

Отзыв

официального оппонента на диссертацию

Тевфик Арзы Шевкиевна

«Индукция морфогенеза *in vitro* и регенерация растений в культуре
вегетативных почек и зародышей канны садовой
(*Canna × hybrida hort. ex Backer*)»

представленной на соискание ученой степени кандидата
биологических наук по специальности: 03.02.01 – ботаника
03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии)

Сохранение биоразнообразия растений – одна из актуальных задач ботанических садов. Разработка эффективных методов устойчивого воспроизводства растений с использованием культуры изолированных тканей и органов является основой работ по сохранению генофонда.

Род *Canna* L. насчитывает около 50 видов. Канна садовая (*Canna × hybrida hort ex Backer*) – растение сложного гибридного происхождения, в настоящее время описано свыше 1000 сортов, различающихся по высоте, окраске листьев и цветков, размерам и времени цветения. Канна садовая одна из красивых лиственно-декоративных растений, которая незаменима при ландшафтном оформлении садов и парков.

Цель данного исследования – выявить пути морфогенеза, особенности регенерации различных эксплантов в культуре *in vitro* и разработать биотехнологические приёмы микроразмножения и сохранения перспективных сортов канны садовой.

Для достижения поставленной цели были успешно решены следующие задачи:

- подобраны оптимальные типы эксплантов, режимы стерилизации и получена асептическая культура канны садовой;
- изучены особенности роста и развития различных эксплантов канны садовой в культуре *in vitro*; и определены возможности и пути дифференциации в условиях *in vitro* различных органов и тканей канны садовой;

- подобраны условия адаптации *in vivo* регенерантов канны садовой;
- проведен сравнительный анализ морфологических и физиологических особенностей регенерантов *in vitro* и *in vivo* канны садовой;
- изучены особенности депонирования эксплантов канны садовой.

Научная новизна полученных результатов.

Впервые для 4 перспективных сортов канны садовой определен морфогенетический потенциал и показаны возможные пути морфогенеза *in vitro*: формирование меристематических, адвентивных почек и развития проростков из зиготических зародышей. Установлено влияние физических и гормональных факторов на отдельные этапы регенерации растений из вегетативных почек и зиготических зародышей. Определены оптимальные концентрации регуляторов роста индуцирующих процесс прямого и непрямого органогенеза *in vitro*. Впервые в результате сравнительного изучения показаны структурные и функциональные изменения растений канны садовой *in vitro* и *in vivo*. Определены оптимальный тип и концентрации ретардантов для депонирования сортов канны садовой.

Теоретическая и практическая значимость работы.

Показаны пути реализации морфогенеза различных эксплантов в условиях *in vitro*. Подобраны составы питательных сред для получения и размножения растений канны садовой *in vitro*. Использование метода эмбриокультуры позволило получить жизнеспособные проростки сортов канны садовой, что может стать основой создания новых селекционных форм. Разработана и представлена биотехнологическая схема клонального микроразмножения канны садовой. Результаты проведенных исследований используются при чтении курса биотехнологии растений в Крымском аграрном университете.

Методология и методы исследования.

Диссертационная работа выполнена с использованием классических и современных методов культуры органов и тканей, методов световой и поляризационной микроскопии, методов морфо-анатомического и

физиологического анализа растительного материала, на современном оборудовании.

Достоверность результатов исследования получена с использованием метода статистического анализа.

По материалам диссертации опубликовано 17 научных работ, из которых 8 в изданиях, рекомендованных ВАК РФ.

Структура и объём диссертации. Диссертационная работа изложена на 177 страницах машинописного текста, состоит из введения, 8 разделов, выводов, практических рекомендаций, приложения, списка использованной литературы (350 наименований, в том числе – 255 иностранных авторов) и включает 29 таблиц и 48 рисунков.

Во введении (с. 6-11) обосновывается актуальность темы, излагаются цель и задачи исследований, формулируются защищаемые положения, научная новизна и практическая ценность.

Раздел 1. Обзор литературы (с.12-39).

В разделе представлен анализ современных литературных данных, касающихся особенностей клонального микроразмножения растений порядка имбирецветных (Zingiberales) и некоторых корневищных культур. Обсуждены преимущества биотехнологических методов культивирования исследуемых таксонов. Указаны факторы, определяющие различные пути регенерации растений. Сделано заключение о фрагментарности и недостаточной изученности морфогенетического потенциала различных эксплантов канны садовой, закономерностей их последующего развития и об отсутствии протокола клонального микроразмножения сортов канны садовой и отсутствии исследований по специфике прорастания семян и зародышей в условиях *in vitro*.

Раздел 2. Материалы и методы (с. 40-51).

В данном разделе приводится ботанико-географическое описание объектов исследования. Приводится характеристика изучаемых сортов из коллекционных насаждений Никитского ботанического сада. Излагаются

основные методические подходы современных методов культуры клеток и тканей. Описываются методики гистологических исследований морфогенеза, изучения структурных характеристик и физиологических особенностей регенерантов *in vitro* и *in vivo* сортов канны садовой.

Раздел 3. Изучение основных факторов, влияющих на индукцию развития эксплантов *Canna × hybrida hort ex* Backer в условиях *in vitro* (с. 52-61).

Были подобраны способы стерилизации для различных эксплантов канны садовой. Отмечена наибольшая частота контаминации при получении стерильной культуры вегетативных почек. Среди изученных эксплантов наибольшими показателями к регенерации характеризовались вегетативные почки и изолированные зародыши.

