

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
«ФЕДЕРАЛЬНЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР БИОРАЗНООБРАЗИЯ
НАЗЕМНОЙ БИОТЫ ВОСТОЧНОЙ АЗИИ»
ДАЛЬНЕВОСТОЧНОГО ОТДЕЛЕНИЯ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК
(ФНЦ БИОРАЗНООБРАЗИЯ ДВО РАН)

690022, г. Владивосток, проспект 100-летия Владивостока, 159
тел.: (423) 231-04-10, факс: 231-01-93, e-mail: info@biosoil.ru

«дл» на 07.05.2023 г. № 16147/ 821

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор ФНЦ Биоразнообразия ДВО РАН
д.б.н., чл.-корр. РАН Гончаров А.А.



ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

на диссертационную работу Таиповой Рагиды Мухтаровны
«Физиолого-биохимическая характеристика генетически
трансформированных и мутантных форм *Amaranthus* spp.»,

представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук
по специальности 1.5.21. Физиология и биохимия растений

Актуальность работы.

Амарант (*Amaranthus* spp.) представляет собой перспективную сельскохозяйственную культуру, отличающуюся высоким содержанием углеводов, белка и жира в зерне. Особенность амаранта заключается в наличии сбалансированного аминокислотного состава его белка, что делает его выгодным по сравнению с другими основными зерновыми культурами. Амарант содержит важные аминокислоты, витамины и макро- и микроэлементы, демонстрируя антиоксидантные и противовоспалительные эффекты на организм человека. Как источник качественного зерна амарант привлекает внимание и в России, особенно в условиях, малоприспособленных для выращивания других зерновых культур. Однако его урожайность все еще

ниже по сравнению с другими зерновыми, что подчеркивает важность разработки методов для создания новых высокопродуктивных сортов.

Актуальность работ в области селекции и генетической инженерии амаранта неоспорима в контексте современных аграрных исследований. В качестве одного из методов селекции используется химически индуцированный мутагенез, в частности, применение азиды натрия, который успешно используется для улучшения урожайности различных культур. Развитие методов генетической инженерии позволяет не только улучшить урожайные качества амаранта, но и повысить его устойчивость к неблагоприятным факторам внешней среды, что существенно увеличивает его потенциал как пищевого и кормового ресурса. Селекция и генетическая инженерия амаранта открывает новые перспективы для устойчивого развития сельского хозяйства, поддержания биоразнообразия и обеспечения пищевой безопасности. Таким образом, исследование амаранта, учитывая его уникальные питательные качества и потенциал в сельском хозяйстве, является актуальной и важной задачей.

Актуальность изучения амаранта также значительна и с точки зрения фундаментальных аспектов физиологии и биохимии растений. Важность амаранта обусловлена его уникальной способностью адаптироваться к различным экологическим условиям, что делает его отличным объектом для изучения механизмов стрессоустойчивости растений. Анализ биохимических путей, участвующих в реакции амаранта на абиотические стрессовые факторы, такие как засуха и засоление, может пролить свет на молекулярные механизмы устойчивости растений в целом. Понимание этих механизмов открывает пути для разработки стратегий генетической модификации и селекции, направленных на повышение устойчивости к стрессу у других сельскохозяйственных культур.

Научная новизна. Диссертационная работа Р.М. Таиповой посвящена изучению новых для амаранта селекционных и генно-инженерных приемов, а также изучению их влияния на хозяйственно ценные признаки, физиологические и биохимические особенности растений. Новизна данного исследования заключается в двух ключевых аспектах: во-первых, впервые

был проведен химический мутагенез амаранта *A. cruentus* с использованием азиды натрия, что позволило определить оптимальную концентрацию мутагена для обработки семян. Этот подход привел к созданию мутантных линий амаранта, обладающих улучшенными характеристиками, включая повышенное содержание белка и изменения в составе липидов. Во-вторых, исследование включало успешное получение генетически трансформированных растений амаранта *A. retroflexus* со сверхэкспрессией гена *ARGOS-LIKE* методом погружения цветков, что является новаторским подходом в области генной инженерии растений. Трансгенные растения характеризовались увеличенными размерами листьев и стебля. Кроме того, автор разработала оригинальную методику генетической трансформации ценного зернового вида *A. cruentus* путем сокультивации эпикотилей с агробактериями и дальнейшей регенерацией трансгенов. Таким образом, эти новые методы химического мутагенеза и генетической инженерии открывают перспективы для разработки новых сортов амаранта с улучшенными ростовыми характеристиками и другими хозяйственно ценными признаками.

