



МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

федеральное государственное  
бюджетное образовательное учреждение  
высшего образования  
«Алтайский государственный университет»

пр-т Ленина, 61, г. Барнаул, 656049  
Тел. (385-2) 291-291. Факс (385-2) 66-76-26  
E-mail: rector@asu.ru

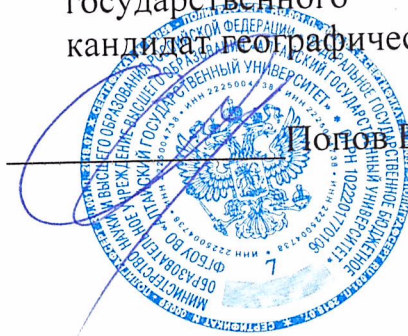
ОГРН 1022201770106 ИНН 2225004738/КПП 222501001  
д/с 20176U88990 ОКПО 02067818  
р/с 40501810401732000002 в ОТДЕЛЕНИЕ БАРНАУЛ г. Барнаул  
ФГБОУ ВО «Алтайский государственный университет»

БИК 04 0173001  
05.11.2018 № 10-21/05/6695  
на № \_\_\_\_\_ от \_\_\_\_\_

УТВЕРЖДАЮ:

И.о. проректора по научному и  
инновационному развитию Алтайского  
государственного университета,  
кандидат географических наук

Цолов Евгений Сергеевич



### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

федерального государственного бюджетного образовательного учреждения  
высшего образования  
«Алтайский государственный университет»

Диссертация «Соматоклональная изменчивость *Rumex acetosa* L. и *Inula britannica* L. в культуре *in vitro*» выполнена на кафедре ботаники.

В период подготовки диссертации соискатель Скапцов Михаил Викторович работал в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Алтайский государственный университет» (последовательно), в Южно-Сибирском ботаническом саду в должности ведущего агронома, затем в должности младшего научного сотрудника; с 30.08.2013 по 31.08.2016 очно обучался в аспирантуре федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Алтайский государственный университет».

В 2013 г. окончил федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Алтайский государственный университет» по направлению подготовки «Биология».

Справка об обучении (о периоде обучения) и о сдаче кандидатских экзаменов выдана в 16.05.2018 г. № 109/2018 федеральным государственным бюджетным образовательным учреждением высшего образования «Алтайский государственный университет», а также о сдаче кандидатского экзамена по специальности 03.02.07 – Генетика, 12.12.2018 № 01/1408 федеральным государственным бюджетным учреждением «Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н. И. Вавилова».

Научный руководитель – Шмаков Александр Иванович, доктор



биологических наук, профессор, основное место работы: федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Алтайский государственный университет», Южно-Сибирский ботанический сад, директор; по совместительству – кафедра ботаники, профессор.

По итогам обсуждения принято следующее заключение:

#### **Оценка выполненной соискателем работы**

Диссертация М. В. Скапцова является научно-квалификационной работой, в которой содержится исследование, заключающееся в сравнительном изучении соматональной изменчивости в культуре *in vitro* на различных стадиях культивирования каллусов и регенерантов, для определения влияния длительной пролиферации клеток на скорость и характер генетического полиморфизма. Материалы выполненной работы, а также полученные данные имеют ценность для классической генетики и молекулярной генетики, биотехнологии растений и селекции.

#### **Актуальность темы и направленность исследования**

Диссертационное исследование направлено на введение растений в культуру *in vitro* методом длительного культивирования каллуса, изучение изменчивости генотипов и кариотипов, генетических полиморфизмов линий *R. acetosa* и *I. britannica in vitro* и изучение характера полиплоидизации геномов. Подобные исследования расширяют область применения генетических методов в селекции и биотехнологии растений. Разработанные оригинальные методики расширяют возможности анализа поведения генома растений в культуре *in vitro*.

