

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

кандидата биологических наук Анатова Джалалудина Магомедовича на диссертацию и автореферат Головиной Людмилы Андреевны на тему: «Особенности биологии, клональное микроразмножение *in vitro* и продуктивность смородины чёрной (*Ribes nigrum* L.) в условиях Башкирского Предуралья», представленную в диссертационный совет 24.2.479.01, созданного на базе ФГБОУ ВО «Уфимский университет науки и технологий», на соискание ученой степени кандидата биологических наук по научной специальности 1.5.9. Ботаника.

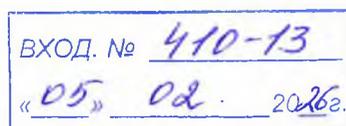
Актуальность темы исследования. Исследования влияния изменения климата и антропогенной нагрузки на биоразнообразие плодово-ягодных культур Башкирского Предуралья немногочисленны, что повышает актуальность данной работы. В современных условиях возрастает потребность во внедрении экономически выгодных и конкурентоспособных культур. Перспективным объектом для решения этой задачи является смородина чёрная (*Ribes nigrum* L.), отличающаяся высоким адаптационным потенциалом и значительной ресурсной ценностью для обеспечения продовольственной безопасности.

Одним из способов повышения эффективности ресурсного потенциала смородины чёрной является клональное микроразмножение на искусственных питательных средах в контролируемых условиях. Клональное микроразмножение *in vitro* представляет собой перспективный метод сохранения и размножения ценных сортов и гибридов *R. nigrum*, позволяющий получать оздоровленный посадочный материал с высокими качественными характеристиками. При этом для успешного решения проблемы клонального микроразмножения сортов *R. nigrum* необходимым является введение в культуру *in vitro* экплантов, полученных с растений в безлистном состоянии. В связи с этим эффективным является поиск морфологических маркеров для идентификации видов и сортов *R. nigrum* отечественной селекции в безлистном состоянии на основе использования признаков почек, почечных чешуй и листового шрама. Эти признаки являются одними из наиболее стабильных и информативных для идентификации растений.

В данном контексте диссертационное исследование Головиной Людмилы Андреевны, направленное на изучение особенностей строения почек и листовых шрамов, фенологии, клонального микроразмножения *in vitro*, продуктивности и качества сырья сортов смородины черной башкирской селекции в условиях Башкирского Предуралья, без сомнения, имеет высокую научную значимость.

Научная новизна. Диссертантом выявлены закономерности по изменчивости сортов *R. nigrum* башкирской селекции и дикорастущей *R. nigrum* в безлистном состоянии по признакам почек, почечных чешуй и листового шрама в условиях Башкирского Предуралья. Им разработаны протоколы клонального микроразмножения для сортов *R. nigrum* башкирской селекции с полным циклом от введения в культуру *in vitro* до посадки растений-регенерантов в открытый грунт с последующим наблюдением в условиях *ex vitro*. Оптимизированы условия выращивания растений-регенерантов различной жизненности в условиях *ex vitro*. Выявлены особенности онтогенеза растений-регенерантов в условиях *ex vitro*. Впервые изучены фенологические характеристики сортов *R. nigrum* башкирской селекции в условиях изменения климата. Установлено, что уровень антиоксидантной активности сырья сортов *R. nigrum* башкирской селекции является сортоспецифичным признаком и зависит от времени сбора сырья.

Научная и практическая значимость. Обоснована целесообразность использования фенологии сортов *R. nigrum* и влияния климатических факторов на фенофазы и адаптацию растений. Полученные данные важны для понимания адаптивных механизмов, определения среднесрочных сроков наступления фенофаз, важных для селекционной работы.



Практическая значимость исследования состоит в том, что разработанные протоколы клонального микроразмножения *in vitro* с последующим переводом в условия *ex vitro* могут использоваться для размножения сортов *R. nigrum* и их дальнейшей селекции.

