

селекционного материала (что важно в селекционных программах), но и получить чистосортный посадочный материал, оздоровленный от грибных, бактериальных, вирусных и др. заболеваний. За последние 2-3 десятилетия в литературе появилось немало работ, посвященных различным аспектам клонального микроразмножения смородины, тем не менее, внедрение в производство новых сортов требует дополнительной оптимизации методик, обусловленное значительной генетической зависимостью процесса морфогенеза *in vitro*. Помимо этого, ряд проблем, в частности низкий коэффициент размножения, или частота адаптации микрорастений к нестерильным условиям, могут быть решены с привлечением методов биофотоники, а также при использовании климатических камер, которые пока относительно редко применяются в процессе получения посадочного материала в культуре изолированных тканей и органов.

В этой связи диссертационная работа Ряго Нелли Васильевны, посвященная оптимизации элементов технологии микроразмножения сортов смородины красной *in vitro* и адаптации микрорастений в условиях закрытых искусственных агроэкосистем, несомненно, является актуальной.

Научная новизна исследований. Автором диссертации Н.В. Ряго впервые для восьми сортов смородины красной отечественной и зарубежной селекции усовершенствованы основные элементы технологии клонального микроразмножения за счет подбора оптимальных сроков введения почек в культуру *in vitro*, типов стерилизующих агентов растительных эксплантов, оптимизации компонентов питательных сред для микроразмножения и укоренения *in vitro*, а также условий адаптации *ex vitro*. Показана эффективность применения среды Мурасиге и Скуга для увеличения приживаемости эксплантов и индукции активного морфогенеза культивируемых почек. Оптимизирован гормональный состав сред для 2 и 3 этапов микроразмножения: подобраны концентрации БАП для пролиферации эксплантов и ауксинов (ИУК, ИМК) для укоренения микропобегов *in vitro*. Впервые для смородины выявлены особенности влияния комбинированного светодиодного освещения различного спектрального состава на морфометрические и биохимические параметры микрорастений при адаптации к нестерильным условиям выращивания. В условиях закрытых искусственных агроэкосистем показаны преимущества комбинированного светодиодного освещения (при использовании светодиода белого+красного+ультрафиолетового – диапазон А (СД-БКУФ-А) света) в повышении эффективности адаптации микрорастений *ex vitro*.

Теоретическая и практическая значимость полученных результатов работы. Новизна и практическая значимость исследований Н.В. Ряго представляются достаточно весомыми. Разработаны методические приемы, позволяющие повысить эффективность клонального микроразмножения сортов

смородины, включающие оптимизацию условий введения в асептическую культуру и состава питательных сред для микроразмножения и укоренения *in vitro*. Получены и расширены новые знания о влиянии спектрального состава света на морфофизиологические показатели смородины красной на этапе адаптации микрорастений *ex vitro*, что позволило подобрать оптимальные режимы освещения, повышающие эффективность адаптации. Выявленные закономерности использования биофотоники в процессе клонального микроразмножения могут быть применимы и для других видов растений. В диссертации представлен усовершенствованный протокол микроклонального размножения смородины красной. Разработанные диссертантом методические приемы, направленные на повышение эффективности получения посадочного материала при микроразмножении, уже испытываются на практике; в частности, в лабораториях ФГБНУ ВНИИСПК и ФГБНУ ФНАЦ ВИМ. Полученные *in vitro* растения смородины переданы в ФГБНУ ВНИИСПК, а также в КХ «Глория». В Приложениях представлены справки и акты внедрения.

