

Тевфик Арзы Шевкиевна

Диссертация "Индукция морфогенеза *in vitro* и регенерация растений в культуре вегетативных почек и зародышей канн садовой (*Canna × hybrida hort ex Backer*)", по специальностям 03.02.01 – ботаника, 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии)

На заседании присутствовали: д.б.н. Шевченко С.В. 03.02.01, д.б.н. Корженевский В.В. 03.02.08, к.б.н. Садогурская С.А. 03.02.01, д.б.н. Багрикова Н.А. 03.02.01, д.б.н. Долгов С.В. 03.01.06, д.б.н. Егорова Н.А. 03.01.06, д.б.н. Ивашов А.В. 03.02.08, д.б.н. Иванов С.П. 03.02.08, д.б.н. Ильницкий О.А. 03.02.08, д.б.н. Исиков В.П. 03.02.01, д.б.н. Клименко З.К. 03.02.01, д.б.н. Коба В.П. 03.02.08, д.б.н. Маслов И.И. 03.02.01, д.б.н. Митрофанова И.В. 03.02.01, д.б.н. Митрофанова О.В. 03.02.01, д.с.-х.н. Опанасенко Н.Е. 03.02.08, д.б.н. Празукин А.В. 03.02.08, д.б.н. Работягов В.Д. 03.02.01, д.б.н. Харченко П.Н. 03.01.06, д.б.н. Шоферистов Е.П. 03.02.01

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 900.004.01 НА БАЗЕ
ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ
КРЫМ «ОРДЕНА ТРУДОВОГО КРАСНОГО ЗНАМЕНИ НИКИТСКИЙ
БОТАНИЧЕСКИЙ САД – НАЦИОНАЛЬНЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР»
МИНИСТЕРСТВА СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА РЕСПУБЛИКИ КРЫМ
ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЁНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА
НАУК

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 29.06.2016, протокол № 5

О присуждении Тевфик Арзы Шевкиевне, гражданке РФ, учёной степени кандидата биологических наук.

Диссертация "Индукция морфогенеза *in vitro* и регенерация растений в культуре вегетативных почек и зародышей канн садовой (*Canna × hybrida hort ex Backer*)", по специальностям 03.02.01 – ботаника, 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии), принята к защите 19.04.2016 г., протокол № 4, диссертационным советом Д 900.004.01 на базе Государственного бюджетного учреждения Республики Крым "Ордена Трудового Красного знамени Никитский ботанический сад - Национальный научный центр" Министерства сельского хозяйства Республики Крым, 298648, Российская Федерация, Республика Крым, г. Ялта, пгт Никита, Никитский спуск, 52; Приказ о создании диссовета № 764/нк от 25.12.2014 г.

Соискатель Тевфик Арзы Шевкиевна 1988 года рождения.

В 2010 году соискатель окончила Южный филиал Национального университета биоразнообразия и природопользования Украины «Крымский агротехнологический университет».

В 2014 г. окончила аспирантуру Никитского ботанического сада – национального научного центра.

Работает младшим научным сотрудником в лаборатории биотехнологии и вирусологии растений Государственного бюджетного учреждения Республики Крым "Ордена Трудового Красного знамени Никитский ботанический сад - Национальный научный центр" Министерства сельского хозяйства Республики Крым.

Диссертация выполнена в Государственном бюджетном учреждении Республики Крым "Ордена Трудового Красного знамени Никитский ботанический сад - Национальный научный центр" Министерства сельского хозяйства Республики Крым

Научный руководитель - доктор биологических наук, старший научный сотрудник Митрофанова Ирина Вячеславовна, ГБУ РК "Ордена Трудового Красного знамени Никитский ботанический сад - Национальный научный центр", заведующая отделом биологии развития растений, биотехнологии и биобезопасности.

