

## ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу  
Ахметовой Лилии Рафисовны  
на тему: «Совершенствование технологии клонального микроразмножения  
представителей рода *Hydrangea* L.», представленную на соискание ученой  
степени кандидата сельскохозяйственных наук 4.1.4. Садоводство,  
овощеводство, виноградарство и лекарственные культуры

**Актуальность работы.** Гортензия относится к одним из самых популярных цветочно-декоративных многолетников, которые активно используются как в любительском садоводстве, так и в системе ландшафтного озеленения городских территорий. Постоянно растущий спрос на саженцы этой культуры и необходимость масштабного импортозамещения определяют необходимость разработки высокоэффективных протоколов размножения на основе методов биотехнологии для получения высококачественного посадочного материала гортензии.

Использование системы *in vitro* по сравнению с традиционными методами поддержания коллекций растений имеет ряд преимуществ: высокие коэффициенты размножения; миниатюризация процесса, приводящая к экономии площадей, занятых маточными и размножаемыми растениями; оздоровление посадочного материала от нематод, грибов и бактерий, вызывающих болезни растений; возможность длительного депонирования образцов с меньшими затратами на хранение. В условиях *in vitro* удастся размножить и укоренить те селекционные новинки, которые сложно размножаются традиционными способами.

Разработке методов культивирования в условиях *in vitro* разных представителей рода *Hydrangea* L. уделялось достаточно большое внимание. Т.К. Sebastian и С.W. Heurser в 1987 году разработали протокол микроразмножения *Hydrangea quercifolia* Bart. J. Adelberg и Šiško M. в 2006 году изучали особенности получения асептической культуры *Hydrangea macrophylla*. Особенности культивирования гортензии в условиях *in vitro* изучали отечественные и зарубежные ученые: Леонард Штольц, Abou Dahab, L. Vocson-Gibod, E. Sacco, В.И. Маляровская, J. Xiao. При этом, остается достаточно много возможностей для оптимизации и совершенствования технологии клонального микроразмножения этой культуры, так как в зависимости от видовых и сортовых особенностей, включенных в исследования генотипов, требуется серьезная модификация основных этапов

производства посадочного материала гортензии. Активная селекционная работа, проводимая с разными видами гортензий, и повышенный потребительский спрос на эту культуру приводят к тому, что ежегодно на рынке появляются новые сорта гортензий и без привлечения методов биотехнологии добиться их быстрого массового размножения невозможно.

Исходя из вышеизложенного, считаю, что диссертационная работа Ахметовой Лилии Рафисовны на тему: «Совершенствование технологии клонального микроразмножения представителей рода *Hydrangea* L.» является своевременной, актуальной, а полученные результаты имеют, как теоретическое, так и практическое значение.

**Научная новизна работы** заключается в том, что автором впервые изучены в культуре *in vitro* некоторые представители рода *Hydrangea* L.. Установлены биологические особенности их размножения *in vitro* и разработана технология получения посадочного материала ряда перспективных сортов гортензии.

Впервые установлены особенности влияния дополнительного освещения узкоспектральным светом на биохимические и морфологические показатели листьев растений-регенерантов и выявлено последствие этого приема на устойчивость представителей рода *Hydrangea* L. к кратковременному охлаждению в условиях *in vitro* и зимостойкость растений гортензии крупнолистной в условиях открытого грунта. Впервые установлены особенности получения посадочного материала гортензии с применением на этапе адаптации микрорастений к нестерильным условиям гидропонной установки.

**Теоретическая и практическая ценность работы** заключается в том, что разработанная технология размножения гортензии позволяет не только решить проблему получения достаточного количества посадочного материала гортензии на основе оптимизации состава питательных сред и применения на этапе адаптации гидропонной установки, но и при необходимости обеспечить депонирование в условиях *in vitro* представителей рода *Hydrangea* L. Кроме того, предлагаемая технология размножения *in vitro* может быть применена и для размножения других видов рода *Hydrangea* L..

