

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу Белова Сергея Николаевича на тему «Селекция огурца для весенних плёночных теплиц с использованием классических и биотехнологических методов», представленную к защите в диссертационном совете 24.1.256.01 на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр овощеводства» (ФГБНУ ФНЦО) на соискание ученой степени кандидата сельскохозяйственных наук по специальности 4.1.2. – Селекция, семеноводство и биотехнология растений (сельскохозяйственные науки)

Актуальность темы исследования.

Огурец (*Cucumis sativus* L.) – является одной из самых распространённых овощных культур семейства тыквенных (Cucurbitaceae Juss.), рода *Cucumis* L. В 2022 году Россия занимала шестое место по площади и четвёртое — по объёму производства огурца в мире. На сегодняшний день селекция огурца ориентирована на создание высокопродуктивных гибридов, адаптированных к различным условиям выращивания. В связи с этим возникает необходимость создания отечественных гибридов, которые превосходят иностранные по урожайности, скороспелости, устойчивости к вредителям и болезням.

Гибриды огурца часто не обладают достаточной устойчивостью к болезням, что снижает их урожайность и качество продукции. Настоящая и ложная мучнистая роса, а также корневые гнили являются распространёнными заболеваниями, которые могут привести к значительным потерям урожая. Поэтому непрерывная селекция на устойчивость к этим заболеваниям и поиск новых источников устойчивости являются актуальными задачами для развития отечественного овощеводства.

Одним из ключевых этапов в создании F₁-гибридов овощных культур, таких как огурец, является получение гомозиготных родительских линий. Традиционные методы селекции требуют много времени и усилий для создания инбредных линий. Однако альтернативой является технология получения удвоенных гаплоидов (DH) на основе индукции гиногенеза. Она позволяет получать чистые (100 % гомозиготные) DH-линии за один-два года. Использование культуры неопылённых семязпочек *in vitro* является перспективным и востребованным подходом для овощных культур семейства Cucurbitaceae.

Будущее селекции заключается во взаимодействии традиционных методов с новейшими разработками в области биоинформатики, биохимии,

молекулярной генетики, молекулярной биологии, геной инженерии и биотехнологии. Это позволит удовлетворить растущий спрос на продукты питания и улучшить качество и эффективность глобальных поставок продовольствия.

В связи с этим, работа соискателя Белова Сергея Николаевича, направленная на оптимизацию этапов технологии получения удвоенных гаплоидов огурца в культуре неопыленных семян *in vitro* и получение исходного гомозиготного селекционного материала с комплексом хозяйственно-ценных признаков с использованием биотехнологических и классических методов селекции, является актуальной, востребованной и имеет большую практическую значимость.

Оценка новизны и практической значимости исследований.

В настоящее время имеется достаточно большое разнообразие исследований по созданию удвоенных гаплоидных растений, однако эффективность этих технологий остается в большинстве случаев нестабильной, генотипспецифичной и требует индивидуального подбора условий культивирования для каждого генотипа.

В результате выполнения диссертационной работы усовершенствована технология получения удвоенных гаплоидов огурца в культуре неопыленных семян *in vitro*. Это позволило ускорить процесс создания линий с определёнными признаками и получить принципиально новый исходный материал — удвоенные гаплоидные линии огурца, показавшие высокую выровненность по основным морфологическим признакам и имеющие высокую практическую значимость для селекции и генетических исследований.

Несомненную актуальность проведенное научное исследование приобретает вследствие создания с использованием методов классической селекции оригинальных гиноцидных линий огурца, сочетающих высокую степень партенокарпии с устойчивостью к настоящей и ложной мучнистой росе и другими хозяйственно полезными признаками. Кроме того, получены перспективные гибридные комбинации огурца партенокарпического типа с высокой урожайностью и товарностью плодов для выращивания в пленочных необогреваемых теплицах и соответствующие запросам как потребителей, так и производителей.

Степень достоверности научных исследований, выводов и рекомендаций.