Официальные оппоненты: Новикова Татьяна Ивановна, доктор биологических наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Центральный сибирский ботанический сад Сибирского отделения Российской академии наук, заведующая лабораторией биотехнологии,

Молканова Ольга Ивановна, кандидат с.-х. наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина Российской академии наук, заведующая лабораторией биотехнологии растений, дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского», г. Саратов, в своём положительном заключении, подготовленном Кашиным Александром Степановичем, доктором биологических наук, профессором, зам. директора учебно-научного центра «Ботанический сад» по научной работе Федерального государственного бюджетного учреждения высшего образования «Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского» и Угольниковой Екатериной Владимировной, кандидатом биологических наук, зав. отделом биологии и экологии растений Федерального государственного бюджетного учреждения высшего образования «Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского» указали, что диссертация Тевфик А.Ш. представляет завершённое исследование, имеющее важное значение в решении проблем прикладной ботаники в области биотехнологии, в частности, в области совершенствования и применения метода клонального микроразмножения цветковых растений. Полученные данные достаточно полно опубликованы и широко апробированы на конференциях различного уровня.

Соискатель имеет 17 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации 17 работ, опубликованных в рецензируемых научных изданиях - 8. Общий объём публикаций – 10,279 печатных листа. Авторский вклад составляет 70-85 %

1. Тевфик А.Ш. Регенерация растений канны садовой (*Canna × hybrida hort.*) в культуре вегетативных почек *in vitro* / А.Ш. Тевфик // Труды Никит. ботан. сада. – 2012. – Т. 134. – С. 426-435.

2. Тевфик, А.Ш. Влияние сроков введения на жизнеспособность первичных эксплантов и индукцию морфогенеза канны садовой (*Canna × hybrida hort.*) в условиях *in vitro* / А.Ш. Тевфик, И.В. Митрофанова // Бюл. Никит. ботан. сада. – 2012. – Вып. 105. – С. 143-147.

3. Тевфік, А.Ш. Індукція морфогенезу канни садової (*Canna × hybrida hort.*) за умови *in vitro* / А.Ш. Тевфік, І.В. Митрофанова // Вісник Львівського університету. Серія біологічна. – 2012. – Вип. 60. – С. 58-63.

4. Тевфик, А.Ш. Современные методы размножения канны садовой / А.Ш. Тевфик, И.В. Митрофанова, О.В. Митрофанова, Н.В. Зубкова // Цветоводство. – 2014. – №6. – С. 2-5.

5. Тевфик, А.Ш. Влияние регуляторов роста на регенерационную способность канны садовой (*Canna × hybrida hort.*) / А.Ш. Тевфик, И.В. Митрофанова, Т.Н. Кузьмина // Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского. – 2014. – № 3(3). – С. 124-127.

6. Тевфик, А.Ш. Изучение регенерационной способности зародышей и семян канны садовой (*Canna × hybrida hort.*) в условиях *in vitro* / А.Ш. Тевфик, И.В. Митрофанова // Ученые записки Таврического национального университета им. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2014. – Т. 27 (66), № 2. – С. 157-164.

7. Тевфик, А.Ш. Особенности клонального микроразмножения канны садовой (*Canna × hybrida hort.*) / А.Ш. Тевфик, И.В. Митрофанова, Т.Н. Кузьмина // *Biotechnologia Acta*. – 2014. – Vol. 7, № 5. – С. 71-76.

8. Тевфик, А.Ш. Методические аспекты в исследовании органогенеза и соматического эмбриогенеза представителей семейств *Ronunculaceae*, *Cannaceae*, *Moraceae*, *Rosaceae*, *Murtaceae*, *Oleaceae*, *Actinidiaceae* / И.В. Митрофанова, О.В. Митрофанова, Н.В. Корзина, Н.П. Лесникова-Седошенко, Н.Н. Иванова, А.Ш. Тевфик, А.Ю. Заяц, Т.И. Пилипчук // Труды Никит. ботан. сада. – 2014. – Т. 138. – С. 102-136.