Дана оценка экономической эффективности производства посадочного материала декоративных растений рода *Hydrangea* L. Разработанные методические приемы направлены на повышение качества посадочного материала декоративных культур и снижение его себестоимости.

Полученные результаты могут быть использованы в качестве дополнительного материала в учебном процессе при проведении лекционных и лабораторно-практических занятий по дисциплинам: «Декоративное питомниководство», «Технологии размножения декоративных растений», «Древоводство», «Сельскохозяйственная биотехнология», «Культура клеток и тканей растений» для студентов, обучающихся по направлениям «Садоводство», «Биотехнология» и «Ландшафтная архитектура», научными учреждениями, а также лабораториями и агрофирмами, занимающимися производством посадочного материала декоративных культур.

**Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации, их достоверность.**

Достоверность научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в работе, подтверждена многочисленными экспериментальными исследованиями, проведенными с применением современной приборной базы кафедры декоративного садоводства и газоноведения РГАУ-МСХА им. К. А. Тимирязева, лаборатории биотехнологии растений и лаборатории физиологии и иммунитета растений Федерального государственного бюджетного учреждения науки Главного ботанического сада им. Н.В. Цицина Российской академии наук (ГБС РАН). Постановка всех опытов, описанных в диссертации, а также обобщение результатов исследований выполнялись лично автором. Полученные данные математически обработаны.

Результаты работы доложены и обсуждены на международных и всероссийских конференциях, по результатам диссертационной работы опубликовано 10 печатных работ, в том числе 2 публикации в журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ. Автореферат диссертации в полной мере отражает ее основное содержание, а опубликованные работы раскрывают основные положения проведенного исследования.

**Структура и основное содержание диссертации.** Диссертационная работа Ахметовой Лилии Рафисовны изложена на 144 страницах компьютерного текста; состоит из введения, 4 глав, заключения, рекомендаций производству, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы и приложений. Работа содержит 18 таблиц, 70 рисунков. Библиографический список включает 169 источников, в том числе 120 на иностранных языках.

В первой главе (обзор литературы) автором освещается народно-хозяйственное и декоративное значение гортензии, приводится систематика, подробная морфо-биологическая характеристика и агротехника выращивания видов рода *Hydrangea* L., а также уделяется достаточное внимание анализу научных публикаций по семенному и вегетативному размножению растений рода *Hydrangea* L.

В отдельный подраздел автор выделила культуру клеток растений рода *Hydrangea* L.. Приводится информация о влиянии химических и физических факторов культивирования на морфогенетический потенциал исследуемых видов гортензии и возможности длительного сохранения представителей рода *Hydrangea* L. в культуре *in vitro*. Приводятся литературные данные по применению методов *in vitro* для преодоления трудностей гибридизации и повышения эффективности скрещиваний гортензии. Дан обзор литературных источников по использованию гидропонных установок для адаптации регенерантов *ex vitro*. Уделено внимание влиянию спектрального состава света на рост и развитие растений в условиях *in vitro*.

Во второй главе «Материалы, методика и условия проведения опыта» подробно охарактеризованы объекты исследований, описаны применяемые автором методы, приведены схемы и условия проведения экспериментов.

В главе 3 «Результаты исследований» представлены экспериментальные данные, полученные автором. Соискателем представлены результаты большой работы по разработке регламента получения асептической культуры гортензии исследуемых видов, подобраны условия стерилизационной обработки эксплантов, обеспечивающие высокий выход стерильных жизнеспособных эксплантов. Показано, что для большинства исследуемых сортов гортензии наиболее оптимальной для получения максимального количества стерильных жизнеспособных эксплантов является двухступенчатая стерилизация эксплантов раствором фунгицида системного действия «Чистоцвет» (2%) при экспозиции 15 минут и раствором дезинфицирующего препарата «Лизоформин 3000» (3%), экспозиция обработки 3 минуты.