Работа посвящена исследованию такого явления, как соматональная изменчивость и возможности ее использования для сохранения растений в культуре *in vitro*, а также получения растений с новыми ценными признаками, что является актуальным в современных отраслях генетики и селекции растений. Исследование процессов в культуре *in vitro* на примере видов полиморфных, со сложной генетической организацией, позволяет накапливать новые фундаментальные и прикладные данные. Использованные в работе методы, а также оригинальные методики позволяют выявлять изменчивость на разных уровнях устройства генома растений. Сравнительные исследования методов позволяет дать практические рекомендации при работах по культивированию растений *in vitro*. Тем самым предварительный подбор типа культивирования, экспланта, изучение путей морфогенеза, оценка эффективных подходов детекции изменчивости становятся необходимыми для успешного сохранения генотипов и оценки возможных последствий при мероприятиях по созданию сохраняемых коллекций растений. *R. acetosa* и *I. britannica* ранее не вводились в культуру *in vitro*, и оценка поведения их геномов является актуальным для фундаментальной науки, что особенно связано со сложностью устройства генома *R. acetosa*. Полученные данные позволяют прогнозировать изменчивость данных растений и их ближайших родичей в природе, а полученные в результате работы линии *R. acetosa*, возможно использовать в исследованиях по селекции с целью получения новых сортов растений.

Тема диссертационной работы соответствует приоритетным направлениям научных исследований и образовательной деятельности в рамках программы



стратегического развития Алтайского государственного университета на 2017–2021 гг. «Изучение и сохранение биологического разнообразия», а также направлениям научных исследований Южно-Сибирского ботанического сада Алтайского государственного университета, связанных с изучением отдельных таксономических групп растений и оценкой возможности их интродукции, в том числе с использованием культуры *in vitro*.

Результаты диссертационного исследования были получены, в том числе, при реализации следующих грантов и проектов, в которых М. В. Скапцов был руководителем:

- грант РФФИ, проект № 16-34-00313\_мол\_а «Эпигенетические и молекулярно-генетические аспекты явления соматической изменчивости в культуре клеток и тканей растений *in vitro*» (2016–2017 гг.);

- грант РФФИ, проект № 13-04-90774\_мол\_рф\_нр «Исследование экспрессии гена *GusA* в трансгенных культурах клеток и тканей растений *in vitro* на фоне явления соматической изменчивости» (2013 г.).

#### **Личное участие автора в получении результатов, изложенных в диссертации**

Автором диссертационного исследования самостоятельно проведены сбор материала, работы по культивированию, а также выполнены и осмыслены все осуществленные анализы. Личный вклад автора также заключается в подготовке основных публикаций, материалов патентов и апробации результатов исследования на всероссийских и международных конференциях.

#### **Степень достоверности результатов проведенного исследования**

Представленные в диссертационной работе результаты получены с использованием современного оборудования, программного обеспечения, современных и классических методов сбора, обработки и анализа материала.

Достоверность полученных данных оценена с применением самых современных статистических методов. Подтверждением достоверности выводов является согласованность полученных результатов с результатами, опубликованными в зарубежных и отечественных работах.

#### **Новизна результатов проведенного исследования**

Впервые проведена оценка соматической изменчивости при длительном культивировании важных и интересных ресурсных видов *R. acetosa* и *I. britannica in vitro*. Явление соматической изменчивости изучили с применением широкого спектра методов на цитогенетическом и молекулярно-генетическом уровнях. Впервые проведены исследования соматической изменчивости в культуре *in vitro* для вида с половыми хромосомами. Разработаны олигонуклеотиды и оригинальные протоколы для исследования копийности генов и проведения метилчувствительного AFLP-анализа. В результате отбора в культуре *in vitro* впервые получены полиплоидные растения, ранее не известные в природе и культуре, *R. acetosa* с нерекombинируемыми половыми хромосомами.

#### **Теоретическая и практическая значимость диссертации и использование полученных результатов**

Теоретическая значимость диссертационного исследования заключается в расширении знаний в области генетики растений при длительном культивировании



*in vitro*. Важным теоретическим вкладом являются данные о характере полиплоидизации геномов растений в культуре *in vitro*, в том числе и геномов растений с нерекombинируемыми половыми хромосомами.