Представленная диссертация является завершенной научно-квалификационной работой. Результаты исследований и основные положения диссертационной работы были представлены, обсуждены и

одобрены на четырех международных и всероссийских конференциях различного уровня. По теме диссертации опубликовано 9 печатных работ в отечественных и зарубежных изданиях, в том числе 6 из них – в рецензируемых научных журналах, входящих в перечень ВАК РФ. Соискателем в соавторстве принято участие в создании гибрида огурца и подана в ГСИ 1 заявка на селекционное достижение. Таким образом, достоверность и обоснованность полученных результатов не вызывает сомнений.

Практическая ценность работы.

Практическая значимость исследований, проведенных диссертантом, заключается в разработке и оптимизации основных этапов технологии получения удвоенных гаплоидов огурца в культуре неопылённых семяпочек *in vitro*, обеспечивающей индукцию гиногенеза свыше 60 %.

Впервые в России из различных генотипов огурца в результате культивирования неопылённых семяпочек были получены ДН-линии, демонстрирующие высокую выравненность по основным морфологическим признакам.

Был создан и передан на государственные испытания в ФГБУ «Госсорткомиссия» партенокарпический гибрид огурца для весенних теплиц, обладающий комплексом хозяйственно ценных характеристик, под названием Денди F₁.

Теоретическая ценность работы заключается в том, что полученные результаты могут быть использованы при проведении лабораторно-практических работ по дисциплинам «Сельскохозяйственная биотехнология», «Прикладная биотехнология», «Культура клеток и тканей растений» для студентов, обучающихся по направлениям «Биотехнология» и «Агрономия», ученых, занимающихся в этой области с видом *Cucumis sativus* L.

Структура и содержание диссертации.

Текст диссертации состоит из введения, трех глав, заключения, рекомендаций по практическому применению результатов диссертационной работы, списка использованной литературы и приложений. Диссертация изложена на 147 страницах компьютерного текста. Работа содержит 31 таблицу, 29 рисунков и 5 приложений. Список литературы содержит 200 источников, из них – 140 иностранных.

Глава 1 представляет собой обзор литературы, в котором автор изучает ботанические и биологические особенности культуры, а также основные направления селекции огурца, такие как гетерозис, партенокарпия и устойчивость к болезням. В главе также подробно описаны гаплоидные

технологии, используемые для ускорения селекционного процесса у представителей семейства Cucurbitaceae, и отдельно для *C. sativus* L. Анализируются факторы, влияющие на эффективность технологии гиногенеза, и методы определения плоидности регенерированных растений. На основе проведённого анализа сформулирована цель исследования, определены задачи и разработана программа исследований.

Во Главе 2 представлены материалы и методы исследования. Описаны агротехнологические условия для весенних плёночных теплиц, открытого грунта и климатических камер. Указываются метеорологические условия, полученные с помощью автоматической метеорологической станции ФГБУ «Центральное УГМС ВНИИССОК». Подробно описываются методики проведения оценки селекционного материала, в соответствии с которыми проводились фенологические наблюдения, описание растений по типу цветения, ветвления и количеству завязей в узле, характеристику плодов, определение горечи, учёт урожая, оценку степени партенокарпии, устойчивость к возбудителям пероноспороза и мучнистой росы на естественном и искусственном инфекционных фонах, а также определение биохимического состава.

Приводится методика выполнения биотехнологических этапов работ, необходимых для создания успешной технологии получения ДН-растений огурца при использовании культуры неопыленных семян *in vitro*: подготовка завязей, а именно отбор бутонов на оптимальной стадии развития женского гаметофита; стерилизация эксплантов; используемые питательные среды и условия их приготовления; изоляция семян и введение в культуру *in vitro*; условия культивирования семян в культуре *in vitro*; наблюдения за развитием семян в культуре *in vitro* и развитием эмбрионов/каллуса; получение растений-регенерантов; адаптация к условиям *ex vitro* и выращивание растений-регенерантов; получение семенного потомства растений-регенерантов R_0 и R_1 ; методика оценки определения плоидности образцов растений, полученных в культуре *in vitro*.