Раздел 4. Изучение морфогенетических потенций органов и тканей канны садовой на разных этапах клонального микроразмножения (с. 62-91).

Установлено, что фрагменты листа, завязи и бутона, семена характеризовались низким морфогенетическим потенциалом.

Показано, что необходимым условием прорастания изолированных зиготических зародышей является их предварительная стратификация в течение 60 суток.

Особый интерес вызывает факт, что продолжительное культивирование вегетативных почек канны садовой приводило к массовому образованию меристематических зон, что позволило значительно увеличить коэффициент размножения. Дальнейшие гистологические исследования показали, что меристематические зоны формируются из активно делящихся меристематических зон в основании микропобега.

Раздел 5. Укоренение микропобегов *in vitro* и адаптация регенерантов канны садовой к условиям *in vivo* (с. 92-101).

Показано, что на этапе микроразмножения при подборе питательной среды микропобеги канны способны к спонтанному корнеобразованию, что позволило исключить этап укоренения и объединить этапы собственно микроразмножения и корнеобразования. На этапе адаптации были подобраны

почвенные субстраты и необходимые условия для дальнейшего роста и развития растений.

Раздел 6. Морфологическая характеристика, физиологические особенности водного режима и фотосинтетическая активность *Canna* × *hybrid hort ex* Backer при культивировании *in vitro* и *in vivo* (с. 102-109).

Было проведено исследование анатомического строения листовых пластин и изучены морфологические и анатомические показатели регенерантов канны садовой при культивировании *in vitro* и при адаптации *in vivo*.

Раздел 7. Особенности депонирования канны садовой (с. 110-115).

Подобраны оптимальные условия для длительного депонирования меристематических и адвентивных побегов на протяжении 7 месяцев без пересадки.

Раздел 8. Анализ и обсуждение полученных результатов (с. 116-124).

В данном разделе подведен итог всему научному исследованию. Проведено обсуждение и анализ полученных результатов.

В качестве замечаний можно отметить следующее:

Особенности роста и развития регенерантов в культуре *in vitro* часто коррелируют с биологическими особенностями исходных форм. Поэтому при выборе исходного материала для сравнения, более целесообразно чтобы группы были представлены хотя бы 2 сортами. В исследование включены сорта группы Крози-3 сорта: Ливадия, Дар Востока, Президент. Группа орхидеевидных представлена - 1 сортом - Суевия.

В разделе 4 в таблице 4.3 указано количество меристематических зеленой и бежевой окраски, но не отражено, связана ли окраска с жизнеспособностью и дальнейшей их регенерационной способностью.

В разделе 5 при анализе данных по спонтанному укоренению на питательной среде для размножения, делается вывод (б) об исключении специального этапа укоренения. На наш взгляд, необходимо было провести сравнительное изучение спонтанно укорененных регенерантов и регенерантов, культивируемых на среде для укоренения по показателям формирования корневой системы и их дальнейшего роста и развития на этапе адаптации.

В разделе 6 при анализе морфологических и структурных характеристик регенерантов *in vitro* и при адаптации *in vivo* для полноты информации и в качестве контроля необходимо было провести подобные исследования на интактных растениях канны садовой.

В заглавии Таблицы 8.2 с.126 «Биотехнологические этапы получения селекционных форм канны садовой» целесообразно указать тип экспланта в заглавии (т.е. при культивировании зародышей).

Вывод 8: Определены оптимальные субстраты и представлены условия, необходимые для адаптации пробирочных растений. Показано, что применение в качестве субстрата смеси перлита и стерильного почвенного субстрата (1:1) позволяет получить 75% успешно адаптированных растений после 6 месяцев культивирования *in vivo* по сравнению с другими изучаемыми субстратами, а не сортами.

В работе встречаются редакционные погрешности (с. 22,25,34,39,64,70,86 и т. д.).

В заключении следует отметить, что диссертационная работа автора Тевфик Арзы Шевкиевна является самостоятельной научно-исследовательской работой, которая выполнена на хорошем методическом уровне, с применением адекватных и современных методов исследования. Полученные результаты вполне достоверны. Выводы соответствуют целям и задачам исследования. В автореферате отражены основные положения и результаты, изложенные в диссертации.

Экспериментальные данные убедительно проиллюстрированы микрофотографиями и рисунками.

Полученные результаты экспериментальных исследований и теоретических обобщений могут быть использованы при чтении лекций и проведении практических занятий для студентов бакалавриата и магистратуры, обучающихся по ботанике, биотехнологии и физиологии растений.

Диссертационная работа производит достаточное благоприятное впечатление и соответствует требованиям, предъявляемым ВАК РФ к

кандидатским диссертациям, а ее автор Тевфик Арзы Шевкиевна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности: 03.02.01-ботаника 03.01.06-биотехнология (в т.ч. бионанотехнологии).

08.06.2016 г.

Молканова Ольга Ивановна



кандидат сельскохозяйственных наук,
заведующая лабораторией биотехнологии растений
Федерального государственного бюджетного учреждения науки
Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина
Российской академии наук,
адрес: 127276 г. Москва, Ботаническая ул., дом 4,
тел.: +7(495)-619-53-41,

molkanova@mail.ru)

Подпись О.И. Молканова заверяю
Ученый секретарь
Федерального государственного бюджетного учреждения науки
ГЛАВНОГО БОТАНИЧЕСКОГО САДА им. Н.В. ЦИЦИНА
Российской академии наук Богданова