Изложенные идеи и гипотезы о гаплоидизации и редукции моноплоидного генома являются важным вкладом в мировое изучение явления соматоклональной изменчивости растений. Разработанные методики и оригинальные подходы представляют ценность для исследователей поведения геномов растений не только в культуре *in vitro*, но и для изучения генетического разнообразия растений в дикой природе.

Практическая значимость диссертационного исследования обусловлена тем, что в работе раскрыты проблемы применения различных методов на длительно культивируемых линиях, даны рекомендации и подробные протоколы по изучению изменчивости геномов растений. Получены полиплоидные линии *R. acetosa*, которые можно использовать в работах по селекции данного ценного ресурсного вида. Результаты исследования в области проточной цитометрии значительно расширяют область применения данного метода как для рутинной оценки изменчивости в сохраняемых коллекциях, так и быстрого отбора линий в культуре *in vitro* для последующих работ в области селекции. На основе материалов диссертации разработаны 3 патента на изобретения: «Композиция на основе 24-эпибрасинолида для регуляции развития и защиты растений» (№ 2513232. – 2014 г.); «Набор синтетических олигонуклеотидов для детектирования количества копий гена бета-глюкуронидазы в трансгенных растениях» (№ 2555542. – 2015 г.); «Набор синтетических олигонуклеотидов для проведения метилчувствительной амплификации ДНК» (№ 2662664. – 2017 г.). В указанных патентах содержится информация для практического использования с целью повышения стрессоустойчивости растений и методические данные для проведения НИР в генетических лабораториях.

#### **Ценность научных работ соискателя, полнота изложения материалов диссертации в опубликованных работах**

По теме диссертационного исследования автором опубликована 21 работа, из них 6 статей в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук, 6 статей в журналах международных баз цитирования Scopus и Web of Science, 3 патента РФ на изобретения, 6 статей в сборниках материалов научно-практических конференций. Общий объем публикаций – 6,4 а. л., авторский вклад – 3 а. л. В опубликованных работах достаточно полно изложены материалы диссертации.

*Статьи в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук:*

1. **Скапцов, М.В.** Секвенирование и GO аннотация транскриптома культуры клеток и тканей *Rumex acetosa in vitro* / М.В. Скапцов, М.Г. Куцев, М.А.



Краснобородкина, С.В. Смирнов, О.В. Уварова, Т. А. Синицына, А. А. Кечайкин, А. И. Шмаков // *Turczaninowia*. – 2017. – Т. 20. – № 4. – С. 119–124. – 0,4 / 0,2 а.л.

2. **Скапцов, М.В.** Проблемы стандартизации в проточной цитометрии растений / М.В. Скапцов, С.В. Смирнов, М.Г. Куцев, А.И. Шмаков // *Turczaninowia*. – 2016. – Т. 19. – № 3. – С. 120–122. – 0,2 / 0,1 а.л.

3. **Скапцов, М.В.** Содержание ядерной ДНК в некоторых сортах растений, используемых в качестве внешних стандартов в проточной цитометрии / М.В. Скапцов, С.В. Смирнов, М.Г. Куцев // *Turczaninowia*. – 2014. – Т. 17. – № 3. – С. 72–78. – 0,5 / 0,2 а.л.

4. **Скапцов, М.В.** Соматоклональная изменчивость девясила британского – *Inula britannica* L. в культуре *in vitro* / М. В. Скапцов, Д. Л. Белкин, С. В. Смирнов, М. Г. Куцев // *Turczaninowia*. – 2015. – Т. 18. – № 4. – с. 41–48. – 0,6 / 0,3 а.л.

5. **Скапцов, М.В.** Влияние 24-эпибрассинолида на продолжительность культивирования щавеля (*Rumex acetosa* L.) *in vitro* / М.В. Скапцов, М.Г. Куцев // Вестник ТГУ. Биология. – 2013. – Т. 22. – №2. – С. 52–56. – 0,3 / 0,1 а.л.

6. **Скапцов, М.В.** Изменения карิโอטיפа *Rumex acetosa* L. в культуре *in vitro* на фоне явления соматоклональной изменчивости / М.В. Скапцов, М.Г. Куцев // Известия Алтайского государственного университета. – 2012. – Т. 3-2. – с. 57–59. – 0,2 / 0,1 а.л.