Приведены экспериментальные данные по влиянию условий культивирования, в частности минерального, гормонального и углеводного состава питательной среды на морфогенез исследуемых видов в культуре *in vitro*. Использовали питательные среды QL, MS, WPM и B5, 6-БАП в концентрации 0,5, 1,0 и 2 мг/л без или с добавлением разных концентраций

ГК<sub>3</sub> и два источника углевода – сахарозу и глюкозу. Для размножения представителей рода *Hydrangea* L. Рекомендованы питательные среды QL и MS с добавлением 6-БАП в концентрации 1 мг/л. Коэффициент размножения гортензии при этом варьировал от 2,9 до 11,8 в зависимости от генотипа.

Приведены данные по изучению влияния типа ретардантов и их концентрации на жизнеспособность регенерантов *Hydrangea* L. при длительном депонировании в условиях +15°. Показано, что применение препарата ПБЗ в концентрации 0,4 мг/л обеспечивает сохранение максимальной жизнеспособности регенерантов.

Кроме того, соискателем установлено, что при укоренении микрочеренков целесообразно применять ИМК или ИУК в концентрации 1,0 и 2,0 мг/л. В этом случае в зависимости от генотипа достигается 70-90% укоренение микропобегов.

Проведен подбор оптимального состава субстрата для адаптации микрорастений к нестерильным условиям. При адаптации в условиях фитотрона наибольший процент прижившихся растений на всех вариантах опыта отмечен у сортов *H. arborescens* (79%), наименьший у сортов *H. paniculata* (65%). Выход жизнеспособных растений *H. macrophylla* составил 70%. Приживаемость растений- регенерантов через 30 дней после высадки в условия гидропоники составила 93% при применении в качестве субстрата агроперлита, при применении кокосового субстрата - 73%, при применении минеральной ваты - 67%.

Проведены комплексные исследования по изучению действия досветки белым и узкоспектральным красным и синим светом на биохимические и морфометрические показатели листьев растений-регенерантов представителей рода *Hydrangea* L. И последствие досветки на зимостойкость гортензии крупнолистной в условиях открытого грунта. Особое внимание было уделено изменению уровня фенольных соединений, в частности фенолкарбоновых кислот (ФКК) и абсцизовой кислоты (АБК) в тканях эксплантов.

В главе 4 рассчитана экономическая эффективность адаптации посадочного материала представителей рода *Hydrangea* L. в условиях гидропонной установки. По данным диссертанта рентабельность производства посадочного материала гортензии на основе метода клонального микроразмножения с применением гидропонной установки достигает 169%.

В Заключении сформулированы основные выводы по результатам проведенных исследований.

В Рекомендациях производству даны предложения, касающиеся состава питательных сред, субстрата для адаптации и досвечивания эксплантов красным и синем спектром света.

### **Замечания по содержанию и оформлению диссертации.**

Положительно оценивая работу Ахметовой Лилии Рафисовны по тексту диссертации можно сделать следующие замечания:

1. В конце литературного обзора желательно сделать вывод о состоянии вопроса по клональному микроразмножению представителей рода *Hydrangea* L. и обосновать необходимость проведения дальнейших исследований.

2. В главе 1 есть фраза, что «гортензии размножают в феврале-апреле зелеными черенками» (стр. 29). В нашей климатической зоне в феврале-апреле в открытом грунте зеленых черенков еще нет.

3. Главу 2 «Материалы, методика и условия проведения опыта» корректней озаглавить «Материалы, методика и условия проведения опытов».

4. Не совсем ясно, на диаграмме рис. 22 (стр. 68) приведены средние данные по всем вводимым в культуру формам или по какому-то конкретному генотипу.

