

**Заключение диссертационного совета Д 003.058.01
на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки
Центрального сибирского ботанического сада Сибирского отделения
Российской академии наук по диссертации на соискание ученой степени
кандидата наук**

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 18.10.2016 г.,
протокол № 10

О присуждении Мурасевой Динаре Серыкбаевне, гражданке Российской Федерации ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Размножение и сохранение *in vitro* редких и эндемичных видов рода *Fritillaria* L.» по специальности 03.02.01 – «Ботаника» принята к защите 06.06.2016 г., протокол № 8 диссертационным советом Д 003.058.01 на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Центрального сибирского ботанического сада Сибирского отделения Российской академии наук (ЦСБС СО РАН), 630090, г. Новосибирск, ул. Золотодолинская, 101. Совет утвержден 11.04.2012 г., приказ № 105/нк.

Соискатель Мурасева Динара Серыкбаевна 1989 года рождения, в 2012 г. окончила ФГБОУ ВПО «Алтайский государственный университет»; в 2015 г. – очную аспирантуру при ЦСБС СО РАН; работает младшим научным сотрудником в ЦСБС СО РАН.

Диссертация выполнена в лаборатории биотехнологии ЦСБС СО РАН.

Научный руководитель – д.б.н. Новикова Татьяна Ивановна, ЦСБС СО РАН, лаб. биотехнологии, зав. лабораторией.

Официальные оппоненты: Мочалова Ольга Владимировна, д.б.н., с.н.с., ФГБНУ «НИИ садоводства Сибири им. М.А. Лисавенко», лаб. биотехнологии и цитологии, зав. лабораторией; Андропова Елена Валентиновна, к.б.н., ФГБУН Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, лаб. эмбриологии и репродуктивной биологии, с.н.с., дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация – ФГБУН Уфимский институт биологии РАН, г. Уфа в своем положительном заключении, подписанным Кругловой Натальей Николаевной, д.б.н., проф., лаб. экспериментальной эмбриологии растений, зав. лабораторией и Сельдимировой Оксаной Александровной, к.б.н., лаб. экспериментальной эмбриологии растений, в.н.с., указала, что диссертация Д.С. Мурасевой представляет собой завершённое исследование на актуальную тему и имеет несомненный научный интерес. Автором четко выявлены видовые различия рябчиков по скорости индукции морфогенного ответа при использовании луковичных чешуй в качестве первичных эксплантов. Впервые

установлена успешность и перспективность использования флоральных органов рябчика шахматного для введения в культуру *in vitro*, а также влияние минерального состава питательной среды на путь морфогенеза этого вида в культуре ткани. Выявлена положительная роль холодной стратификации как на этапе введения в культуру *in vitro*, так и на этапах укоренения и адаптации растений-регенерантов, при этом низкие температуры стимулировали ризогенез и ускоряли прорастание луковиц в условиях *ex vitro*. На основе разработанных диссертантом систем клонального микроразмножения создана коллекция *in vitro* восьми видов рябчиков, среди которых имеются редкие и эндемичные виды, занесенные в Красную книгу РФ (2008).

Соискатель имеет 12 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации – 10. Работ, опубликованных в рецензируемых научных изданиях – 3, материалы конференций – 7. В соавторстве опубликовано – 9 статей, где материалы соискателя составляют 30-80%. Общий объем публикаций составляет 4,9 п.л.

1. Эрст, А.А. Сохранение и размножение *in vitro* редких видов рода *Fritillaria* (Liliaceae) / А.А. Эрст, А.С. Эрст, Д.Н. Шауло, Д.С. Кульханова // Растительный мир Азиатской России. – 2014. – №1(13). – С. 64-70.

2. Кульханова, Д.С. Регенерация эндемичного вида *Fritillaria sonnikovae* из луковичных чешуй в культуре *in vitro* / Д.С. Кульханова, А.А. Эрст, Т.И. Новикова // Онтогенез. – 2015. – Т. 46, №4. – С. 259-266.

3. Мурасева, Д.С. Размножение и сохранение *in vitro* редкого вида *Fritillaria meleagris* L. из флоральных эксплантов / Д.С. Мурасева, Т.И. Новикова, А.А. Эрст // Сибирский экологический журнал. – 2015. – №6. – С. 909-919.

На диссертацию и автореферат поступило 12 положительных отзывов. В отзыве к.б.н. Дунаевой С.Е. (ФГБНУ ВИР, г. Санкт-Петербург) отмечено, что автор использовал недостаточно четкую терминологию при изложении экспериментальных данных, отсутствует однозначная формулировка понятий «этап собственно размножения», «морфогенный ответ». В отзыве д.б.н., проф. Ишмуратовой М.М. (ФГБОУ ВПО «Башкирский государственный университет», г. Уфа) заданы вопросы об использовании в работе растений младших возрастных состояний и проявлении влияния возраста растений-доноров на морфогенные процессы *in vitro*. В отзыве д.б.н., проф. Тиминой О.О. (Приднестровский государственный университет, Республика Молдова, г. Тирасполь) отмечена важность проведения дальнейших исследований для разработки более детальных критериев дифференциации типов морфогенеза. В отзыве к.б.н. Бутузовой О.Г. (ФГБУН БИН РАН, г. Санкт-Петербург) поставлены вопросы о причинах видовых различий по скорости морфогенного

ответа и дальнейшей судьбе растений-регенерантов, прошедших адаптацию. В отзыве д.б.н. Рожанской О.А. (Сибирский НИИ кормов СФНЦА РАН, г. Краснообск) задан вопрос о наличии соматклональной изменчивости у растений-регенерантов. В отзыве д.б.н., доц. Новоселовой Л.В. и к.б.н., доц. Шибановой Н.Л. (ФГБОУ ВПО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», г. Пермь) отмечено, что требует пояснения таблица 4, стр. 13 автореферата. В отзыве член-корр., д.б.н., проф. Кунаха В.А. и к.б.н. Мельника В.Н. (Институт молекулярной биологии и генетики НАН Украины, г. Киев) задан вопрос о целесообразности использования флоральных органов для сохранения *in vitro* биоразнообразия растений видов *Fritillaria*.