Достоверность результатов исследования. В диссертационной работе Головиной Людмилы Андреевны, представленной на соискание учёной степени кандидата биологических наук, проведены экспериментальные исследования на сортах *Ribes nigrum* башкирской селекции. Сформулированные выводы базируются на большом объеме экспериментального и аналитического материала, полученного автором самостоятельно в результате многолетних исследований. Доказательством обоснованности полученных результатов являются доклады на межрегиональных и международных конференциях, которые получили положительную оценку. Достоверность научных результатов подтверждается многолетними исследованиями, статистической обработкой полученных результатов, применением общепринятых методов исследований и производственной проверкой. Результаты исследований получены на сертифицированном оборудовании, прослеживается высокая воспроизводимость результатов, проведенных на современном методическом уровне с использованием основных статистических методов. Диссертация охватывает основные вопросы поставленной научной задачи и соответствует критерию внутреннего единства, что подтверждается наличием последовательного плана исследования, основной теоретической линии, взаимосвязью поставленных целей, задач и выводов.

Научно-методическая ценность диссертационной работы заключается в методологической основе теоретико-экспериментальных методов исследования в области фенотипической изменчивости, биохимического состава, микроразмножения плодовых и ягодных культур. В экспериментальных исследованиях диссертант опирался на методологию комплексной оценки и сравнения полученных данных с использованием статистических методов.

Достоверность полученных различий подтверждена методами статистической обработки, в том числе с помощью дисперсионного, корреляционного, корреляционно-регрессионного, ординационного и кластерного анализа данных.

Публикация результатов исследований. По теме диссертации опубликовано 16 научных работ, в том числе 3 статьи в журналах, рекомендованных перечнем ВАК Российской Федерации, отражающих основные научные результаты диссертации.

Соответствие диссертации и автореферата требованиям ВАК РФ. Диссертационная работа выполнена в рамках специальности 1.5.9. Ботаника и соответствует пунктам:

1. Систематика, таксономия и эволюция растений, водорослей и цианобактерий (здесь и далее: организмов, в рамках Международного кодекса номенклатуры водорослей, грибов и растений, прежде Международного кодекса ботанической номенклатуры).

7. Морфология, анатомия и биология развития вегетативных и генеративных органов и клеток, структурная эволюция растений.

8. Эмбриология, онтогенез и генетика развития организмов.

16. Интродукция и первичное введение организмов в культуру, в т.ч. с использованием биотехнологических методов.

В данных работах изучаемые организмы должны быть наиболее полно описаны и исследованы, включая морфологические, молекулярно-генетические, экологические и другие ботанические методы.

Содержание диссертации и автореферата Головиной Л. А. изложены в соответствии с требованиями по их построению, структуре и оформлению, отвечают требованиям основным положениям ВАК РФ, предъявляемым к кандидатским диссертациям по специальности 1.5.9. Ботаника.

Личный вклад соискателя и репрезентативность эмпирического материала.

Соискателем использовался комплекс полевых и лабораторных методов исследования, позволивших получить репрезентативные данные для их дальнейшего анализа и систематизации, что имеет важное практическое значение.

Личный вклад автора диссертации состоит в том, что он выполнял работу на всех этапах экспериментальных исследований и апробации теоретических выводов и практических результатов, и рекомендаций, предложенных для дальнейшей селекционной работы, анализа научной литературы отечественных и зарубежных авторов, обобщения полученных экспериментальных данных, написании диссертации.

Рекомендации по использованию результатов диссертационного исследования.

Научные результаты и разработанные рекомендации соискателя, могут быть использованы в питомниководческих предприятиях при проведении подбора сортов и приемах агротехники, что позволит существенно повысить продуктивность и качество конечной продукции. Некоторые элементы исследования могут быть применены и в учебном процессе при подготовке бакалавров и магистров в области ботаники, агрономии и садоводства.

Характеристика содержания работы. Диссертация изложена на 240 страницах компьютерного текста, состоит из введения, 7 глав, заключений, выводов, практических рекомендаций, содержит 41 таблиц, 29 рисунков, 22 приложений. Список литературы содержит 385 источников, в т.ч 118 иностранных.

В введении обоснована актуальность темы, степень разработанности проблемы, целей и задач исследований, научной новизны, полученных результатов и основных положений, выносимых на защиту; представлена информация о теоретической и практической значимости, апробации и внедрении основных результатов исследований. К вводной части замечаний нет.