5. Следовало бы конкретизировать вывод автора о том, что при концентрации 6-БАП 2 мг/л в среде наблюдается уменьшение коэффициента размножения, поскольку анализ данных, представленных на рис. 33 показывает, что по ряду сортов, наоборот, имеет место существенное увеличение коэффициента размножения при повышении концентрации 6-БАП до 2 мг/л. А средние значения, представленные на рис. 32, при двух концентрациях очень близки (6,9 и 6,8) и их различие не будет статистически достоверным.

6. В заключении отсутствует пункт о влиянии типа и концентрации ауксина на эффективность ризогенеза гортензии.

7. В тексте встречаются некорректные фразы: «повышенное внесение азотных и минеральных удобрений» (стр. 27), некоторые опечатки «узпеспектральным светом», «питетльной среды (стр. 138) и технические погрешности (на рис. 35, стр. 79) потеряны два обозначения в легенде диаграммы.

В качестве пожелания можно рекомендовать автору изучить влияние на эффективность размножения гортензии других регуляторов роста и источников углевода в различных концентрациях.

При представлении данных по адаптации растений-регенерантов логичней было бы сначала дать информацию по приживаемости эксплантов при применении различных почвосмесей, а затем по морфометрическим показателям адаптированных растений.

Отмеченные недостатки не имеют принципиального значения и не снижают ценности выполненной работы. Представленная работа актуальна, логически выстроена, её структура и содержание соответствуют цели и задачам исследования, выносимые на защиту положения достаточно обоснованы, результаты и выводы имеет практическую значимость.

**Соответствие работы требованиям Положения ВАК РФ, предъявляемым к кандидатским диссертациям.**

С учетом поставленной цели, полученных результатов и сделанных выводов рассматриваемая диссертационная работа соответствует требованиям Положения ВАК РФ, предъявляемым к кандидатским диссертациям и паспорту научной специальности 4.1.4 Садоводство, овощеводство, виноградарство и лекарственные культуры (пункты 7, 18, 21).


**Заключение.** Диссертационная работа Ахметовой Лилии Рафисовны выполнена автором самостоятельно на достаточно высоком методическом уровне и является законченной научно-квалификационной работой, которая отвечает требованиям ВАК РФ, с точки зрения актуальности, новизны и практической значимости полученных результатов предъявляемым к кандидатским диссертациям. Работа содержит совокупность научных результатов и положений, выдвигаемых для публичной защиты, и имеет внутреннее единство, а также свидетельствует о личном вкладе автора в науку. Выводы соответствуют полученным результатам экспериментов.

Считаю, что по объему, методическому уровню выполненных исследований, новизне, актуальности, теоретической и практической ценности полученных результатов диссертационная работа Ахметовой Лилии Рафисовны на тему: «Совершенствование технологии клонального микроразмножения представителей рода *Hydrangea* L.», соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук (пп. 9-11, 13, 14 «Положения о присуждении ученых степеней»), а ее автор, Ахметова Лилия Рафисовна заслуживает присуждения

ученой степени кандидата сельскохозяйственных наук по специальности 4.1.4. Садоводство, овощеводство, виноградарство и лекарственные культуры.

Официальный оппонент:


профессор кафедры садоводства, биотехнологий  
и селекции сельскохозяйственных культур  
федерального государственного  
бюджетного образовательного учреждения  
высшего образования «Мичуринский  
государственный аграрный университет»,  
кандидат биологических наук (2002 г, 03.00.23 – биотехнология),

 Муратова Светлана Александровна

федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение  
высшего образования «Мичуринский государственный аграрный  
университет» (ФГБОУ ВО Мичуринский ГАУ), 393760, Тамбовская обл., г.  
Мичуринск, ул. Интернациональная, д. 101, телефон +7(47545) 3-88-01,  
доб.202, 203, e-mail: [info@mgau.ru](mailto:info@mgau.ru)

Подпись Муратовой С.А. заверяю.

Проректор по научной и инновационной работе ФГБОУ ВО  
Мичуринский ГАУ, доктор экономических наук, профессор

 В.А. Солопов

02.08.2024