Степень достоверности результатов исследований и обоснованность выводов и заключений, сформулированных в диссертации. Автором диссертации на соискание ученой степени кандидата сельскохозяйственных наук Ряго Нелли Васильевны проведены экспериментальные исследования по оптимизации питательных сред и условий культивирования, направленные на повышение эффективности микроразмножения *in vitro* и адаптации *ex vitro* сортов смородины красной. Результаты исследований получены на сертифицированном оборудовании, прослеживается воспроизводимость результатов опытов, проведенных на современном методическом уровне с использованием основных статистических методов. Теоретические и практические выводы основаны на отечественных и зарубежных литературных данных, а также на собственных научных результатах, которые достаточно проанализированы. Диссертация охватывает основные вопросы поставленных научных задач и соответствует критерию внутреннего единства, что подтверждается наличием последовательного плана экспериментального исследования, основной теоретической линии, взаимосвязью задач и выводов. Научно-методическая ценность представленной работы заключается в методологической основе теоретико-экспериментальных методов исследования в области культуры тканей и органов *in vitro*. Достоверность полученных различий подтверждена методами математической статистики.

Апробация работы. Полученные результаты исследований доложены на 9 международных и всероссийских научно-практических конференциях. По теме диссертации опубликовано 8 печатных работ, в т.ч. 3 – в изданиях, входящих в перечень ВАК РФ, 1 – в изданиях, индексируемых международными базами данных Web of Science (Q1), Scopus (Q1), а также K1 «Белого списка».

Структура и основное содержание диссертационной работы.

Диссертация изложена на 149 страницах компьютерного текста и состоит из введения, 4 глав, заключения, списка литературы и рекомендаций для науки и производства. Работа иллюстрирована 27 рисунками, содержит 19 таблиц. Список литературы включает 311 источников, в т.ч. 116 в зарубежных издательствах.

Во введении соискатель обосновал актуальность выбранного направления и обозначил основные задачи работы, а также определил теоретическую и практическую значимость диссертации и выносимые на защиту положения.

В первой главе представлен обзор литературных данных, касающихся биологических особенностей представителей рода *Ribes*, а также традиционных и биотехнологических способов размножения ягодных культур. Была рассмотрена эффективность введения эксплантов в асептическую культуру в зависимости от фазы онтогенеза и режимов стерилизации эксплантов, а также влияние состава питательной среды на микроразмножение у различных видов растений. Особое внимание диссертант обратил на анализ работ, касающихся роли спектрального состава света в ходе адаптации *ex vitro* у растений на заключительном этапе размножения *in vitro*.

Во второй главе приведено описание биологических объектов, условий проведения исследований и основных методик. Детально перечислены морфологические и хозяйственно ценные признаки различных сортов смородины красной. Представлены схемы экспериментов, касающихся оптимизации условий стерилизации растительного материала, изучения влияния состава питательной среды на морфогенез эксплантов на 1-3 этапах микроразмножения. Подробно описаны основные приемы адаптации *ex vitro* и опыты по анализу спектрального состава света на развитие микрорастений.

В третьей главе представлены результаты экспериментальных исследований, включающие 5 разделов. В разделе 3.1 описаны особенности морфогенеза эксплантов 8-ми сортов смородины в зависимости от периода введения в асептическую культуру. Показано, что введение *in vitro* в период вынужденного покоя способствовало увеличению числа жизнеспособных эксплантов и приводило к снижению распространения инфекционного заражения и некроза.

В разделе 3.2 представлен анализ влияния различных стерилизующих агентов на развитие эксплантов при введении *in vitro*. На примере трех сортов смородины проанализировано действие четырех типов стерилизаторов. Лучший эффект для дезинфекции растительного материала отмечен при использовании в течение 5 мин 0,2% AgNO_3 , что позволило получить 77,8-91,7% стерильных эксплантов и высокие коэффициенты размножения.

