

УТВЕРЖДАЮ

Проректор по инновационной
деятельности
федерального государственного
бюджетного образовательного
учреждения высшего образования
«Уфимский университет науки и
технологий», к.техн.н., доцент



Г.К. Агеев

сентября 2023 г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения
высшего образования
«Уфимский университет науки и технологий»

Диссертационная работа «Физиолого-биохимическая характеристика генетически трансформированных и мутантных форм *Amaranthus spp*» выполнена на кафедре биохимии и биотехнологии Института природы и человека Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Уфимский университет науки и технологий».

В период подготовки диссертационной работы соискатель Таипова Рагида Мухтаровна обучалась в аспирантуре по очной форме обучения в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Уфимский университет науки и технологий» по направлению подготовки 06.06.01 Биологические науки (профиль: Физиология и биохимия растений). За время учебы в аспирантуре была удостоена стипендии Главы Республики Башкортостан. Работала и в настоящее время работает на кафедре биохимии и биотехнологии Института природы и человека Федерального государственного бюджетного

образовательного учреждения высшего образования «Уфимский университет науки и технологий» в должности ассистента.

В 2019 г. окончила магистратуру федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Башкирский государственный университет» по направлению подготовки 06.04.01 Биология, профиль Биохимия и молекулярная биология.

Диплом об окончании аспирантуры выдан в 2023 г. Федеральным государственным бюджетным образовательным учреждением высшего образования «Уфимский университет науки и технологий».

Справка об обучении в аспирантуре №279-23 выдана в 2023 г. Федеральным государственным бюджетным образовательным учреждением высшего образования «Уфимский университет науки и технологий».

Научный руководитель - Кулуев Булат Разяпович, доктор биологических наук, заведующий лабораторией геномики растений Института биохимии и генетики – обособленного структурного подразделения Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук.

По итогам обсуждения принято следующее заключение:

1. Диссертация Таиповой Рагиды Мухтаровны соответствует пп. 9-11, 13, 14 Положения о порядке присуждения ученых степеней, утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842. Диссертация является законченной научной квалификационной работой, в которой содержатся научно обоснованные исследования физиолого-биохимической оценки генетически трансформированных и мутантных форм растений амаранта, имеющие важное значение для сельского хозяйства, для дальнейшей селекции с целью выведения новых сортов этой культуры с определенными хозяйственно-ценными признаками.

2. В опубликованных работах соискателем получены результаты:

В работах, выполненных в соавторстве, соискателем лично получены следующие результаты:

1. **Таипова Р.М.**, Кулуев Б.Р. Введение в культуру *in vitro* и регенерация побегов из эксплантов эпикотилей амаранта *Amaranthus cruentus* // Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю.А. Овчинникова. - 2018. - Т. 14, № 1. - С. 64-66. – отработана методика введения в культуру *in vitro*, подобраны состав среды, концентрации стерилизующих растворов и концентрации регуляторов роста для индукции органогенеза амаранта, проведены работы по акклиматизации регенерантов к условиям открытого воздуха и почвы.

2. **Таипова Р.М.**, Кулуев Б.Р. Определение оптимальной концентрации мутагена азида натрия для обработки семян *Amaranthus cruentus* L // Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация. - 2021. - № 3. - С. 34-41. – определена лабораторная всхожесть семян амаранта, определена оптимальная концентрация азида натрия для индукции мутагенеза.

3. **Таипова Р.М.**, Мусин Х.Г., Гайнуллина К.П., Кулуев Б.Р. Оценка генетического разнообразия и устойчивости мутантов *Amaranthus cruentus* L. к засухе и засолению // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Естественные науки. - 2023. - № 2. С. 77-93. – проведен анализ 7 линий с помощью микросателлитных маркеров по трем SSR-локусам для первичного доказательства генетических изменений после химического мутагенеза, доказано мутагенное действие азида натрия на геном амаранта, оценены морфометрические показатели мутантных линий амаранта и их антиоксидантный статус.

4. Кулуев Б. Р., Михайлова Е. В., **Таипова Р.М.**, Чемерис А. В. Изменение фенотипа трансгенных растений амаранта *Amaranthus retroflexus* L. с конститутивной экспрессией гена *ARGOS-LIKE* // Генетика. - 2016. - Т. 52, № 12. - С. 1388-1397. – впервые получены трансгенные растения *Amaranthus retroflexus* методом погружения цветков,

методом ПЦР-анализа отобраны трансгенные растения и проведен их морфометрический анализ, показано, что конститутивная экспрессия гена *ARGOS-LIKE* способствует улучшению роста стебля и листьев.

5. **Таипова Р.М.**, Мусин Х.Г., Кулуев Б.Р. Агробактериальная трансформация эксплантов эпикотилей амаранта багряного *Amaranthus cruentus* // Журнал Сибирского федерального университета. Биология. - 2020. - Т. 13, № 2. - С. 179-187. – проведена агробактериальная трансформация растений *A. cruentus* с использованием бинарного вектора pCambia 1301 с геном гигромицинофосфотрансферазы, определена эффективность агробактериальной трансформации сегментов эпикотилей *A. cruentus*, получены трансгенные растения.