На разосланный автореферат диссертации получено 19 отзывов. Все отзывы положительные, 12 из них не имеют замечаний, 7 с замечаниями:

1. **Кушнарченко С.В.**, к.б.н., ассоциированный профессор, зав. лабораторией криосохранения гермоплазмы Института биологии и биотехнологии растений Минобрнауки Республики Казахстан;

2. **Решетников В.Н.**, д.б.н., профессор, академик, Почетный директор Центрального ботанического Сада НАН Беларуси, зав. отд. биохимии и биотехнологии растений и **Спиридович Е.В.**, к.б.н., доц., зав. лабораторией прикладной биохимии того же института;

3. **Верхотуров В.В.**, д.б.н., зав. кафедрой технологии продуктов питания и химии ФГБОУ ВПО «Иркутского национального исследовательского технического университета»;
4. **Яруллина Л.Г.**, д.б.н., вед.н.с. ФГБУН «Институт биохимии и генетики Уфимского НЦ РАН»
5. **Калашникова Е.А.**, д.б.н., профессор., профессор. кафедры генетики, биотехнологии, селекции и семеноводства Российский государственный аграрный университет – МСХА им. К.А. Тимирязева
6. **Плаксина Т.В.**, к.с-х.н., вед.н.с. лаборатории биотехнологии и цитологии ФГБНУ «Научно - исследовательский институт садоводства Сибири им. М.А Лисавенко»
7. **Малаева Е.В.**, к.б.н., зам. директора по науке ГБУ Волгоградской области «Волгоградский региональный ботанический сад», доц. кафедры биологии и химии и МПБиХ ВГСПУ
8. **Машкина О.С.**, к.б.н., зав. лабораторией биотехнологии Всероссийского НИИ лесной генетики, селекции и биоинженерии, доц. кафедры генетики, селекции и биоинженерии Воронежского государственного университета.
9. **Чирков С.Н.**, д.б.н., вед. н.с. биол. факультетата ФГБОУ ВО «МГУ им. М.В. Ломоносова»
10. **Муратова С.А.**, к.б.н., зав. лаборатории биотехнологии ФГБОУ ВО «Мичуринский государственный аграрный университет»
11. **Рожанская О.А.**, д.б.н., гл.н.с. лаборатории генетики и биотехнологии кормовых культур Сибирского НИИ кормов СФНЦ РАН.
12. **Зильберварг И.Р.**, к.б.н., доцент, зав. кафедрой лесного дела и садово-паркового строительства Академии биоресурсов и природопользования ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского»
13. **Каменетская Рина**, д.б.н., профессор., Институт растительных исследований, Вулкан - центр, Министерство сельскохозяйственных исследований, Израиль
14. **Верулидзе Г.Р.**, к.б.н., с.н.с., Института аграрных и мембранных технологий Батумского государственного университета им. Шота Руставели.
15. **Пугачёва Г.М.**, к.с-х.н., с.н.с., ФГБНУ «Всероссийского НИИ садоводства им. И.В. Мичурина»
16. **Третьякова И.Н.**, д.б.н., профессор., вед.н.с., лаборатории лесной генетики и селекции Института леса им. В.Н. Сукачёва.
17. **Чайковская Л.А.**, д.с-х.н., гл.н.с. отдела сельскохозяйственной микробиологии ФГБУН «НИИ сельского хозяйства Крыма»
18. **Круглова Н.Н.**, д.б.н., профессор, зав. лабораторией экспериментальной эмбриологии растений «Уфимского института биологии РАН»
19. **Сидякин А.И.**, к.б.н., доц. кафедры ботаники и физиологии растений и биотехнологий Таврической академии ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского»

В ряде отзывов имеются некоторые замечания и рекомендации:

д.б.н. Калашникова Е.А.:

1. Из автореферата не понятно, какие первичные экспланты были включены в эксперимент при установлении оптимальных сроков отбора и особенностей их при введении в культуру *in vitro*.

2. Объясните, пожалуйста, чем меристемоиды отличаются от меристемы и адвентивных почек

3. Каким образом были установлены размеры меристемоидов. Какова погрешность измерительного прибора?

4. На рисунке 2 автореферата приводятся результаты гистологических исследований. Автор пишет «А) образование множественных меристемоидов «Ливадия»; Б) раскрытие примордиальных листьев меристемы побега «Ливадия». Возможно автор рисунки перепутал.

к.с-х.н. Плаксина Т.В., в.н.с лаборатории биотехнологии и цитологии ФГБНУ «Научно исследовательский институт Сибири им. М.А. Лисавенко»
«По диссертационной работе имеются следующие замечания:

1. На защиту вынесены не положения, а вопросы.