В разделе 3.3 освещены экспериментальные данные по исследованию влияния состава питательной среды на микроразмножение смородины. Для оптимизации минерального состава питательной среды проведено сравнение четырех сред, которое показало, что для большинства из 8-ми изученных

сортов наиболее высокая частота приживаемости эксплантов (от 54,15 до 89,9%, в зависимости от сорта) и коэффициенты размножения (до 2,0) отмечены на среде MS. Анализ влияния цитокинина БАП на различные морфометрические параметры показал, что для нормального развития эксплантов сортов смородины оптимальными являются концентрации БАП от 0,2 до 0,8 мг/л, использование которых позволило получить коэффициент размножения до 1,53. В процессе сравнения развития эксплантов в течение 4-х субкультивирований выявлено незначительное варьирование анализируемых параметров, в частности, тенденция снижения высоты микропобегов и коэффициента размножения к четвертому пассажу.

В разделе 3.4 при изучении развития микропобегов смородины на 3-м этапе микроразмножения автор выявил, что существенному повышению частоты ризогенеза (до 66,7-100%), количества и длины корней способствовало добавление в среду MS 0,5 мг/л ИМК или совместное использование 0,5 мг/л ИМК и 0,5 мг/л ИУК.

Следует положительно отметить, что разделы 3.3 и 3.4 хорошо проиллюстрированы фотографиями микропобегов *in vitro*, дающими представление об их качестве.

Раздел 3.5. посвящен изучению влияния спектрального состава света на адаптацию *ex vitro* микрорастений, полученных при микроразмножении. Проведен анализ некоторых морфометрических и биохимических параметров при адаптации растений в помещениях с оптимальным микроклиматом при освещении люминесцентными лампами, а также в климатической камере со светодиодным освещением. Установлено, что в условиях закрытых искусственных агроэкосистем использование СД-БКУФ-А спектра освещения способствовало повышению роста растений, накоплению фотосинтетических пигментов (хлорофилл *a*, хлорофилл *b*, суммы хлорофиллов *a+b*) и улучшению физиологического состояния растений.

В четвертой главе представлен расчет экономической эффективности производства посадочного материала сортов смородины красной на этапе *in vitro*, а также адаптированного посадочного материала «высших категорий качества». Отмечается снижение затрат, сокращение времени на адаптацию и высокий процент выхода адаптированных растений при использовании климатической камеры. По данным диссертанта рентабельность производства посадочного материала сортов смородины красной на основе метода клонального микроразмножения может достигать 33,23%.

В Заключение сформулированы основные выводы и результаты проведенных исследований.

В Рекомендациях производству даны предложения, касающиеся состава питательных сред и условий введения в культуру для 1-3 этапов клонального микроразмножения *in vitro*, а также режимов адаптации *ex vitro*, которые отражены в представленном усовершенствованном протоколе микроразмножения смородины красной.

Личный вклад соискателя. Представленная диссертация является результатом научных исследований, выполненных лично автором на базе ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт селекции плодовых культур». Диссертация содержит материал многолетних наблюдений и исследований автора, который участвовал во всех этапах работы: постановке цели и определении задач исследований, выборе методов исследования, проведении экспериментов, учетов и обработке данных, подготовке публикаций и докладов. Анализ полученных результатов, сделанные на их основе выводы и рекомендации выполнены лично автором, по согласованию с научным руководителем.

Соответствие работы требованиям Положения ВАК РФ, предъявляемым к диссертациям. Научные положения, выводы и рекомендации производству, изложенные в диссертации и автореферате Н.В. Ряго «Совершенствование элементов технологии размножения *in vitro* и адаптации к условиям *ex vitro* сортов смородины красной», представленной на соискание ученой степени кандидата сельскохозяйственных наук, соответствуют требованиям п.9-14 «Положения о присуждении ученых степеней» ВАК РФ, предъявляемым к кандидатским диссертациям на соискание ученой степени кандидата сельскохозяйственных наук и паспорту специальности 4.1.2 – Селекция, семеноводство и биотехнология растений. Содержание диссертации в полной мере отражено в автореферате, основные результаты диссертационной работы в основном опубликованы в открытой печати.

