ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу Ермолаева Алексея Станиславовичана тему «Создание линий желтоплодного кабачка и патиссона (*Cucurbita pepo* L.) с использованием биотехнологических и классических методов селекции», представленную на соискание ученой степени кандидата сельскохозяйственных наук по специальности 4.1.2. – Селекция, семеноводство и биотехнология растений (сельскохозяйственные науки)

Актуальность темы исследований. Тыквенные культуры кабачок и патиссон занимают важное место в валовом сборе овощебахчевых культур России. Их отличает высокая продуктивность, ценный биохимический состав, многообразие направлений использования; кабачок рекомендован Минздравом РФ для ежедневного потребления. Несмотря на высокую сортовую представленность в Госреестре РФ, кабачок и патиссон нуждаются в постоянном селекционном совершенствовании для создания исходного материала для целевой селекции и новых отечественных конкурентоспособных гибридов в ходе импортозамещения, в том числе с нетрадиционной окраской плода, а также триплоидов, что является актуальной и востребованной задачей.

Современные реалии развития сельского хозяйства требуют ускорения селекционного процесса путем внедрения инновационных технологий молекулярного анализа и биотехнологии. Ускоренное создание перспективных гетерозисных гибридов F_1 возможно на основе использования в качестве родительских гомозиготных линий удвоенных гаплоидов, что для тыквенных растений эффективно с помощью наиболее разработанной культуры неопыленных семяпочек. Необходима отечественная оптимизированная технология производства DH линий, учитывающая особенности гиногенеза кабачка и патиссона.

Все вышеизложенное позволяет признать тему диссертационной работы Ермолаева Алексея Станиславовича очень актуальной.

Научная новизна исследований.

Впервые в России с помощью методов биотехнологии получены гиногенные диплоидные и тетраплоидные линии кабачка и патиссона, на их

основе созданы перспективные бессемянные триплоидные гибриды. Впервые изучены детальные морфологические особенности пыльцы тыквенных культур с разным уровнем плоидности. Показана высокая эффективность использования микросателлитных маркеров для подтверждения статуса удвоенных гаплоидов растений-регенерантов твердокорой тыквы.

Теоретическая и практическая значимость.

Автором предложены элементы технологии получения DH-растений кабачка и патиссона в культуре неопыленных семяпочек *in vitro*, по эффективности превосходящие мировые аналоги; значительно ускоренный по сравнению со стандартным способ стерилизации завязей; разработаны эффективные протоколы оценки уровня плоидности растений-регенерантов твердокорой тыквы.

Практическая ценность работы определяется созданием линейного гомозиготного материала различной плоидности с комплексом хозяйственно ценных признаков, с насыщенно желтыми плодами, преимущественно женского типа цветения и толерантностью к патогенам мучнистой росы для генетических и селекционных исследований.

Методология и методы исследования. Методология исследования основана на традиционных методах селекции (самоопыление, гибридизация и отбор), методах культивирования *in vitro* клеток, тканей и органов растений, фитопатологической, цитологической и молекулярно-генетической оценки. Эксперименты проведены с использованием стандартных методик с различными модификациями и подробно представлены в соответствующем разделе.

Основные положения, выносимые на защиту. 1. Создание и комплексная характеристика линейного желтоплодного исходного материала кабачка и патиссона с улучшенными хозяйственно ценными признаками, преимущественно женского типа цветения. 2. Усовершенствованная технология получения удвоенных гаплоидов кабачка и патиссона путем модификации индукции гиногенеза, регенерации эксплантов, ризогенеза *in vitro* и укоренения *in vivo*. 3. Адаптированная к культуре кабачка технология

получения бессемянных форм различной плоидности. 4. Эффективные протоколы оценки уровня плоидности растений-регенерантов форм твердокорой тыквы.

Степень достоверности и апробация результатов. Научные положения, выводы и рекомендации, сформулированные в диссертации, достоверны и обоснованы: тщательным анализом отечественной и зарубежной литературы по исследуемой проблеме: 189 источников, из них 154 – на иностранных языках; современными методами исследования и статистического анализа полученных результатов; апробацией результатов на шести научных конференциях и симпозиумах, включая VI Международный Симпозиум по тыквенным культурам / VI International Symposium on Cucurbits (2019 г., Бельгия, г. Гент); публикацией в открытой печати шести научно-исследовательских работ, в том числе трех в рецензируемом научном журнале, рекомендованном ВАК РФ, одной работы – в журнале базы данных Web of Science, Scopus (Horticulturae), двух статей в сборниках докладов и тезисов; участием в создании селекционного достижения (подано заявление на допуск к использованию сорта кабачка Московское кружево).