Диссертант использовал актуальные и современные методы исследования, которые позволили провести работу на высоком методическом уровне. Достоверность результатов не вызывает сомнений, поскольку данные экспериментов были статистически обработаны.

Глава 3 посвящена результатам диссертационного исследования.

В первой части главы, посвященной классической селекции, представлены результаты проведенной оценки коллекционных образцов огурца в питомнике исходного материала. По предварительной оценке были отобраны генетические источники: высокой степени партенокарпии – Артист

F₁, Лель F₁, Монисиа F₁, Эксельсиор F₁; букетного расположения завязи – Кураж F₁, Маринда F₁, Могучая кучка F₁, Санькина любовь F₁, Три танкиста F₁; толерантности к настоящей мучнистой росе – Амур 1801 F₁, Кибрия F₁, СВ 4097 ЦВ F₁, Семенис F₁.

Во второй части главы, посвящённой биотехнологии, представлены результаты экспериментов по разработке элементов технологии получения ДН-растений огурца в культуре неопылённых семяпочек *in vitro*. После оптимизации отдельных элементов технологии была обнаружена отзывчивость к гиногенезу у 12 из 16 изученных генотипов *C. sativus*, и были получены гомозиготные растения огурца за один вегетационный период. Наибольший процент индуцированных семяпочек составил 60,4 %, общее количество полученных растений — 91.

В диссертационной работе показано, что соискателем с помощью проточной цитометрии клеточных ядер, среди полученных растений регенератов, были выявлены, диплоидные (2n) образцы, со средним значением ДНК 2С = 1,835 pg, триплоидные (3n) образцы со средним значением ДНК 2С = 2,708 pg и тетраплоидные (4n) образцы со средним значением ДНК 2С = 3,576 pg.

В третьей части главы изложено создание родительских форм для гетерозисных гибридов огурца. Здесь представлена оценка семенного потомства образцов огурца, характеризующихся высокой степенью выровненности по морфологическим признакам и обладающих хозяйственно полезными свойствами. Образцы линий № 1763-27-3-2021 и № 119-1-3012 были включены в селекционный процесс.

С помощью классических методов селекции удалось повысить степень выраженности партенокарпии, так у лучших селекционных линий в 2022 году по сравнению с 2021 годом увеличение составило 17,1 %, а в 2023 году по сравнению с 2022 годом — 10,35 %. Проявление партенокарпии у гибридов F₁ варьировалось от положительного гетерозиса до промежуточного уровня и отрицательного доминирования и сверхдоминирования.

В ходе исследований в условиях открытого грунта Подмосковья были выявлены линии огурца партенокарпического типа, обладающие высокой устойчивостью к ложной мучнистой росе: Л-48, Л-161, Л-170, Л-188-2, Л-196, Л-210-1. В 2022 году в условиях Приморского края были созданы гибридные комбинации с использованием выделенных линий, которые проявили толерантность к ложной мучнистой росе. Это комбинации Л-161 × Л-210 и Л-129 × Л-210-1.

В результате комплексной фитопатологической оценки были выделены новые генетические источники устойчивости к мучнистой росе: Л-129, Л-130, Л-143, Л-168 и Л-208.

В результате исследовательской работы соискателем было отобрано 14 новых оригинальных короткоплодных линий огурца партенокарпического типа, обладающих комплексом хозяйственно полезных признаков. Этот выровненный селекционный материал был получен в результате четырёх и более инцухтирований.

В заключительной части третьей главы автор оценивает новые гибридные комбинации по комплексу хозяйственно полезных признаков. Были отобраны семь новых гибридных комбинаций, которые превосходили стандарт по общей урожайности плодов на 0,8-5,2 кг/м² (8-51 %) и отличались высоким качеством и товарностью плодов. На основе этих результатов был создан и передан на государственное испытание в ФГБУ «Госсорткомиссия» гибрид огурца партенокарпического типа для весенних теплиц под названием Денди F₁.

Все выводы соответствуют поставленным задачам, выстроены и изложены в четкой последовательности.

