруктозы с эффектом торможения роста побегов и стимулирования развития ризогенной зоны;
- установлено, что при увеличении плотности питательной среды увеличивается период беспересадочного хранения.
- даны рекомендации производству.

Однако по материалу диссертационного исследования, изложенному в автореферате, имеются замечания:

1. Нет данных статической обработки по приживаемости растений винограда *in vitro*, из-за чего неясно существенна ли разница по вариантам опыта.
2. Неясно, почему в опыте с сорбитом была гибель растений от инфекций при введении 20 г/л сахарозы (табл. 8), а в опыте с сахарозой при этой же концентрации не было (табл. 7)?
3. В выводах к табл.12 указано, что экономический эффект от предложенных мероприятий складывается из снижения расходов на оплату труда и расходные материалы, однако из данных таблицы не видно снижения затрат на расходные материалы.

Указанные замечания не снижают ценности полученных автором данных и их практической значимости. Считаю, что представленное диссертационное исследование выполнено на высоком научном уровне, соответствует п.9-14 Положения «О порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г № 842, а его автор Пузырнова Валентина Георгиевна заслуживает присвоения ученой степени кандидата сельскохозяйственных наук по специальности 03.01.05 — физиология и биохимия растений.

Курапина Наталия Викторовна
кандидат сельскохозяйственных наук
(06.01.02 — мелиорация, рекультивация и
охрана земель, 2001 г.)

доцент

Заведующий кафедрой Садоводства и защиты растений
Федеральное государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего образования
«Волгоградский государственный аграрный университет»
(ФГБОУ ВО Волгоградский ГАУ)

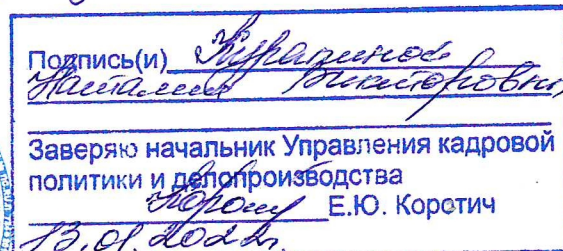
400002, г. Волгоград, пр-т Университетский, 26

тел. 8 (8442) 41-17-75

e-mail: atf-sizr@volgau.com

Курапина Н.В.

Курапина Н.В.



ОТЗЫВ

на автореферат диссертации

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.

Сохранение генофонда биологического разнообразия растений является актуальным направлением научных исследований. За последние годы на культурных растениях, в том числе винограде, сильно распространяется вирусная и фитомикоплазменная инфекция. Оздоровление апикальных меристем различными препаратами позволяет освободить растительный материал от инфекции и получить в дальнейшем из пробирочных растений микрочеренки.

Целью данной работы явилась разработка среднесрочного хранения *in vitro* перспективных сортов винограда для создания генетического банка стерильных культур, с которой В.Г. Пузырнова успешно справилась.

В результате комплексных научных исследований проведена разработка эффективных методов микроклонального размножения и приемов введения растительного материала в стерильную культуру для создания коллекции *in vitro*.

Установлена сортовая специфика влияния места расположения микрочеренков на приживаемость и сохранность растений. У сортов Каберне Совиньон, Платовский, Фиолетовый ранний лучшая сохранность растений инициированных из микрочеренков из верхней части побегов, тогда как у сорта Кобер 5ББ – из средней части побегов

Автор для оздоровления рекомендует дополнять культуру апикальных меристем размером 0,1-0,2 мм хемотерапией с применением препаратов Рибавирин (10 мг/л) и Цефотаксим (200 мг/л). Также определены лучшие концентрации антибиотика Цефотаксим (100 мг/л) на этапе размножения мериклонов и выявлена сортовая специфика. Антибиотик Гентамицин в концентрациях 0,05-0,03 мг/л действовал ингибирующее на сорт Фиолетовый ранний. Установлено, что добавление сахарозы в питательную среду в концентрациях 40-60 г/л улучшало ризогенез и рост растений, тогда как применение сорбита оказывало стимулирующее действие при минимальных концентрациях, при использовании фруктозы в концентрации 20 г/л

выявлена самая развитая ризогенная зона. Пузырновой В.Г. разработана стратегия (схема) и методология создания банка асептических растений.