Характеристика содержания работы. Диссертация написана по традиционному плану и состоит из классических разделов: «Список сокращений», «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы», «Результаты и обсуждение», «Выводы» и «Список литературы». Работа изложена на 136 страницах, содержит 20 рисунков, 7 таблиц и 249 литературных источника.

В литературном обзоре представлена общая характеристика растений рода *Amaranthus* L. Автор подробно излагает информацию о сортах амаранта как зарубежной, так и отечественной селекции, описывает питательные и другие полезные свойства растения, а также описывает достижения в области биотехнологии и генной инженерии данной культуры. Автор отмечает отсутствие, на сегодняшний день, работ по генетической трансформации ценного зернового вида *A. cruentus*. Также в обзоре достаточно подробно представлены особенности использования азиды натрия как мутагена для растений. В диссертационной работе Р.М. Таиповой был применен широкий

спектр современных и методов, обеспечивающих всесторонний анализ амаранта. Применение химического мутагенеза, современных приемов генетической инженерии растений, молекулярно-генетического и биохимического анализа подчеркивает комплексность проведенного исследования. Для реализации данной работы привлекалась приборная база: для молекулярно-генетического анализа использовали амплификатор, для разделения нуклеиновых кислот использовали электрофоретические камеры, определение активности антиоксидантных ферментов выполнялось с использованием спектрофотометра, а анализ липидов и жирных кислот был выполнен с помощью хроматографа. Методы, используемые для достижения поставленной цели, полностью соответствуют поставленным задачам. Результаты представлены в детальной и всесторонней манере, демонстрируя значимые научные и практические достижения. Автор дополняет каждый раздел результатов собственным заключением, в котором проводится анализ полученных данных. Сделанные выводы ясно сформулированы и напрямую соответствуют поставленным исследовательским задачам.

В целом, диссертация Р.М. Таиповой является результатом тщательной и усердной работы, выполненной с высоким уровнем профессионализма и компетентности. Исследование характеризуется логически выстроенной структурой и является законченным научным трудом, отражающим глубокое понимание исследуемой темы.

Вопросы и замечания.

1. В литературном обзоре автор описывает преимущества амаранта как сельскохозяйственной культуры, его высокую питательную ценность и устойчивость к стрессовым факторам. Но при этом не упоминается, с какими трудностями сталкиваются сельскохозяйственные предприятия при культивации амаранта и какие проблемы необходимо решить для более успешного выращивания амаранта в России. Это добавило бы целостности исследованию и помогло бы лучше понять потенциал амаранта в российском агропромышленном контексте.
2. В литературном обзоре отсутствуют иллюстрации, которые могли бы повысить наглядность этого раздела диссертации. Например, на стр. 31 было

бы уместно привести структуру исследуемого белка ARL с указанием функциональных доменов. Кроме того, информация об отечественных сортах амаранта на стр. 15–18 была бы гораздо информативнее в форме таблицы.

3. В разделе материалы и методы не представлено подробное описание условий проведения экспериментов по созданию стрессовых условий, таких как воздействие засухи и засоления. Также не описаны условия проведения качественного ОТ-ПЦР анализа. Это затрудняет понимание и сравнение результатов.
4. На стр. 46 и 50 неясно, почему для генетической трансформации *A. retroflexus* была использована одна экспрессионная кассета (с промотором вируса мозаики георгина), а для *A. cruentus* – другая (с промотором вируса мозаики цветной капусты). Был ли проведен сравнительный анализ их эффективности для гетерологичной экспрессии гена *ARGOS-LIKE* в двух разновидностях амаранта?
5. Стр. 59. С чем может быть связана низкая всхожесть семян после обработки фосфатным буфером? Каков процент всхожести у *A. cruentus* без какой-либо обработки?
6. В таблице 3 заметна отрицательная корреляция между концентрацией азидата натрия и высотой стебля мутантных растений в диапазоне 0,1-5 мМ. Однако при высоких концентрациях (20 и 40 мМ) наблюдается заметное увеличение данного показателя. Как автор может объяснить этот необычный эффект?
7. Стр. 76. Для анализа антиоксидантного статуса мутантных линий были выбраны растения с максимальным содержанием белка в семенах. Почему на выбор автора повлияло именно содержание белка, а не содержание липидов или другие характеристики мутантных линий?
8. Стр. 76 и 81. Почему в качестве стресс-факторов были выбраны засуха и засоление? Исходя из литературного обзора амарант от природы довольно устойчив к этим воздействиям. Не более актуальны ли сорта, устойчивые к холоду?
9. На рис. 94 приведены морфометрические показатели (высота стебля и длина листьев) трансгенных по гену *ARL* растений *A. retroflexus*. Можно ли сравнить их с соответствующими характеристиками мутантных растений *A.*