Личный вклад автора. Автором разработана программа исследований, получены экспериментальные данные, проведен анализ и теоретическое обобщение результатов, подготовлены и опубликованы в соавторстве научные статьи.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 171 странице компьютерного текста, содержит 15 таблиц, 32 рисунка и 7 приложений. Она имеет традиционную структуру и состоит из введения, включающего описание целей и задач исследований, трех глав (обзор литературы; условия, материал и методы исследований; изложение и анализ результатов исследований), заключения, рекомендаций по практическому применению результатов исследований, списка использованной литературы и приложений. Список литературы содержит 189 источников, из них – 154 иностранных авторов.

Во *Введении* диссертант дает описание актуальности и степени разработанности темы исследований, направленных на получение гомозиготных линий и бессемянных триплоидных гибридов форм твердокорой тыквы с помощью оптимизации этапов технологии получения удвоенных гаплоидов в культуре неопыленных семяпочек *in vitro,* формулирует цели и задачи работы. Важность изучения этих проблем, в применении к таким широко распространенным сельскохозяйственным культурам как кабачок и патиссон, не вызывает сомнения. Представлены научная новизна работы, теоретическая и практическая значимость полученных результатов, положения, выносимые на защиту, достоверность и апробация выполненной работы, а также отмечен личных вклад соискателя, объем и структура работы, информация о публикациях результатов исследования.

Глава I посвящена обзору научной литературы по теме диссертационной работы. Диссертант рассматривает народнохозяйственное значение тыквенных культур, современное состояние производства кабачка и патиссона, дает ботаническую и биологическую характеристику изучаемых культур. Затронуты вопросы систематики, основных направлений селекции, методов создания исходного материала. Интересны сведения об особенностях гаплоидных технологий в селекции культур семейства Cucurbitaceae и конкретно твердокорой тыквы в историческом аспекте и особенно современное состояние исследований проблемы, в том числе методов идентификации плоидности и использования молекулярных маркеров для подтверждения происхождения растений-регенерантов из гаплоидных клеток.

Обзор литературы оставляет хорошее впечатление полнотой охвата темы и глубиной её проработки. Автор ясным научным языком излагает принципы механизмов описываемых процессов, дает определения и характеристики, подводя читателя к разделам диссертации, посвященным изложению результатов исследований.

Глава *Материалы и методы исследований* посвящена описанию почвенно-климатических условий проведения экспериментов, коллекционного и селекционного материала и использованных методов изучения влияния многочисленных факторов на индукцию гиногенеза кабачка и патиссона, методов анализа микросателлитов, фертильности пыльцы, оценки плоидности.

Считаю необходимым отметить использование автором самых современных биотехнологических методов.

В обширной экспериментальной части диссертации (Глава 3. *Результаты и обсуждение*) представлены результаты исследований: разработана модель сорта обеих изученных культур, оценены по фенологическим и морфологическим характеристикам и устойчивости к мучнистой росе коллекционные образцы кабачка и патиссона, проведена гибридизация желтоплодных образцов с высококачественными зеленоплодными, созданы перспективные по различным направлениям селекции линии четвертого инбредного поколения. Интересны результаты изучения наследования окраски плода в первом гибридном поколении.

Наибольший интерес представляют разделы диссертации, связанные с оптимизацией этапов технологии получения удвоенных гаплоидов *C. pepo* в культуре неопыленных семяпочек *in vitro*, в которых отражена научная новизна представленной работы: определение оптимальной стадии развития женского гаметофита для индукции гиногенеза, стерилизация завязей с оценкой типа эксплантов, влияние холодовой обработки и особенно значима разработка оптимального состава питательной среды для получения удвоенных гаплоидов с описанием основных этапов образования и развития эмбриоидов из семяпочек изолированных неопыленных завязей. Много внимания уделено сравнению методов оценки плоидности растений-регенерантов, морфологическим особенностям пыльцы форм разной плоидности. Подтверждено, что обязательным этапом протокола получения удвоенных гаплоидов кабачка является молекулярное тестирование

истинности удвоенной гаплоидизации регенерантов, выделены два эффективных микросателлитных маркера.

Разделы 3.10 и 3.11 наиболее интересны для практикующих селекционеров, т.к. в них дана расширенная характеристика созданных методами биотехнологии источников селекционно ценных признаков и впервые созданных триплоидных бессемянных форм.

Данные, приведенные в экспериментальной части работы, показывают, что автору удалось достичь поставленной перед собой цели. Применение математического аппарата позволяет сделать выводы актуальными и обоснованными.