В первой главе «Особенности биологии и ресурсное значение смородины черной *Ribes nigrum* L.» дан обзор научных исследований, выполненных в нашей стране и за рубежом по современному состоянию развития садоводства, генетических ресурсов плодово-ягодных культур, влиянию климата на сохранение биологического разнообразия в Российской Федерации и в Республике Башкортостан. Представлена информация по распространению и истории развития культуры, ботаническое описание и ресурсное значение смородины черной (*R. nigrum*), характеристика сортов селекции Башкирского НИИСХ. Обобщена литература по фенологии, онтогенезу видов рода *Ribes*, способов размножения, культура *in vitro*.

Объекты, материалы и методы исследования представлены во **второй главе**. В качестве объектов исследования выбраны сорта селекции БНИИСХ: Бельская, Бобровая, Валовая, Ирмель, Караидель, Кушнаренковская, Труженица, Чишма, Эстафета, Башкирская ранняя, Толпар. В качестве контроля использован сорт Сеянец Голубки (НИИ садоводства Сибири им. М.А. Лисавенко) и дикорастущая форма *R. nigrum* (собрана в местах естественного произрастания Кушнаренковский р-н РБ). Описываются методики изучения почек и листового шрама *R. nigrum* в безлистном состоянии, микрклонального размножения *in vitro*, описания питательных сред, статистические методы анализа. К этой части замечаний нет.

Результаты исследований представлены в пяти главах.

Третья глава посвящена морфологическим особенностям почек и листового шрама у сортов смородины башкирской селекции и дикорастущей *R. nigrum*. Показана эффективность морфологических признаков почек, почечных чешуй и листовых шрамов у сортов и дикорастущей *R. nigrum* и могут использоваться для сортовой идентификации в безлистном состоянии. Для сортов отмечены разные формы почек – конусовидная (верхушечная почка всех сортов), яйцевидная (Валовая, Эстафета, Чишма, дикорастущая *R. nigrum*), ассиметричная (Караидель) и веретеновидная (Бельская, Бобровая, Караидель). Размеры почек у изучаемых сортов значительно варьировали от мелких (4,1–6,0 мм) до крупных (более 9,0 мм). Морфологические особенности почечных чешуй по окраске, также могут иметь значение в сортовой диагностике *R. nigrum*.

Наиболее стабильностью имеют четвертая, пятая и шестая почечные чешуи, обладающие наибольшими размерами и меньшей изменчивостью, что указывает на их стабильность.

Автором хорошо раскрыта структура изменчивости морфологических признаков системы «почка и листовой шрам» у *R. nigrum*. Выделены признаки индикаторы, отражающие общую и согласованную изменчивость. Структура изменчивости системы «почка и листовой шрам» у *R. nigrum* демонстрирует высокую степень морфологической стабильности и сбалансированности, обусловленную генетическими, экологическими и биологическими факторами. Для оцениваемой системы *R. nigrum* в структуре изменчивости выделено 3 группы системных индикаторов: I – экологические индикаторы с высокой общей (CV, %) и низкой согласованной (R^2) изменчивостью (длина 1, 2 и ширина 1 почечной чешуи); III – генотипические системные индикаторы с низкой общей и низкой согласованной изменчивостью (длина, высота и индекс почки, индекс листового шрама, длина 4 почечной чешуи); IV – биологические индикаторы с высокой согласованной и низкой общей изменчивостью (длина и ширина почки, длина и ширина 4–7 почечных чешуй). Отменено отсутствие эколого-биологических индикаторов (II) с высокой общей и согласованной изменчивостью, интерпретируемая автором как устойчивость системы признаков «почка и листовой шрам» к внешним воздействиям окружающей среды.

В данной главе также использован кластерный и корреляционный анализы сортов и дикорастущей *R. nigrum* на основе признаков почек и почечных чешуй. Кластерный анализ, выполненный на основе морфологических признаков почек и почечных чешуй сортов башкирской селекции, позволил выявить как генетические, так и фенотипические различия между сортами, включая дикорастущую форму. Сорта *R. nigrum* башкирской селекции сформированы на основе генетического материала дикорастущей *R. nigrum* и гибридизации с другими сортами. Корреляционный анализ между морфологическими признаками почки, почечных чешуй и листового шрама у сортов *R. nigrum* показал, что сорта *R. nigrum* демонстрируют более сложные корреляционные структуры, обусловленные селекционным вмешательством и адаптацией к культурным условиям. Сильные положительные связи отражают генетически закреплённую устойчивость морфологических признаков, тогда как отрицательные связи подчёркивают важность компенсаторных механизмов для перераспределения ресурсов. Дикорастущая *R. nigrum* характеризуется более простыми, но стабильными корреляционными связями, которые отражают её экологическую адаптацию.

