

Рецензия на автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук Скапцова Михаила Викторовича "САМОКЛОНАЛЬНАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ *RUMEX ACETOSA* L. И *INULA BRITANNICA* L. В КУЛЬТУРЕ IN VITRO"

Культивирование клеток растений и тканей *in vitro* является перспективным подходом для изучения молекулярно – генетических и цитологических процессов в растительной клетке и, в частности, для контролирования мутационного процесса. В прикладном аспекте эти знания стимулируют создание новых высокоурожайных сортов, адаптированных и устойчивых к болезням, вредителям и неблагоприятным факторам среды. *Rumex acetosa* L. и *Inula britannica* L. послужили ценными модельными видами, сочетая в себе высокий генетический потенциал, способность к длительному культивированию *in vitro* и наличию других свойств, способствующих их использованию для научных и прикладных задач. Таким образом, актуальность темы не вызывает сомнений.

Объектами исследования являлись *Rumex acetosa* L. и *Inula britannica* L.. Культивирование *in vitro* изолированных тканей и органов растений осуществлялось согласно общепринятым рекомендациям. Для оценки полиморфизмов в культуре *Rumex acetosa* L. и *Inula britannica* L. использовался RAF-анализ. Показано, что в случае *Rumex acetosa* через 12 месяцев культивирования каллюсов и регенерированных растений экспрессия включенного в плазмиду гена *gusA* и вставка селективного маркера отсутствовали. Обратная ситуация отмечена для *Inula britannica* Экспрессия гена *gusA* отмечена на всех стадиях культивирования *in vitro* и в регенерантах.

Данные проточной цитометрии позволили определить относительное содержание ДНК в культуре обоих растений. В культуре клеток *Rumex acetosa* отмечена гаплотизация и последующая диплотизация как ответа клеток на стресс и перестройки генетического аппарата для приспособления к факторам среды. Отличительной особенностью регенерантов *Rumex acetosa* были полиплоидия и значительные изменения в относительном содержании ДНК, тогда как для регенерантов *Inula Britannica* была отмечена утрата хромосом и соответствующее снижение относительного содержания ДНК. Следует отметить, что на стадии регенерации фенотипических изменений у обоих растений не было.

Генетическая изменчивость в культуре *in vitro* изучалась на основе RAF-маркеров. При этом были использованы разные статистические методы и критерии – индекс Шенона, генетическая дистанция Нея, AMOVA, Structure и UPGMA. В результате анализа установлено, что удаление регуляторов роста из состава питательной среды вызывает снижение генетического полиморфизма. Генетические дистанции Нея увеличиваются пропорционально длительности культивирования. AMOVA- анализ для четырех линий показал, что 85% вариаций были внутри линий и только 15% между линиями. Возможно, этот результат обусловлен канализацией генетических процессов в ответ на изменения внешней среды.

Для исследования нуклеотидных замен в ДНК выявленных на основе RAF-маркеров был использован NGS-секвенирование ROCHE 454. В результате установлены с высокой долей вероятности различия между стадиями культивирования P2-P3 и P4-P5 относительно контрольных образцов эксплантов стадии P1, что подтверждает предыдущие данные автора. Таким образом, RAF-маркеры пригодны для экспресс-диагностики генетических полиморфизмов в культуре *in vitro* и оценки влияния соматональной изменчивости на генотипы исследуемых видов растений. Автор диссертации также исследовал метилирование последовательностей ДНК с преобладающими CpG участками. Отмечено, что у функциональных генов метилирование слабо коррелирует между стадиями культивирования. Значительное метилирование ДНК наблюдается у мобильных элементов из различных семейств. Таким образом, культуры тканей могут активировать некоторые мобильные генетические элементы, тогда как другие остаются неповрежденными или их уровень активности изменяется.

В результате работы была подготовлена библиотека кДНК каллуса *Rumex acetosa*. Оказалось, что пул мРНК менее разнообразен в каллюсных линиях, что, видимо, связано со снижением специализации и дедифференцировкой клеток.

В заключение необходимо отметить, что цели и задачи исследования автором диссертации выполнены, научная новизна полученных данных не вызывает сомнений и полученные данные найдут практическое применение. Выводы, представленные в автореферате, соответствуют полученным данным.

Диссертация Скапцова М.В. соответствует требованиям ВАК и соискатель достоин присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – Генетика.

Кандидат биол. наук (03.02.07 – генетика), старший науч. сотр. Всероссийского научно-исследовательского института генетики и разведения сельскохозяйственных животных-филиал федерального государственного бюджетного научного учреждения «федеральный научный центр животноводства-виж имени академика Л.К. Эрнста» (ВНИИГРЖ)

Смарагдов Михаил Григорьевич

196625, Санкт-Петербург-п. Тярлево, Московское шоссе 55а,

Телефон: (812) 4517663

e-mail: spbvniigen@mail.ru

Подпись Смарагдова Михаила Григорьевича заверяю: Ученый секретарь ВНИИГРЖ

Мавродина Татьяна Германовна