Экспериментальный материал, проанализированный автором, весьма обширен. Исследования выполнены с использованием как традиционных, так и самых современных методов и технологий. Работа написана ясным языком, в ней выдержана логическая нить повествования.

Существенных расхождений в содержании автореферата и диссертации не выявлено.

Замечания по диссертационной работе

- Количество сортов и даже гибридов F1 кабачка (244) и патиссона (44) с разной окраской плодов в Госреестре РФ достаточно велико, в том числе присутствуют желтоплодные формы. Хотелось бы более ясного изложения ценности именно таких форм.

- В автореферате используется аббревиатура DH – при первом упоминании следовало дать полностью.

- В автореферате: «Именно из бутонов на стадии FL…» - в стадии полного раскрытия цветка бутона нет.

- Стр. 13: Русским ученым А.И.Филовым разработана ясная систематика тыквы *Cucurbita*, в том числе вида твердокорой тыквы *C. pepo*, в подвид кустовой тыквы subsp. *brevicaulis* которого входят на правах разновидностей кабачок var. *giraumonas* и патиссон var. *melopepo*. В диссертации присутствует

некоторый сумбур в изложении систематического положения кабачка и патиссона.

Диссертант в ряде случаев не показывает авторство ботанических таксонов.

- Стр. 51: «Коллекционный материал изучался в условиях открытого грунта опытно- производственной базы ФГБНУ ФНЦО. По каждому образцу было высажено, в зависимости от ценности селекционного материала, от 5 до 15 растений». – Число растений в образце коллекционного материала? То есть ценность образцов была определена заранее?

- Стр. 71-72: в Таблице 1 окраска коры коллекционных образцов преимущественно оранжевая, в тексте образцы желтоплодные.

- Стр. 119: «Для патиссона удалось выделить 7 линий, цвет окраски которых варьирует от темно-желтой до оранжевой». – Обычно образцы желтые в технической, оранжевые в биологической спелости. Правильно ли было определено время спелости образцов?

- В диссертационной работе достаточно много синтаксических ошибок, пропусков, несогласований.

Однако, объём выполненных исследований, их несомненная научная новизна и значимость для практической селекции, перевешивают отмеченные зачастую формальные недостатки. Считаю также необходимым отметить, что работа выполнена на высоком научно-методическом уровне. Со всеми поставленными задачами автор справился. Основные положения, изложенные в диссертации, апробированы на 6 научных конференциях, опубликованы в 6 печатных работах, из них 3 – в изданиях, рекомендованных ВАК, 1 – в журналах из базы данных Web of Science и Scopus.

Заключение по диссертационной работе

В целом выводы и практические рекомендации, представленные в диссертации, соответствуют полученным результатам. Автореферат соответствует диссертации и является ее отражением. По материалам

диссертации опубликовано шесть печатных работ, три из которых в журналах, реферируемых ВАК РФ. Диссертация отвечает требованиям, предъявляемым ВАК РФ к диссертациям, представленным на соискание ученой степени кандидата сельскохозяйственных наук по специальностям: 4.1.2 – селекция, семеноводство и биотехнология растений, а ее автор заслуживает присуждения искомой ученой степени.

Считаю, что диссертационная работа «Создание линий желтоплодного кабачка и патиссона (Cucurbita pepoL.) с использованием биотехнологических и классических методов селекции», соответствует критериям, установленным «Положением о присуждении учёных степеней», утверждённым Постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24.09.2013, а её автор – Ермолаев Алексей Станиславович – заслуживает присуждения учёной степени кандидата сельскохозяйственных наук по специальности 4.1.2. – Селекция, семеноводство и биотехнология растений (сельскохозяйственные науки).

Отзыв на диссертацию обсужден и одобрен на расширенном заседании отдела генетических ресурсов овощных и бахчевых культур ФГБНУ ФИЦ ВИР, протокол № 8 от 27 октября 2023 г.

Отзыв подготовила:
Ведущий научный сотрудник,
Ио заведующего отделом генетических ресурсов
овощных и бахчевых культур ВИР,
кандидат сельскохозяйственных наук Артемьева Анна Майевна

Артемьева Анна Майевна
ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Всероссийский научно – исследовательский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР)»
190000, г. Санкт – Петербург, ул. Большая Морская, 42-44.
Email: office@vir.nw.ru; Tel.: +7-812-312-51-61

Подпись кандидата сельскохозяйственных наук Артемьевой А.М. заверяю:
Ученый секретарь ВИР, кандидат биологических наук
Ефремова Ольга Сергеевна
30.10.2023