Вопросы и замечания по диссертационной работе. Наряду с несомненными достоинствами рассматриваемой диссертационной работы имеются вопросы и замечания:

- В Обзоре литературы целесообразно описание культуры меристем (стр. 16-18) из раздела 1.2. (Способы размножения ягодных культур) перенести в раздел 1.3, как раз и посвященный клональному микроразмножению *in vitro*.
- В главе 2 (Материалы и методы) при описании биологических объектов исследования необходимо указать латинское название смородины красной.
- Следует уточнить, что вводили в культуру *in vitro* – почки или меристемы. Так, в цели исследования автор отмечает: «...оптимизация элементов технологии... меристемным способом *in vitro*», но в работе, судя по описанию, в культуру вводили не меристемы, а почки. В научной новизне в первом предложении указано: «...для индукции морфогенеза меристем...», а во втором – «на этапе введения почек в культуру...» (стр.7). Это важно, поскольку, если вводили *in vitro* не меристемы, то вероятность получения оздоровленного посадочного материала (тем более без термо- или хемотерапии) крайне низка, а о его получении говорится, например, в Практической значимости результатов (стр.9) – «...адаптированных оздоровленных растений...».

- Почему при испытании разных стерилизаторов (стр. 40) использовали только по одной экспозиции для каждого, и почему именно ее выбрали? Логично было бы варьировать не только тип стерилизатора, но и время обработки. Поэтому при сравнении стерилизующих агентов можно говорить об их эффективности только при определенной концентрации.
- Что значит на рис. 13 (стр. 58) «здоровых образцов» и далее «здоровых микрорастений» – это жизнеспособные экспланты?
- Необходимо четко указать, как рассчитывали коэффициент размножения, поскольку, судя по результатам, они довольно низкие, например, в табл. 5 всего 1,0-2,0.
- Насколько корректно сравнение эффективности адаптации *ex vitro* микрорастений смородины в разных условиях (в стеллажных помещениях и камере) при разной длительности – в первом случае это 47 сут, а во втором – 28 сут?
- Чем обосновано использование на первом (раздел 3.1) и втором (раздел 3.3.1) этапах микроразмножения питательной среды с 1,0 мг/л БАП? При этом в заключении раздела 3.3.2 (стр. 74) указано, что «... для нормального роста и развития эксплантов смородины красной оптимальной является концентрация БАП ≤ 0,8 мг/л».
- На стр. 66-67 автор пишет: «...в дальнейшем эти растения имели оптимальные параметры для адаптации к нестерильным условиям (таблица 8)» и в этой таблице указана высота – всего 4-6 мм. Растения каких размеров использовали при пересадке в нестерильные условия?
- При анализе таблицы 5 диссертант в тексте отметил различия по ряду параметров, однако приведенные в таблице данные не всегда это подтверждают. Так, для сорта Подарок лета в тексте (стр. 61) написано о статистически значимых различиях по высоте растений между разными стерилизаторами, однако во всех ячейках таблицы (3-5 столбцы) указана одна буква a (да и по ошибкам видно, что данные не отличаются). С другой стороны, у этого сорта в данной таблице при сравнении коэффициентов размножения (столбец 7), судя по ошибкам, различия недостоверны, но буквенные обозначения разные – в частности: 1,00±0,21 a и ниже- 1,07±0,27 b. Как это объяснить?
- Какие растения использовали для адаптации *ex vitro*? На стр. 80 указано «Для начальной адаптации использовали растения-регенеранты, полученные на среде MS + 0,5 мг/л БАП». Но ведь укорененные растения, судя по предыдущей главе, получали на среде с ауксинами?
- Диссертант делает заключение, что: «... использование СД-БКУФ-А спектра освещения обеспечило лучшие показатели морфофизиологического развития...» (стр. 87). Почему этот вариант лучше, если, судя по данным на рис. 26, по высоте растений у сорта Подарок Лета этот вариант был ниже, чем при использовании спектра СД-Б, а по количеству листьев у сорта Englische Grosse Weisse – ниже, чем спектр СД-БК?