Выводы соответствуют результатам исследования и вытекают из их содержания. Работа диссертанта носит целостный законченный цикл.

Основные результаты исследований по теме диссертации опубликованы в 11 печатных работах, в том числе 3 статьи в издании, рекомендованных ВАК, 2 статьи в сборниках, индексируемых системой Web of Science.

Таким образом, представленная диссертационная работа полностью отвечает требованиям ВАК к кандидатским диссертациям, а её автор Пузырнова Валентина Георгиевна заслуживает присвоения ученой степени кандидата сельскохозяйственных наук по специальности 03.01.05 – физиология и биохимия растений.

доцент кафедры общего земледелия, растениеводства,
агрохимии и защиты растений
ФГБОУ ВО «Марийский
государственный университет»
кандидат сельскохозяйственных,
доцент

Кудряшова Любовь
Владимировна



Марийский государственный университет, 424000, Республика Марий Эл,
г. Йошкар-Ола, пл. Ленина 1, тел.: (8362) 68-79-32, e-mail: rector@marsu.ru,
интернет-сайт: www.marsu.ru

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Пузырновой Валентины Георгиевны «Совершенствование клонального микроразмножения винограда для создания коллекции генофонда *in vitro*» на соискание ученой степени кандидата сельскохозяйственных наук по специальности 03.01.05 – физиология и биохимия растений.

В агропроизводственном секторе виноград является одним из самых эффективных культур при выращивании. Развитие данной отрасли, которое является одним из основных направлений аграрного сектора, играет важную роль в решении проблем рабочих мест, улучшению уровня жизни, благополучия проживания.

Необходимость сохранения генофонда винограда общепризнана, и сегодня во всем мире ведется формирование банков каллусных, суспензионных, меристематических культур, культуры семяпочек, пыльников и пыльцы, криосохранение растительных тканей. Коллекции винограда *in vitro* позволяют не только хранить генетически ценный материал, но и производить обмен генетическими ресурсами на международном уровне.

Диссертационная работа посвящена созданию стратегии среднесрочного хранения *in vitro* перспективных сортов винограда для создания генетического банка стерильных культур.

Новизна исследований заключается в разработке научных основ хранения растений винограда в коллекции *in vitro*, обеспечивающих продолжительное беспересадочное хранение и высокую регенерационную способность растений, а именно:

– разработка новых способов ввода меристем в культуру, сочетающих применение апикальных меристем и хемотерапии (Рибавирин, Цефотаксим, Мелафен);

– улучшение качественных характеристик мериклонов в результате выбора оптимального расположения микрочеренков на побеге;

– определение параметров применения антибиотиков Гентамицин, Цефотаксим, Амоксициллин, регулятора роста Мелафен и ингибитора Флорон для минимизации роста растений и продолжительного беспересадочного хранения;

– исследовано влияние углеводов (сахароза, фруктоза, сорбит) на ход ростовых процессов при создании коллекции сортов Фиолетовый ранний, Каберне Совиньон;

– выявлено изменение кинетики культуры за счет уплотнения питательной среды;

– впервые доказана возможность беспересадочного культивирования исследуемых сортов в течение 10–12 месяцев.

Принимая во внимание актуальность исследуемого вопроса, глубину исследований, считаю, что диссертационная работа Пузырновой Валентины Георгиевны «Совершенствование клонального микроразмножения винограда для создания коллекции генофонда *in vitro*» соответствует требованиям ВАК РФ (п.9–14 Положения «О порядке присуждения ученых степеней утвержденного Постановлением правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842). Диссертант заслуживает присуждения ученой степени кандидата сельскохозяйственных наук по специальности 03.01.05 – физиология и биохимия растений.

Рашидов Наим Джалолович,
д.с-х.н., доцент, заведующий кафедрой
пищевой продукции и агротехнологии
Политехнического института Таджикского
технического университета
им. ак.М.С.Осими в г. Худжанде (ХПИТТУ)
Адрес: 7357004, Республика Таджикистан,
г. Худжанд, просп. И.Сомони 226.
Тел.: +992 92720 5057
Эл. почта: naimrashidov-tj@mail.ru

Подпись Рашидова Н.Дж. заверяю.
Секретарь ученого совета ХПИТТУ
30.12.2021г.



Турсунова М.И.