2. В автореферате не представлены результаты по режиму стерилизации, нет экспозиций обработок, что является важным фактором при стерилизации растительного материала. Это не отражено и в выводах.

3. В автореферате речь идет о двух схемах ступенчатой стерилизации, но как она проводилась не понятно.

4. В выводе 8 не понятно, речь идет об адаптации для всех сортов или же для какого-то конкретного сорта? О каких других сортах идет речь?

5. В тексте встречаются стилистические погрешности, ошибки в нумерации таблиц.

к.б.н. Малаева Е.В.:

1. Какова себестоимость растения канны садовой полученной по разработанной автором биотехнологической схеме, в сравнении с аналогичным растением, размноженным биотехнологическим способом?

д.б.н. Яруллина Л.Г. «К оформлению автореферата есть одно замечание: необходимо было дать список сокращений. Это значительно облегчило бы восприятие материала». «На мой взгляд число выводов можно было сократить»

д.б.н. Рожанская О.А.

1. Стр. 8. Как объясняется, что октябрь неблагоприятен для эксплантации и введения в условия *in vitro* всех изучаемых сортов, а сентябрь и ноябрь – благоприятно?

2. стр. 10. В тексте описаны меристемоиды с белой окраской, ссылкой на табл. 2, но в указанной табл. приведены данные по меристемоидам с бежевой окраской.

3. Отмечалась ли соматоклональная изменчивость у растений регенерантов *C. hybrida*?

д.б.н. Чирков С.Н. «Вызывает интерес, что октябрь является неблагоприятным сроком отбора и введения в условия *in vitro* для

эксплантов всех изученных сортов канны (стр. 8). На мой взгляд, этот феномен нуждается в дальнейшем изучении. Видимо, необходимы дальнейшие исследования влияния состава почвенной смеси на приживаемость регенерантов, поскольку термин «лиственная земля» (стр. 16) недостаточно определенный и может по-разному трактоваться в разных лабораториях. Замечания: на стр. 8 и 20 приводится сокращенное название соединения ССС без его расшифровки».

д.б.н., Третьякова И.Н., « Автору следовало бы более подробно остановиться на изучении морфогенетического потенциала эксплантов листа, завязей и бутонов канны.

д.б.н. Круглова Н.Н., "Хотелось бы уточнить у диссертанта, что в работе понимается под термином "меристемоид"? В литературе, посвященной цитологическим аспектам культуры *in vitro*, под меристемоидами понимаются клетки, схожие, но не идентичные меристематическим клеткам. Судя по автореферату, автор вкладывает в этот термин иной смысл. Какой?"

Рецензенты, приславшие положительные отзывы с замечаниями указывают, что эти замечания не снижают ценности диссертационной работы. Они отмечают актуальность и научный интерес разработанного вопроса. Во всех положительных отзывах отмечен высокий методический уровень диссертационных исследований и прикладная ценность полученных данных.

Рецензенты отмечают, что диссертант справился с поставленными задачами и представил завершённую научную работу. Они указывают, что диссертация соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а её автор достоин присуждения искомой степени к.б.н. по специальностям 03.02.01 – ботаника и 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии).

Выбор официальных оппонентов обусловлен тем, что они являются специалистами в области ботаники и биотехнологии растений, имеют публикации пересекающиеся с темой диссертации, это позволяет данным специалистам объективно оценить рассматриваемую диссертацию. Федеральное государственное бюджетное учреждение высшего образования «Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского» назначено ведущей организацией, так как это один из ведущих институтов, занимающихся проблемами, связанными с темой диссертационного исследования, что позволило оценить научную и практическую значимость данной научной работы.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем гистологических исследований процессов регенерации в культуре *in vitro* некоторых сортов канны садовой выявлены особенности и пути морфогенеза *in vitro* полученных структур, что является вкладом в решение фундаментальных задач биологии развития. В результате проведенной работы разработаны биотехнологические приёмы

микроразмножения и депонирования перспективных сортов канны садовой, которые могут быть использованы для массового воспроизводства и сохранения ценных генотипов. Представленный метод эмбриокультуры способствует ускорению создания новых селекционных форм канны.