Без замечаний поступили отзывы от: к.с-х.н. Клементьевой Л.А. (ФГБНУ «НИИСС им. М.А. Лисавенко», г. Барнаул); д.с-х.н., проф. Сорокопудова В.Н. (ФГБНУ ВСТИСП, г. Москва); д.б.н., проф. Третьяковой И.Н. (ФГБНУ ФИЦ КНЦ СО РАН, г. Красноярск); к.б.н. Маляровской В.И. (ФГБНУ ВНИИЦиСК, г. Сочи); д.с-х.н., проф. Батукаев А.А. (ФГБОУ ВО «Чеченский государственный университет», г. Грозный).

Неофициальные оппоненты высоко оценили результаты исследований, отмечая, что впервые соискателем выявлена видоспецифичность роста, развития микролуковичек на питательных средах разного минерального состава с присутствием различных регуляторов роста и подобраны оптимальные среды для регенерации изучаемых видов рода *Fritillaria*. Изучены субстраты, температурные режимы, обеспечивающие высокую частоту адаптации растений-регенерантов в теплице. Большую ценность представляют разработанные протоколы массового размножения и среднесрочного хранения *in vitro*, а также адаптации *ex vitro* для восьми редких и эндемичных видов рябчиков.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается их компетентностью в изучаемой области науки и наличием признанных результатов исследований, опубликованных в ведущих изданиях.

Диссертационный совет отмечает, что соискателем впервые разработаны эффективные системы микроразмножения редких и эндемичных видов рода *Fritillaria* L., произрастающих на территории Алтае-Саянской горной области. Морфо-гистологические исследования процессов регенерации исследуемых видов в культуре *in vitro* выявили различные пути морфогенеза побегов, что вносит большой вклад в решение фундаментальных проблем биологии развития.

Теоретическая значимость исследования заключается в оценке видовых особенностей морфогенеза редких и эндемичных представителей рода

Fritillaria L., произрастающих в горах Южной Сибири. Изучение процессов регенерации выявило два пути морфогенеза рябчиков в культуре *in vitro* – геммогенез и гемморизогенез. Установлена эффективность использования флоральных структур в качестве первичных эксплантов для введения рябчиков в культуру *in vitro*. Впервые показано влияние минерального состава среды на путь морфогенеза *F. meleagris* при использовании одинаковой комбинации регуляторов роста. Предложенные технологии клонального микроразмножения способствуют решению задач сохранения биоразнообразия видов рода *Fritillaria*.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики заключается в том, что разработанные системы микроразмножения могут быть использованы как для массового воспроизведения рябчиков, так и для создания коллекций *in vitro* с целью сохранения редких и эндемичных видов рода *Fritillaria*. Впервые созданы протоколы клонального микроразмножения сибирских видов рода *Fritillaria*. Для этого подобраны условия введения в культуру *in vitro* с использованием в качестве первичных эксплантов луковичных чешуй и флоральных структур. Определены режимы укоренения и адаптации пробирочных растений *Fritillaria* к нестерильным условиям *ex vitro*, при этом выявлено положительное влияние низких температур на дифференциацию луковицы и преодоление покоя при адаптации растений. Разработана эффективная система хранения микроклонов *in vitro* в условиях замедленного роста и создана коллекция *in vitro* 8 редких и эндемичных видов рода *Fritillaria*.

Оценка достоверности результатов исследования определяется большим объемом фактического материала и тщательностью обработки полученных данных. В работе использовались классические методы культивирования изолированных тканей и органов растений, а также приемы подготовки гистологических препаратов. Проведены детальные исследования процессов морфогенеза с использованием современного микроскопического оборудования на базе Центра коллективного пользования ЦСБС СО РАН. Приготовлено и просмотрено более 500 постоянных гистологических препаратов. При анализе результатов исследования использованы современные методы статистической обработки экспериментальных данных с применением программ Microsoft Office Excel 2007, Statistica 6.0.

Личный вклад соискателя состоит в непосредственном участии в планировании и постановке экспериментов, сборе материала, самостоятельной

подготовке постоянных микротомных препаратов, обработке и интерпретации экспериментальных данных и подготовке материалов для публикаций.

На заседании 18 октября 2016 г. диссертационный совет принял решение присудить Мурасевой Д.С. ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 20 человек, из них 11 докторов наук по специальности «Ботаника», участвовавших в заседании, из 24 человек, входящих в состав совета проголосовали: за – 20, против – нет, недействительных бюллетеней – нет.

Председатель
диссертационного совета

Вячеслав Петрович Седельников

Ученый секретарь
диссертационного совета

Эльвира Александровна Ершова

26.10.2016 г.