*Статьи в журналах, входящих в Scopus/Web of Science:*

1. Smirnov, M. Spontaneous hybridization among *Allium tulipifolium* and *A. robustum* (*Allium* subg. *Melanocrommyum*, *Amaryllidaceae*) under cultivation / S. Smirnov, M. Skaptsov, A. Shmakov, R. Fritsch, N. Friesen // *Phytotaxa*. – 2017. – Vol. 303. – p. 155–164. – 0,9 / 0,5 а.л.

2. **Skaptsov, M.** The phenomenon of endopolyploidy in some species of the *Chenopodioideae* (*Amaranthaceae*) / M.V. Skaptsov, M.N. Lomonosova, M.G. Kutsev, S.V. Smirnov, A.I. Shmakov // *Botany letters*. – 2017. – Vol. 64. – p. 47-53. – 0,5 / 0,2 а.л.

3. **Skaptsov, M.** Effect of modified heptamethyltrisiloxane on the efficiency of agrobacterium-mediated transformation and expression of recombinant structure in plant cell and tissue culture / M. Skaptsov, M. Kutsev, M. Filipenko, E. Khrapov, H. Shinoyama // *Key engineering materials*. – 2016. – Vol. 63. – p. 503-510. – 0,6 / 0,3 а.л.

4. **Skaptsov, M.V.** Possibilities of *de novo* transcriptome sequencing in pylogenetic research on an example of *Taraxacum officinale* (*Asteraceae*) / M.G. Kutsev, M.V. Skaptsov, S.V. Smirnov, T.A. Sinitsyna, A.A. Kechaykin, M.S. Ivanova, A.I. Shmakov // *Biological Bulletin of Bogdan Chmelnytskyi Melitopol State Pedagogical University*. – 2016. – Vol. 6 p. 319–323. – 0,3 / 0,1 а.л.

5. **Скапцов, М.В.** Уровни пloidности и относительного содержания ДНК в культуре клеток и тканей растений *in vitro* / М.В. Скапцов, М.А. Краснобородкина, М.Г. Куцев, С.В., Смирнов, А.И. Шмаков, А.В. Мацюра // *Biological Bulletin of Bogdan Chmelnytskyi Melitopol State Pedagogical University*. – 2016. – Vol. 6. – p. 33–38. – 0,4 / 0,2 а.л.

6. **Скапцов, М.В.** Оптимизация сред для культивирования растений *in vitro* на примере щавеля водного (*Rumex aquaticus* L.) / М. В. Скапцов, Д.В.



Балабова, М. Г. Куцев // Сельскохозяйственная биология. – 2014. – Т. 1. – с. 31–35. – 0,3 / 0,1 а.л.

*Патенты на изобретения:*

1. **Скапцов, М.В.** Композиция на основе 24-эпибрассинолида для регуляции развития и защиты растений / М.В. Скапцов, С.В. Смирнов, М.Г. Куцев // патент на изобретение № 2513232. – 2014.

2. **Скапцов, М.В.** Набор синтетических олигонуклеотидов для детектирования количества копий гена бета-глюкуронидазы в трансгенных растениях / М.В. Скапцов, О.В. Уварова, М.Г. Куцев // патент на изобретение № 2555542. – 2015.

3. **Скапцов, М.В.** Набор синтетических олигонуклеотидов для проведения метилчувствительной амплификации ДНК / патент на изобретение № 2662664. – 2017.

*Публикации в прочих научных изданиях:*

1. **Скапцов, М.В.** Изменчивость метилирования сателлитной ДНК и мобильных генетических элементов *Rumex acetosa* в культуре *in vitro* / М.В. Скапцов, М.Г. Куцев, М.А. Краснобородкина, А.А. Тросничков, И.В. Кайгалов, А.И. Шмаков // Проблемы ботаники Южной Сибири и Монголии: сборник научных статей по материалам конференции. Барнаул: Изд-во АлтГУ, 2017. – С. 264–267. – 0,2 / 0,1 а.л.