Разработка протоколов клонального микроразмножения *in vitro* и выращивание *ex vitro* сортов *R. nigrum* представлена в **четвертой главе**. В этой главе для сортов Караидель, Чишма и Сеянец Голубки разработаны протоколы клонального микроразмножения *in vitro* состоящие из этапов: эксплантирование, микроразмножение побегов, укоренение, перевод растений-регенерантов в условия *ex vitro*. В ходе клонального микроразмножения *R. nigrum* автором изучены индивидуальные особенности сортов *R. nigrum*.

Диссертантом установлены оптимальные сроки введения *R. nigrum* сортов Караидель, Чишма и Сеянец Голубки в культуру *in vitro*. Максимальный процент стерильности, жизнеспособности и активности эксплантов получен при введении в позднесенний (конец ноября), зимний (декабрь – февраль) и в ранневесенний периоды (март). В это время наблюдается гормональная активность почки и сохраняется естественная защита (в виде плотно прилегающих чешуй) от неблагоприятных факторов окружающей среды. В качестве материала для выделения эксплантов наиболее подходящими являются однолетние прикорневые побеги, именно с таких побегов изолированные пазушные почки, оптимальны для эксплантирования в культуру *in vitro*.

Также автором подобрана эффективная схема дробной стерилизации эксплантов *R. nigrum*. Она основана на применении химических веществ: дезинфицирующий раствор «Бриллиант», диацид (0,1 % раствор), этиловый спирт (70 %), хлоргексидин. При данной схеме стерилизации экспланты *R. nigrum* показали относительно высокие характеристики стерильности и жизнеспособности.

В пятой главе представлены результаты оценки онтогенеза растений-регенерантов *R.*

nigrum сортов Караидель, Чишма и Сеянец Голубки высаженных в открытый грунт. Отмечено, что при вегетативном размножении онтогенез рамы включает 3 возрастных периода прегенеративный, генеративный, постгенеративный. Неполный онтогенез рамы может начаться с ювенильного возрастного состояния (зеленое черенкование, клональное микроразмножение) или с имматурного (размножение одревесневшими черенками, отводками). Основными признаками растений-регенерантов являлись одноосный не одревесневший побег и корневая система, которые в процессе развития в условиях *ex vitro* одревесневали.

Наблюдения за растениями-регенерантами показало, что на третий (2018) – четвертый (2019) годы жизни они вступают в генеративное возрастное состояние. Отмечено интенсивное плодоношение и активное развитие побеговой системы, обеспечивающих становление куста. В 2020 году наблюдали образование эпигеогенных ксилоризомов. В 2021 году у растений-регенерантов всех сортов было зафиксировано появление прикорневых побегов. Сорт Сеянец Голубки характеризуется быстрыми темпами онтогенетического развития. У сортов башкирской селекции Караидель и Чишма темпы развития проходят медленнее.

Автором отмечены основные различия между растениями-регенерантами и полученные от зеленого черенкования, отмечено отсутствовало кущения в виргинильном возрастном состоянии у растений-регенерантов. Переход к генеративному возрастному состоянию отмечено на третьем году вегетации. В целом растения, полученные разными способами, имели сходные показатели роста, но различались по числу узлов. У сорта Чишма различия между методами размножения были минимальны, тогда как у сорта Сеянец Голубки растения-регенеранты имели почти в два раза больше узлов, а у сорта Караидель - в два раза меньше.

В **главе 6** проанализированы фенологические фазы сортов *R. nigrum* в условиях Башкирского Предуралья проведенные в период 2015-2023 гг. исследованы сорта Бельская, Бобровая, Валовая, Иремель, Караидель, Кушнарниковская, Сеянец Голубки, Труженица, Эстафета, Башкирская ранняя, Толпар. Отмечена сортоспецифичность *R. nigrum* проявляемая по срокам начала и продолжительности фенологических фаз. Исследуемые сорта (Сеянец Голубки, Иремель, Чишма, Караидель) демонстрируют индивидуальные сроки вегетации, бутонизации, цветения и созревания.