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Пузырновой Валентины Георгиевны «Совершенствование клонального микроразмножения винограда для создания коллекции генофонда *in vitro*» на соискание ученой степени кандидата сельскохозяйственных наук по специальности 03.01.05 – физиология и биохимия растений.

Необходимость сохранения генофонда винограда общепризнана, и сегодня во всем мире ведется формирование банков каллусных, суспензионных, меристематических культур, культуры семяпочек, пыльников и пыльцы, криосохранение растительных тканей. Коллекции винограда *in vitro* позволяют не только хранить генетически ценный материал, но и производить обмен генетическими ресурсами на международном уровне.

Диссертационная работа посвящена созданию стратегии среднесрочного хранения *in vitro* перспективных сортов винограда для создания генетического банка стерильных культур.

Новизна исследований заключается в разработке научных основ хранения растений винограда в коллекции *in vitro*, обеспечивающих продолжительное беспересадочное хранение и высокую регенерационную способность растений, а именно:

– разработка новых способов ввода меристем в культуру, сочетающих применение апикальных меристем и хемотерапии (Рибавирин, Цефотаксим, Мелафен);

– улучшение качественных характеристик мериклонов в результате выбора оптимального расположения микрочеренков на побеге;

– определение параметров применения антибиотиков Гентамицин, Цефотаксим, Амоксициллин, регулятора роста Мелафен и ингибитора Флорон для минимизации роста растений и продолжительного беспересадочного хранения;

– исследовано влияние углеводов (сахароза, фруктоза, сорбит) на ход ростовых процессов при создании коллекции сортов Фиолетовый ранний, Каберне Совиньон;

– выявлено изменение кинетики культуры за счет уплотнения питательной среды;

– впервые доказана возможность беспересадочного культивирования исследуемых сортов в течение 10–12 месяцев.

Принимая во внимание актуальность исследуемого вопроса, глубину исследований, считаю, что диссертационная работа Пузырновой Валентины Георгиевны «Совершенствование клонального микроразмножения винограда для создания коллекции генофонда *in vitro*» соответствует требованиям ВАК РФ (п.9–14 Положения «О порядке присуждения ученых степеней утвержденного Постановлением правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842). Диссертант заслуживает присуждения ученой степени кандидата

сельскохозяйственных наук по специальности 03.01.05 – физиология и биохимия растений.

Носульчак Василий Андриянович,
ВНС, кандидат сельскохозяйственных наук,
отдела генресурсов и селекции плодово-ягодных культур и винограда Крымской ОСС филиала ВИР
353384, Краснодарский край, г. Крымск, ул. Вавилова, д.12
e-mail: kross67@mail.ru



10.01.2022 г.

Подпись канд. с.-х. наук В.А. Носульчака заверяю:

Ученый секретарь
Крымской ОСС филиала ВИР
канд. с.-х. наук



Т.А. Гасанова

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Пузырновой Валентины Георгиевны
**«Совершенствование клонального микроразмножения винограда для
создания коллекции генофонда *in vitro*»** на соискание ученой степени
кандидата сельскохозяйственных наук по специальности 03.01.05 –
физиология и биохимия растений.

Работа диссертанта посвящена совершенствованию приемом и методов клонального микроразмножения винограда с целью создания коллекции генофонда *in vitro* и эффективному ее содержанию.

Сохранение генофонда растений – проблема, решаемая учеными по всему миру. Содержание коллекций в формате *in vitro* – перспективное, активно развивающееся направление.

Работа характеризуется новизной, заключающейся в том, что автор осуществил успешный поиск способов хранения растений винограда в коллекции *in vitro*, обеспечивающих продолжительное беспересадочное хранение и высокую регенерационную способность растений.

К наиболее значимыми результатами диссертанта можно отнести следующее:

- определены концентрации антибиотиков Цефотаксим и Гентамицин для оздоровления от фитомикоплазменных инфекций и для снижения скорости роста;

- исследованы параметры применения стимулятора роста Мелафен на этапе ввода в культуру для повышения приживаемости и регенерационной способности меристем;

- исследовано влияние углеводов (сахароза, фруктоза, сорбит) на ход ростовых процессов при создании коллекции сортов Фиолетовый ранний, Каберне Совиньон;

- разработаны новые способы ввода меристем в культуру, сочетающие применение апикальных меристем и хемотерапии (Рибавирин, Цефотаксим, Мелафен);

- выявлено изменение кинетики культуры за счет уплотнения питательной среды.

