

Отзыв
на автореферат диссертации
Синицыной Анастасии Александровны
«Усовершенствование методики получения удвоенных гаплоидов в
культуре изолированных микроспор растений рода *Brassica L.*»
представленной на соискание ученой степени кандидата
сельскохозяйственных наук по специальности 4.1.2. - Селекция,
семеноводство и биотехнология растений.

Диссертационная работа Анастасии Александровны посвящена изучению влияния различных факторов на частоту эмбриогенеза в культуре изолированных микроспор, частоту образования проростков из эмбриоидов, частоту прямого прорастания эмбриоидов растений рода *Brassica*: разновидностей *Brassica oleracea L.*, таких как: капуста белокочанная (var. *capitata L.*), капуста кольраби (var. *gongylodes L.*), капуста брокколи (var. *italica Plenck*), капуста листовая (var. *acephala DC.*) и рапса (*Brassica napus L.*). Выбранная тема исследования имеет важное прикладное и теоретическое значение, поскольку получение удвоенных гаплоидов в достаточном количестве необходимо для создания сортов и гибридов растений, а также для изучения генотипов.

В своей работе Анастасия Александровна рассмотрела все стадии получения удвоенных гаплоидов и смогла определить оптимальные условия для каждого этапа методики. Автор показала, что на этапе изоляции и очистки микроспор возможно использование 13%-го раствора сахарозы вместо среды В5 и вместо среды NLN-13 на этапе теплового шока, что снижает себестоимость получения удвоенных гаплоидов без снижения качества и количества получаемых растений. Кроме того, было рекомендовано добавление антибиотика цефотаксима (50 мг/л) на этапе теплового шока изолированных микроспор рапса (*B.napus L.*) в течение 1-2 суток, что увеличивало выход эмбриоидов. Для капусты белокочанной (*B.oleracea*) инкубирование микроспор при температуре 32,5° С в течение 24, 48 часов в среде с 0,2-0,5 мг/л полиамина путресцина стимулировало эмбриогенез и способствовало получению растений-регенерантов. Изучение влияния сахаров в составе питательной среды показало, что инкубирование микроспор именно в растворе сахарозы (130 г/л) во время тепловой обработки (32,5° С; 24 часа) увеличивает частоту эмбриогенеза и конечный выход УГ рапса (в 2,3 и 2 раза соответственно). Важным этапом в получении растений-регенерантов является прорастание эмбриоидов, которое может проходить сразу или через образование каллуса или вторичного эмбриогенеза, что соответственно влияет на время опыта и расход питательной среды. Факторы, определяющие прямое прорастание эмбриоидов в растения, были изучены Анастасией Александровной в ходе работы над диссертацией и было определено, что частота образования проростков из эмбриоидов растений рода *Brassica* зависит от генотипа, зрелости эмбриоидов (высокая положительная связь $r = 0,87$), температуры инкубирования и освещенности после перемещения на агаризованную среду (обработка низкими положительными температурами (5° С) эмбриоидов кольраби (*B. oleracea var.*

gongylodes L.) в полной темноте в течение 3, 6, 9 дней увеличивает частоту их прямого прорастания).

В ходе анализа работы возникло несколько замечаний:

1. Инкубирование микроспор при повышенных температурах проводилось в центрифужных пробирках. Микроспоры в растворах, используемых в работе, в процессе инкубации опускались на дно, аэрация раствора могла быть нарушена, если данная стрессовая обработка не проводилась на шейкере. Рекомендуется в последующей работе проводить инкубацию в чашках Петри или на шейкере.
2. В автореферате нет данных о соотношении выхода удвоенных гаплоидов и гаплоидов в результате применения того или иного изменения в протоколе, эти данные были бы интересны для изучения, поскольку имеются свидетельства, что при прямом прорастании эмбриоидов частота выхода удвоенных гаплоидов может снижаться.

Несмотря на указанные выше замечания, при оценке работы в целом, следует отметить, что она представляет собой интересное и тщательное исследование. Материал диссертации, изложенный в автореферате, представлен четко, грамотно, легко и с интересом читается. Его содержание отражает основные положения и заключения диссертации. Результаты исследований были представлены в 2 статьях, опубликованных в журналах, в материалах 2 научно-практических конференций. Синицына А.А. является одним из авторов патента. Исследования выполнены на хорошем методическом уровне, по объему и полученным результатам соответствует требованиям инструкции ВАК, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор, Синицына Анастасия Александровна, заслуживает присвоения ученой степени кандидата сельскохозяйственных наук по специальности 4.1.2. - Селекция, семеноводство и биотехнология растений

Шумилина Дарья Владимировна

Кандидат биологических наук (защита растений 06.01.11, 2008 г.)

Генеральный директор ООО Селекционная компания «Астра»

121205, г. Москва, территория Сколково Инновационного Центра,

Большой бульвар, д.42, стр. 1, этаж 0, помещение 137

Телефон: 8 (495) 741-27-35, d.shumilina@astrabreeding.ru

Дата 15.05.2023

подпись