cruentus? Какой из подходов, селекция мутантных форм или трансгенез, по мнению автора более перспективен?

10. Эффективность агробактериальной трансформации эпикотелей оказалась в три раза выше метода погружения цветков. Однако в первом случае результатом трудоемких усилий стали только 3 трансгена, тогда как в методе *in vivo* было получено 26 растений. Означает ли это, что метод трансформации *in vitro* не подходит для амаранта, или, по мнению автора, существуют случаи, когда его применение все же целесообразно?

Отмеченные выше вопросы и замечания носят рекомендательный характер и не умаляют результатов представленной работы.

Теоретическая и практическая значимость работы.

Исследование в области агrobiотехнологии амаранта представляет значительную теоретическую и практическую значимость. Первое применение химического мутагенеза амаранта *A. cruentus* с использованием азидата натрия привело к созданию солеустойчивых и засухоустойчивых линий, обладающих увеличенным содержанием белка и липидов, что способствует улучшению питательных свойств культуры. Кроме того, успешная генетическая трансформация *A. retroflexus* с использованием метода погружения цветков и *A. cruentus* с помощью агробактериальной трансформации эпикотелей открывает новые возможности для улучшения хозяйственно ценных признаков за счет сверхэкспрессии гена *ARGOS-LIKE*. Эти достижения не только расширяют понимание генетических и физиологических механизмов адаптации амаранта к стрессовым условиям, но и имеют практическое значение для селекции и устойчивого сельского хозяйства.

Достоверность и апробация полученных результатов. Все результаты получены с использованием современной приборной базы и методов исследования. Диссертант продемонстрировал грамотную статистическую обработку данных, что обеспечивает достоверность и объективность результатов исследования. Работа выполнена на высоком уровне и оставляет положительное впечатление. По данной диссертации опубликовано 7 работ, из которых 3 статьи в изданиях, включённых в

международные базы Scopus или RSCI, и 3 статьи в рецензируемых журналах из списка ВАК. Результаты работы были также представлены в материалах региональных, всероссийских и международных конференций.

Заключение. Диссертационная работа Таиповой Рагиды Мухтаровны «Физиолого-биохимическая характеристика генетически трансформированных и мутантных форм *Amaranthus spp.*», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.21. Физиология и биохимия растений, по всем критериям отвечает требованиям, установленным пунктами 9–14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 № 842 в действующей редакции, а ее автор заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.21. Физиология и биохимия растений.


Отзыв на диссертацию Р.М. Таиповой обсужден и одобрен на заседании лаборатории бионанотехнологий и биомедицины ФНЦ Биоразнообразия ДВО РАН (Протокол №11 от 20.11.2023 г.).

Доцент, кандидат биологических наук по специальности 03.00.23 – Биотехнология
ведущий научный сотрудник лаборатории бионанотехнологий и биомедицины
ФНЦ Биоразнообразия ДВО РАН



Шкрыль Юрий Николаевич

Адрес: 690022, Россия,
г. Владивосток, проспект 100-летия
Владивостока, д. 159.
e-mail: shkryl@biosoil.ru
тел.: +7(423)231-07-18

 Юрий Шкрыль Ю.Н. заверяю
Начальник отдела кадров Федерального государственного
бюджетного учреждения науки "Федеральный научный
центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии"
Дальневосточного отделения Российской академии наук
Юрий Шкрыль Ю.Н. 20.11.2023

Я, Шкрыль Юрий Николаевич, даю согласие на включение своих персональных данных в документы, связанные с работой диссертационного совета, и их дальнейшую обработку.