По результатам исследований опубликовано 11 печатных работ.

Многие положения и выводы диссертационной работы заслуживают внимания и вызывают интерес.

Высока практическая ценность работы – даны рекомендации по вводу меристем с применением хемотерапии, по оздоровлению на этапе микрочеренкования, по оптимизации состава культуральных сред с целью удлинения периода между пересадками. Показана экономическая эффективность предложенных приемов замедления роста.

Исследования выполнены на высоком научно-методическом уровне, что позволяет говорить о научной обоснованности выводов и достоверности полученных результатов.

В целом автореферат позволяет сделать вывод о том, что диссертационная работа Пузырновой Валентины Георгиевны «Совершенствование клонального микроразмножения винограда для создания коллекции генофонда *in vitro*» выполнена на высоком методическом и научном уровне, результаты исследований имеют научную новизну, практическую значимость, и соответствует требованиям ВАК РФ (п.9–14 Положения «О порядке присуждения ученых степеней утвержденного Постановлением правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842), а автор Валентина Георгиевна Пузырнова заслуживает присуждения ученой степени кандидата сельскохозяйственных наук по специальности 03.01.05 – физиология и биохимия растений.

Отзыв подготовил:

Заведующая лабораторией вирусологии
Федерального государственного бюджетного
научного учреждения «Северо-Кавказский
федеральный научный центр садоводства,
виноградарства, виноделия», канд. с.-х. наук

М.А. Винтер

тел.: +79885221659

E-mail: marina_winter@mail.ru

Подпись Винтер Марины Александровны заверяю:

Ученый секретарь ФГБНУ СКФНЦСВВ,
канд. с.-х. наук



Н.М. Запорожец

Россия, ФГБНУ СКФНЦСВВ
350901, Краснодарский край, г. Краснодар,
ул. им. 40-летия Победы, д. 39
тел.: 8(861) 252-70-74
e-mail: kubansad@kubannet.ru

28.12.2021г.

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации «Совершенствование клонального микроразмножения винограда для создания коллекции генофонда *in vitro*» Пузырновой Валентины Георгиевны на соискание ученой степени кандидата сельскохозяйственных наук по специальности 03.01.05 – физиология и биохимия растений

Представленная научная работа посвящена актуальной проблеме – созданию биотехнологии формирования и содержания генофонда растений винограда, замедления роста и хранения банка генетических растительных ресурсов в культуре *in vitro*.

Исследования выполнены в лаборатории биотехнологии Всероссийского НИИ виноградарства и виноделия им. Я.И. Потапенко – филиале ФГБНУ «Федеральный Ростовский аграрный научный центр».

Соискателем проделана большая работа по совершенствованию способов ввода меристем в культуру *in vitro*, улучшению качественных характеристик микроразмножения, замедлению ростовых процессов для среднесрочного хранения растений, оптимизированы концентрации антибиотиков для элиминации бактериальной инфекции и замедления ростовых процессов, установлено влияние углеводов в составе питательных сред на рост и сохранность винограда в коллекции *in vitro*, выявлена возможность изменения кинетики культуры за счет уплотнения питательной среды.

Используя современные методы исследований и приборное оснащение соискателем разработаны научные основы хранения растений винограда в коллекции *in vitro*, обеспечивающих продолжительное беспересадочное хранение и высокую регенерационную способность растений.

Полученные результаты имеет большое как научное, так и практическое значение, являются основой для совершенствования существующих и создания новых биотехнологий хранения растений в коллекциях *in vitro*, создания банка асептических культур, способствуют производству оздоровленного сертифицированного посадочного материала винограда.

Выводы сформулированы лаконично, ёмко и доступно. Достоверность полученных выводов опирается на большой экспериментальный материал и его глубокий анализ, использование современных методов исследований и дисперсионную обработку экспериментального материала.