Заключение и практические рекомендации, представленные в диссертации, являются логическим результатом проведённых теоретических и экспериментальных исследований. Они имеют практическую значимость и представляют интерес для специалистов в данной области.

Работа хорошо иллюстрирована подробными таблицами, рисунками и фотографиями, что делает её более наглядной и доступной для восприятия. Диссертация представляет собой целостное научное исследование, изложенное последовательно и структурированно, готовое к защите в качестве завершённого труда.

Содержание автореферата и публикаций полностью соответствуют содержанию диссертационной работы.

Замечания и пожелания по диссертационной работе.

1. Желательно в конце главы 1 привести заключение по обзору литературы, из которого следует актуальность планируемых исследований.

2. В главе 2, целесообразно было бы пронумеровать формулы, используемые для расчетов.

3. Необходимо уточнить, чья шкала устойчивости растений огурца к пероноспорозу была применена в работе? Эта шкала автора или она заимствована?

4. На странице 49 автор пишет «Концентрация спор в камере Горяева

составляла 104». Следует уточнить – в каком объеме содержится 104 споры и какая концентрация рабочего раствора при инокуляции.

5. Как можно гарантировать равномерное распределение инокулюма по растению при использовании пульверизатора?

6. Для показателей «Коэффициент увеличения семяпочек» и «Скорость увеличения семяпочек» необходимо привести обозначения (стр. 52).

7. В какой аналитической и биологической повторности были проведены исследования с культурой изолированных семяпочек?

8. В главе 3 соискатель указывает «Исследуемые коллекционные образцы оценивались на горечь». Однако методика оценки не приведена в главе 2. Следует уточнить по какой методике оценивали горечь зеленца?

9. На странице 79 автор пишет – «формирование ... каллуса с высоким морфогенетическим потенциалом, который в дальнейшем формировал проростки и листья». Следует уточнить – морфогенез происходил по пути образования биполярной (эмбриогенез) или монополярной (органогенез) структуры? В случае формулировки автора – это эмбриогенез, что не следует из текста диссертации.

10. Не очень корректно использовать термин «банка». Лучше использовать термин «стеклянный сосуд».

Впрочем, отмеченные замечания и пожелания не снижают высокого качества исследований, они не влияют на главные результаты диссертации, описанные выше. Результаты оригинальны, обладают научной новизной и практически значимы, демонстрируют вклад диссертанта в область современной селекции и биотехнологии, показывают высокий уровень проведенных исследований. Это характеризует соискателя как вполне сложившегося исследователя, умеющего самостоятельно ставить и решать сложные селекционные задачи с использованием комплекса современных биотехнологических методов.

Заключение.

Диссертационная работа Белова Сергея Николаевича на тему «Селекция огурца для весенних плёночных теплиц с использованием классических и биотехнологических методов», представляет собой законченную научно-квалификационную исследовательскую работу. Новые научные результаты, полученные диссертантом, имеют значение для российской науки и представляют большой практический интерес для селекционеров, работающих в области селекции тыквенных культур. Работа соответствует критериям предъявляемым к кандидатским диссертациям требованиям, установленным п. 9-14 «Положения о присуждении ученых

степеней» (Постановление Правительства РФ №842 от 24.09.2013 г.), а ее автор Белов Сергей Николаевич заслуживает присуждения ученой степени кандидата сельскохозяйственных наук по специальности 4.1.2. – Селекция, семеноводство и биотехнология растений (сельскохозяйственные науки).

Официальный оппонент:

Профессор кафедры биотехнологии
Федерального государственного
бюджетного образовательного учреждения
высшего образования «Российский
государственный аграрный
университет – МСХА имени К.А.
Тимирязева»
(ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А.
Тимирязева),
доктор биологических наук
(03.00.23 – Биотехнология, 2004),
профессор

Калашникова
Елена Анатольевна

Подпись Калашниковой Е.А. заверяю:



Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева» (ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева), 127434, г. Москва, ул. Тимирязевская, д. 49, Тел. +7 (499) 976-40-72, E-mail: ekalashnikova@rgau-msha.ru

27.05.2024 г.