- При анализе экономической эффективности (табл. 17) указан довольно низкий % микропобегов, пригодных для укоренения и адаптации (16,1-36,6%). Откуда эти цифры, т.к. в предыдущих разделах это не упоминалось.
- В Заключении встречаются недостаточно конкретные выводы (п. 2, 4, 6,7). Следовало бы уточнить – на сколько % или во сколько раз повышались анализируемые параметры.

В тексте диссертации встречаются неудачные/некорректные выражения, ошибки:

- нередко вместо эксплантов указываются микрорастения (стр. 7, 42 и др.);
- при упоминании гибберелловой кислоты (стр. 29-30) точнее написать не ГК, а ГК₃;
- в 3 пункте Заключения в качестве оптимального стерилизатора указана концентрация 0,1% AgNO₃, хотя в экспериментах испытывали 0,2% AgNO₃;
- не совсем корректно использование термина «пассаж» (стр. 39 и далее), обычно применяемого к каллусным культурам; для размножения *in vitro* более уместно – «субкультивирование». Также вместо «микрклонального размножения» более целесообразно использовать термин «клональное микроразмножение».

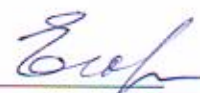
Тем не менее перечисленные замечания не умаляют научной и практической ценности полученных результатов. Представленные в диссертационной работе экспериментальные материалы, их анализ и интерпретация свидетельствуют о том, что цель и все поставленные задачи выполнены.

Заключение по диссертационной работе. В целом диссертация Ряго Нелли Васильевны «Совершенствование элементов технологии размножения *in vitro* и адаптации к условиям *ex vitro* сортов смородины красной», выполненная лично автором, представляет собой решение научной проблемы, имеющей важное прикладное значение в области клеточной инженерии растений, в частности, оптимизации биотехнологии размножения ягодных культур *in vitro*. Диссертант показал себя как эрудированный, самостоятельный, профессионально работающий научный сотрудник, готовый решать важные научные проблемы биотехнологии клонального микроразмножения растений.

Диссертация является законченной научно-квалификационной работой, вносит существенный вклад в биотехнологию, селекцию и семеноводство ягодных культур. Она полностью отвечает требованиям ВАК РФ, пункт 9-14 Положения о присуждении ученых степеней, предъявляемым к кандидатским диссертациям. Автор диссертации Ряго Нелли Васильевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата сельскохозяйственных наук по специальности 4.1.2 (Селекция, семеноводство и биотехнология растений).

Отзыв подготовлен главным научным сотрудником, заведующей лабораторией биотехнологии селекционно-семеноводческого центра эфиромасличных культур ФГБУН «НИИСХ Крыма», доктором биологических наук, доцентом Егоровой Натальей Алексеевной. Диссертация и отзыв на диссертацию рассмотрены и утверждены на заседании Ученого Совета ФГБУН «НИИСХ Крыма», протокол №6 от 20 октября 2025 года.

Егорова Наталья Алексеевна,
доктор биологических наук (03.00.20 - биотехнология), доцент,
главный научный сотрудник, заведующая
лабораторией биотехнологии селекционно-семеноводческого
центра эфиромасличных культур ФГБУН «НИИСХ Крыма»



Н.А. Егорова

Подпись Н.А. Егоровой удостоверяю,
Зав. отделом учетной, кадровой и антикоррупционной
работы ФГБУН «НИИСХ Крыма»



А.Г. Волна

Сведения о ведущей организации: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма» (ФГБУН «НИИСХ Крыма»), Министерство науки и высшего образования РФ, Адрес: Россия, 295043, Республика Крым, г. Симферополь, ул. Киевская, 150. Тел.: +7(978)9707093, (3652)510-515, E-mail: priemnaya@niishk.site, официальный сайт: <https://niishk.site>.

23 октября 2025 года