В целом диссертация Пузырновой Валентины Георгиевны «Совершенствование клонального микроразмножения винограда для создания коллекции генофонда *in vitro*», является законченной научно-квалификационной работой, которая вносит существенный вклад в разработку научных основ по формиро-

ванию устойчивого виноградарства. Пузырнова Валентина Георгиевна показала себя как эрудированный, высококвалифицированный научный сотрудник, способный самостоятельно решать важные научные проблемы в виноградарстве. Диссертационная работа и автореферат полностью отвечают требованиям ВАК РФ и заслуживают положительной оценки, а соискатель, Пузырнова Валентина Георгиевна, достойна присуждения искомой ученой степени кандидата сельскохозяйственных наук по специальности 03.01.05 – физиология и биохимия растений.

Руководитель научного направления,
ведущий научный сотрудник,
д-р с.-х. наук



В.С. Петров

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Северо-Кавказский федеральный научный центр садоводства,
виноградарства, виноделия».

Россия, 350901, Краснодар, ул. 40-летия Победы 39.

Тел. +7 (961) 500-47-36

E-mail: petrov_53@mail.ru

Подпись Петрова В.С. заверяю:

Ученый секретарь

ФГБНУ СКФНЦСВВ

канд. с.-х. наук



Н.М. Запорожец

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Пузырновой Валентины Георгиевны «Совершенствование клонального микроразмножения винограда для создания коллекции генофонда *in vitro*» на соискание ученой степени кандидата сельскохозяйственных наук по специальности 03.01.05 – физиология и биохимия растений.

В настоящее время в мире ведется формирование банков каллусных, суспензионных, меристематических культур, культуры семяпочек, пыльников и пыльцы, криосохранение растительных тканей. Коллекции винограда *in vitro* позволяют не только хранить генетически ценный материал, но и производить обмен генетическими ресурсами на международном уровне.

Диссертационная работа посвящена созданию стратегии среднесрочного хранения *in vitro* перспективных сортов винограда для создания генетического банка стерильных культур.

Новизна исследований заключается в разработке научных основ хранения растений винограда в коллекции *in vitro*, обеспечивающих продолжительное беспересадочное хранение и высокую регенерационную способность растений, а именно:

- разработка новых способов ввода меристем в культуру, сочетающих применение апикальных меристем и хемотерапии (Рибавирин, Цефотаксим, Мелафен);

- улучшение качественных характеристик мериклонов в результате выбора оптимального расположения микрочеренков на побеге;

- определение параметров применения антибиотиков Гентамицин, Цефотаксим, Амоксициллин, регулятора роста Мелафен и ингибитора Флорон для минимизации роста растений и продолжительного беспересадочного хранения;

- исследовано влияние углеводов (сахароза, фруктоза, сорбит) на ход ростовых процессов при создании коллекции сортов Фиолетовый ранний, Каберне Совиньон;

- выявлено изменение кинетики культуры за счет уплотнения питательной среды;

- впервые доказана возможность беспересадочного культивирования исследуемых сортов в течение 10–12 месяцев.

Принимая во внимание актуальность исследуемого вопроса, глубину исследований, считаем, что диссертационная работа Пузырновой Валентины Георгиевны «Совершенствование клонального микроразмножения винограда для создания коллекции генофонда *in vitro*» соответствует требованиям ВАК РФ (п.9–14 Положения «О порядке присуждения ученых степеней утвержденного Постановлением правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842»). Диссертант заслуживает присуждения ученой степени кандидата

сельскохозяйственных наук по специальности 03.01.05 – физиология и биохимия растений.

1. Заманиди Пантелей Константинович.

2. Доктор сельскохозяйственных наук Греции, кандидат сельскохозяйственных наук, почетный профессор Кубанского ГАУ, главный научный сотрудник.

3. ФГБОУ ВО Волгоградский государственный аграрный университет, руководитель научного центра «Виноградарства и виноделия».

1. Петрова Светлана Сергеевна.

2. Кандидат сельскохозяйственных наук.

3. ФГБОУ ВО Волгоградский государственный аграрный университет, старший научный сотрудник научного центра «Виноградарства и виноделия»

4. Почтовый адрес: 400002, г. Волгоград, пр-т Университетский, 26

5. Адрес электронной почты panzamanidis@yahoo.gr.

10.01.2022 г.

Заманиди П.К.