На основании проведенных исследований феноритмов *R. nigrum* автором выделены сорта по срокам созревания. Раннеспелыми сортами были Валовая, Башкирская ранняя, Сеянец Голубки и Чишма. К среднеспелым относились Караидель, Эстафета, Бельская и Толпар. Среднепоздние сорта – Бобровая и Иремель, а позднеспелые – Кушнарниковская и Труженица.

Для растений-регенерантов *R. nigrum* не выявлено заметных различий по фенологическим фазам, полученных другими способами вегетативного размножения, что является гарантией сохранения сортовых характеристик при клональном микроразмножении *in vitro*.

В **главе 7** представлены результаты исследования компонентов продуктивности, оценка качества сырья и антиоксидантная активность сортов *R. nigrum* в условиях Башкирского Предуралья.

Диссертантом изучены морфологические признаки, определяющих потенциальную урожайность (число генеративных побегов, число узлов, длина кисти, число и масса ягод на кисти). Отмечена фактическая и потенциальная урожайность сортов *R. nigrum* в зависимости от климатических условий (возвратных заморозков, уровня влагообеспеченности и температурных колебаний). Анализ биохимического состава ягод *R. nigrum* проводился по содержанию растворимых сухих веществ, аскорбиновой кислоты и сахара, а также антиоксидантной активности почек и ягод. Проведена группировка сортов по антиоксидантной активности.

Замечания, вопросы и комментарии по содержанию и оформлению работы. (по пунктам)

1. Первая глава слишком избыточна по числу разделов. Некоторые разделы можно было бы объединить. Например, подглавы 1–4, 5,6 и 7–9 можно объединить в 3 раздела.
2. Использованный в главе 3 кластерный анализ сортов и дикорастущей формы по количественным признакам почек и почечных чешуй недостаточно раскрывает природу различий между сортами по использованным признакам. Было бы уместно использовать методы дискриминантного анализа или анализ главных компонент.
3. Не совсем понятно почему у автора в главе 4 при оценке процентов неинфицированных эксплантов (таблица 4.2) и зараженных в сумме превышают 100%.
4. В главе 5 при анализе растений-регенерантов не показаны их различия как с контролем (зеленым черенкованием), так и различий между сортами.
5. В главе 6 было бы интересным с научной точки зрения сопоставления фенодат и климатических показателей в регрессионно-корреляционном анализе и оценки влияния сортовых различий и средовых факторов на вариабельность фенодат.
6. Автором в главе 6 были выделены сорта по срокам созревания, что, несомненно, имеет значение при районировании сортов, но не проведено ранжирование сортов по срокам цветения, имеющее первостепенное значение в условиях изменения климата.

Заключение

В целом, несмотря на некоторые замечания, перед нами законченная диссертационная работа, отвечающая всем требованиям ВАК РФ к кандидатским диссертациям.

Считаю, что диссертационная работа Головиной Людмилы Андреевны на тему «Особенности биологии, клональное микроразмножение *in vitro* и продуктивность смородины чёрной (*Ribes nigrum* L.) в условиях Башкирского Предуралья» по своей актуальности, новизне, теоретической и практической значимости, достоверности и обоснованности выводов, апробации основных положений соответствует требованиям пунктов 9-14 Положения «О порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 г. (в действующей редакции), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор Головина Людмила Андреевна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по научной специальности: 1.5.9. Ботаника.

Старший научный сотрудник лаборатории интродукции и генетических ресурсов древесных растений Горного ботанического сада – обособленного подразделения Федерального государственного бюджетного учреждения науки Дагестанского федерального исследовательского центра РАН, кандидат биологических наук (специальность 03.02.01– «Ботаника»; 03.02.08 – «Экология» (биологические науки)).

«02» 02 2026 г.

Анатов Джалалудин Магомедович

Я, Анатов Джалалудин Магомедович, даю согласие на включение своих персональных данных в документы, связанные с защитой диссертации Головиной Людмилы Андреевны, и их дальнейшую обработку.

Горный ботанический сад – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки Дагестанского федерального исследовательского центра РАН Почтовый адрес: 367000, Республика Дагестан, г. Махачкала, ул. Гаджиева, 45; тел./факс: (8722) 67-58-77 e-mail: gorbotsad@mail.ru

Подпись руки Д.М. Анарова
подтверждаю



Главный ученый секретарь
ДФИЦ РАН,
Ж.Г. Ибаев

«02» 02 2026 г.