В результате проведенных исследований процессов развития различных эксплантов 4 сортов канны садовой в условиях *in vitro* установлены особенности адаптации их *in vivo*, показаны морфологические и физиологические различия регенерантов *in vitro* и *in vivo*, особенности их депонирования, а также выявлена зависимость этих процессов от трофических, гормональных и физических факторов культивирования.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

впервые для 4 перспективных сортов канны отечественной и зарубежной селекции определены морфогенетические потенции органов и тканей *in vitro* и показаны возможные пути морфогенеза *in vitro*: формирование меристематических, адвентивных почек и развития проростков из зиготических зародышей. Установлено влияние физических и гормональных факторов на отдельные этапы регенерации растений из вегетативных почек и зиготических зародышей. Определены оптимальные концентрации регуляторов роста (БАП, ТДЗ, НУК, ИУК), индуцирующие процесс прямого органогенеза *in vitro*. В результате сравнительного изучения показаны структурные и функциональные изменения растений канны садовой *in vitro* и *in vivo*. Выявлен сорт канны садовой (Ливадия), который обладает лабильным водным режимом и наибольшей адаптационной способностью к изменяющимся условиям культивирования. Определены оптимальный тип и концентрации ретардантов для депонирования двух сортов канны садовой.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:

показаны пути реализации морфогенеза различных эксплантов в условиях *in vitro*. Подобраны составы питательных сред для получения и размножения растений канны *in vitro*. Использование метода эмбриокультуры позволило получить жизнеспособные проростки канны садовой сортов Дар Востока и Ливадия, что является основой создания новых селекционных форм. Показана возможность адаптации регенерантов канны садовой. Разработана и представлена биотехнологическая схема клонального микроразмножения канны садовой. Заложены в генбанк *in vitro* 3 сорта канны садовой.

Результаты проведенных исследований используются при чтении курса биотехнологии растений в Крымской агротехнологической академии Крымского федерального университета им. В.И. Вернадского.

Оценка достоверности результатов исследования определяется значительным объемом исходного материала и тщательным планированием экспериментов.

Для экспериментальных работ использовалось сертифицированное оборудование, подтверждена воспроизводимость результатов исследований,

использовано сравнение полученных данных и данных других авторов по клональному микроразмножению не только канны садовой, но и всего порядка Zingiberales, использованы современные методы обработки информации методы математической статистики.

Личный вклад соискателя состоит в разработке темы исследований, планировании лабораторных экспериментов совместно с научным руководителем, в непосредственном участии в получении исходных данных, сбору материала и анализе полученных данных. Научные исследования выполнены соискателем в период с 2011 по 2015 гг. Основные публикации выполнены автором лично или совместно с коллегами.

Уникальность текста диссертации составляет 89,98% при проверке по программе «Антиплагиат». Выявленные системой «Антиплагиат» текстовые совпадения в автореферате и диссертации большей частью заимствованы из публикаций автора, на которые в работе имеются ссылки; в некоторых случаях отмечаются неизбежные заимствования цитат, которые являются необходимыми при литературном обзоре исследуемого вопроса, во всех случаях в диссертации имеются корректные ссылки.

Диссертационный совет пришёл к выводу, что диссертация Тевфик Арзы Шевкиевне "Индукция морфогенеза *in vitro* и регенерация растений в культуре вегетативных почек и зародышей канны садовой (*Canna × hybrida hort ex Backer*)", представляет собой самостоятельно выполненную, законченную научно-квалификационную работу.

Диссертационная работа соответствует критериям п. 9-14, установленным «Положением о присуждении учёных степеней», утв. Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. №842.

На заседании 29.06.2016 г. диссертационный совет принял решение присудить Тевфик А.Ш. учёную степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 20 человек, из них 10 докторов биологических наук по специальности 03.02.01 – ботаника и 3 доктора биологических наук по специальности 03.01.06 – биотехнология, участвовавших в заседании,

из 23 человек, входящих в состав совета (из них 3 человека дополнительно введены на разовую защиту), проголосовали:

за - 19, против - 1, недействительных бюллетеней - нет.

Заместитель председателя
диссертационного совета

 Шевченко Светлана Васильевна

Учёный секретарь
диссертационного совета

 Садогурская Светлана Александровна

01.07.2016