2. **Скапцов, М.В.** Полиморфизм горных и горно-равнинных популяций некоторых представителей флоры АГС и перспективы их сохранения в культуре *in vitro* / М.В. Скапцов, Д.Л. Белкин, А.А. Кечайкин, М.Г. Куцев, А.И. Шмаков // Проблемы ботаники Южной Сибири и Монголии: сборник научных статей по материалам конференции. Барнаул: Изд-во АлтГУ, 2015. – С. 375–379. – 0,3 / 0,1 а.л.

3. **Скапцов, М.В.** Влияние 1,1,1,3,5,5,5-гептаметилтрисилоксана на эффективность агробактериальной трансформации и экспрессии рекомбинантных конструкций в культуре клеток и тканей растений *in vitro* / М.В. Скапцов, М.Г. Куцев // Перспективы развития фундаментальных наук: материалы 12 Международной конференция студентов и молодых ученых (Томск, 21–24 Апреля 2015 г.). – Национальный исследовательский Томский политехнический университет, 2015. – С. 874–876. – 0,2 / 0,1 а.л.

4. **Скапцов, М.В.** Влияние поли-п-виниламидов на рост и развитие культур клеток и тканей растений *in vitro* / М.В. Скапцов, М.Г. Куцев // Биотехнология и общество в XXI веке: сборник научных статей по материалам конференции. Барнаул: Изд-во АлтГУ, 2015. – С. 398–400. – 0,2 / 0,1 а.л.

5. **Скапцов, М.В.** Генетическая трансформация сосудистых растений с помощью *Agrobacterium tumefaciens* / М.В. Скапцов // Труды молодых ученых Алтайского государственного университета: сборник научных статей по материалам конференции. Барнаул: Изд-во АлтГУ. – 2010. – С. 172–173. – 0,1 / 0,1 а.л.

6. **Скапцов, М.В.** Возможности проточной цитометрии в современной науке о растениях / М.В. Скапцов // Проблемы ботаники Южной Сибири и



Монголии: сборник научных статей по материалам конференции. Барнаул: Изд-во АлтГУ, 2014. – С. 204–207.– 0,2 / 0,2 а.л.

### Соответствие содержания диссертации избранной специальности

Диссертационное исследование посвящено изучению молекулярно-генетической и цитогенетической изменчивости геномов растений при длительном культивировании *in vitro*. Таким образом, материалы диссертационной работы отвечают формуле специальности 03.02.07 – Генетика (биологические науки) в части изучения мутационной изменчивости растений и соответствуют областям исследования «Мутационная изменчивость. Радиационный и химический мутагенез. Геномные и хромосомные перестройки. Полиплоидия и анеуплоидия. Модификационная изменчивость. Импринтинг» (п. 4 паспорта специальности), «Методы генетического анализа у прокариот и эукариот. Генетическое картирование. Генетика пола. Внехромосомная наследственность» (п. 5 паспорта специальности), «Эпигенетика» (п. 6 паспорта специальности), «Генетическая и клеточная инженерия. Трансгенные организмы» (п. 10 паспорта специальности), «Генетические основы биотехнологии» (п. 11 паспорта специальности).

Диссертация «Соматональная изменчивость *Rumex acetosa* L. и *Inula britannica* L. в культуре *in vitro*» Скапцова Михаила Викторовича рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – Генетика.

Заключение принято на совместном заседании кафедры ботаники биологического факультета и Южно-Сибирского ботанического сада федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Алтайский государственный университет».

Присутствовало на заседании – 25 чел. Результаты голосования: «за» – 25 чел., «против» – нет, «воздержалось» – нет, протокол № 3 от 2 ноября 2018 г.

Доктор биологических наук, профессор,  
заведующая кафедрой ботаники,  
Тел. 8(3852)29-66-49,  
E-mail: msilan@mail.ru



Силантьева Марина Михайловна



Кандидат биологических наук,  
заместитель директора Южно-Сибирского  
ботанического сада,  
Тел.: 8(3852) 67-09-27,  
E-mail: m\_kucev@mail.ru



Кучев Максим Геннадьевич

ПОДПИСЬ ЗАБЕРИЮ  
НАЧ ОТДЕЛА ПО РСОП  
УК МОКЕРОВА ЕВ