Петрова С.С.



| | |
|---|---------------|
| Подпись(и) | |
| Заверяю начальник Управления кадровой политики и делопроизводства | |
| | 10.01.2022 г. |

ОТЗЫВ

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

Создание генетических банков и хранение растительного материала в условиях *in vitro* является необходимым инструментом для сохранения генофонда винограда, позволяет совершать обмен генетическими ресурсами и при необходимости крупномасштабно быстро размножать свободные от инфекций растения. В последние годы во многих странах мира достаточно активно проводятся исследования по разработке и совершенствованию протоколов введения в культуру *in vitro* ценных сортов винограда.

Разработка методов введения в культуру *in vitro* ценных столовых и технических сортов винограда с учётом сортовых особенностей, состояния растений и происходящих в них морфогенетических процессов является крайне важной задачей и вносит ценный вклад в виноградовинодельческую отрасль страны. В этой связи, исследования Пузырновой Валентины Георгиевны, направленные на разработку научных основ хранения растений винограда в коллекции *in vitro*, обеспечивающих продолжительное беспересадочное хранение и высокую регенерационную способность растений, являются актуальными и своевременными.

В результате проведенных исследований автор приходит к выводу, что на этапе ввода меристем в культуру *in vitro* и освобождения растений винограда от вирусов необходимо проводить хемотерапию. Для оздоровления от вирусной инфекции предлагается совмещать культуру апикальных меристем размером 0,1–0,2 мм (меристема с одной парой листовых зачатков) и хемотерапию с применением препарата Рибавирин (10,0 мг/л), а для освобождения от внутренних бактериальных инфекций целесообразна антибактериальная хемотерапия при помощи антибиотика Цефотаксим (200,0 мг/л). Отмечено положительное влияние стимулирующего препарата Мелафен на прохождение этапа ввода меристем в культуру. Меристемы следует выделять из нижней и средней части пробирочных растений, а в питательную среду вводить Мелафен в концентрациях 10^{-7} – 10^{-9} .

Автором установлено, что место расположения микрочеренков оказывает влияние на приживаемость растений, ризогенез, развитие побегов, скорость роста, соотношение между ростом корней и побегов и продолжительностью нахождения растений в культуре. Полученные результаты исследований позволяют с учетом сортовых особенностей винограда выбирать оптимальное местоположение микрочеренков для массового тиражирования оздоровленных растений и продолжительного беспересадочного хранения растений в культуре *in vitro*. Например, у сортов Каберне Совиньон, Платовский, Фиолетовый ранний сохранность растений, иницированных из микрочеренков верхней части побегов, обеспечивается до 375, 280 и 341 дней соот-

ветственно. У сорта Кобер 5 ББ до 375 суток сохранились растения, полученные из микрочеренков средней части побегов.

Для более продолжительного беспересадочного хранения пробирочных растений Пузырнова В. Г. исследовала параметры применения осмотиков: сахара, фруктоза, сорбит, антибиотиков Цефотаксим и Гентамицин, ингибитора роста Флорон, а также возможность изменения кинетики культуры за счет уплотнения питательной среды. На основании проведенных исследований автор для увеличения продолжительности беспересадочного хранения растений в коллекции рекомендует применять антибиотики Цефотаксим и Гентамицин. Для клонального микроразмножения и создания коллекции следует применять углеводы: сахара, фруктоза, сорбит.

Результаты диссертационных исследований апробированы на Международных и Всероссийских научно-практических конференциях, опубликованы в 11 научных работах, в т.ч. в 3 работах в изданиях, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России и две – в сборниках, индексируемых системой Web of Science.

В целом качество проведенных исследований, научная новизна и практическая значимость работы отвечают требованиям «Положения о порядке присуждения учёных степеней», а её автор, Пузырнова Валентина Георгиевна, заслуживает присуждения учёной степени кандидата сельскохозяйственных наук по специальности 03.01.05 – физиология и биохимия растений.

Доктор сельскохозяйственных наук,
профессор, ведущий научный
сотрудник ГБУ СО НИИ
«Жигулёвские сады»

Михаил Иванович Дулов

Государственное бюджетное учреждение Самарской области «Научно-исследовательский институт садоводства и лекарственных культур «Жигулёвские сады».

443072, г. Самара, 18 км, Опытная станция по садоводству, ГБУ СО НИИ «Жигулёвские сады», тел. 8(846)998-32-80, E-mail: golden-apple08@mail.ru.

10 января 2022 года

Подпись Дулова Михаила Ивановича заверяю:

Директор института



Чугунов Виктор Геннадьевич