6. **Таипова Р.М.**, Нестеров В.Н., Розенцвет О.А., Кулуев Б.Р. Изменения в содержании белков, липидов и состоянии антиоксидантной системы у мутантных форм амаранта *Amaranthus cruentus* L // Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. - 2021. - № 1. - С. 76-85. – проведен анализ состава нейтральных липидов семян амаранта и содержания общего растворимого белка, а также активность компонентов антиоксидантной системы у мутантных форм амаранта.

7. **Таипова Р.М.**, Кулуев Б.Р. Амарант: особенности культуры, применение, перспективы возделывания в России и создания трансгенных отечественных сортов. Биомика. - 2015. - Т. 7, № 4. – С. 284-299. – подготовлен и опубликован обзор литературы, посвященный перспективному для России культурному растению - амаранту. В обзоре освещаются такие вопросы, как хозяйственное значение и применение амаранта, отечественные работы по селекции амаранта, создание трансгенных растений амаранта, перспективы генной инженерии амаранта

3. **Достоверность полученных результатов и выводов** обеспечивается применением современных методов физиологии, биохимии, генетики и молекулярной биологии растений, соответствующего оборудования, высококачественных реактивов, а также достаточной

выборкой и большим объемом проведенной работы. Для интерпретации и анализа полученных результатов привлечено достаточное количество данных литературы. Выводы объективно и полноценно отражают результаты проведенных исследований. Результаты исследования соответствуют данным, представленным в отечественной и зарубежной литературе. Проведенный статистический анализ подтверждает достоверность полученных результатов.

4. Научная новизна работы заключается в следующем:

- Проведены работы по определению оптимальной концентрации мутагена для обработки семян амаранта *A. cruentus*, которая оказалась в диапазоне 0.5–1 мМ, результаты данного исследования в дальнейшем позволяют проводить работы по увеличению генетической изменчивости амаранта;

- Проведен химический мутагенез амаранта *A. cruentus* с помощью азидата натрия, что позволило получить новые мутантные формы амаранта, характеризующиеся достоверным увеличением содержания линолевой и пальмитиновой кислот и высоким содержанием общего растворимого белка, на 52% выше по сравнению с диким типом.

- Созданы солеустойчивые и засухоустойчивые линии амаранта методом химического мутагенеза, которые могут быть использованы в селекции амаранта с целью получения его новых стрессоустойчивых сортов;

- Получены методом погружения цветков генетически трансформированные растения амаранта *A. retroflexus* со сверхэкспрессией гена *ARGOS-LIKE*, характеризующиеся увеличением размеров листьев и стебля по сравнению с диким типом, что позволяет использовать примененную методику и выбранный целевой ген для улучшения морфометрических показателей растений амаранта;

- Разработана технология создания трансгенных растений *A. cruentus* путем сокультивации сегментов эпикотилей с *A. tumefaciens* в условиях *in*

in vitro, что позволяет эффективно использовать данную методику для получения генно-модифицированных растений амаранта.

5. Практическая значимость результатов

Полученные в ходе работы трансгенные и мутантные линии амаранта могут эффективно применяться в дальнейшей селекции с целью выведения новых сортов этой культуры с увеличенными размерами надземных органов. Разработанные методы генетической трансформации *A. retroflexus* и *A. cruentus* могут быть использованы в генной инженерии и геномном редактировании данных видов амаранта. Разработанный метод обработки семян амаранта азидом натрия может быть использована при химическом мутагенезе амаранта для увеличения содержания линолевой и пальмитиновой кислот и повышения содержания общего растворимого белка. Основные результаты исследований могут быть использованы при проведении лабораторных занятий по дисциплинам «Основы генной инженерии» и «Биотехнология растений».

6. Ценность научных работ заключается в том, что в результате проведенных исследований:

- разработан метод индуцированного мутагенеза *A. cruentus* с помощью азиды натрия;
- разработан метод генетической трансформации *A. cruentus* путем сокультивации сегментов эпикотилей с *A. tumefaciens* в условиях *in vitro*;
- разработана технология генетической трансформации *A. retroflexus* методом floral dip.

7. Обоснование выбранной специальности и отрасли науки диссертации:

Диссертационная работа «Физиолого-биохимическая характеристика генетически трансформированных и мутантных форм *Amaranthus spp*» выполнена в рамках специальности 1.5.21. Физиология и биохимия растений и охватывает исследования в области интенсификации растениеводства. Методами генной инженерии растений получены хозяйственно-ценные

генотипы с увеличенными размерами надземных органов. Методами индуцированного мутагенеза созданы линии амаранта, устойчивые к засухе и засолению почвы. Проведены морфофизиологические анализы, определены содержание белков, состав липидов и антиоксидантный статус у мутантных линий амаранта. Проведены работы по культивированию амаранта *in vitro*, индукции регенерации и микроклонального размножения амаранта. Генно-инженерные конструкции использованы для генетической трансформации амаранта. Проведены морфофизиологические исследования трансгенных растений. Получены хозяйственно-ценные генотипы. Работа соответствует следующим пунктам паспорта научной специальности:

п. 5. «Экологическая физиология растений. Растение и стресс».

п. 8. «Культура изолированных клеток, тканей и органов растений; дифференцировка, регенерация, микроклональное размножение».

п. 9. «Генная инженерия растений, физиология трансгенных растений. Получение хозяйственно-ценных генотипов».

8. Полнота изложения материалов диссертации в работах, опубликованных соискателем.

Результаты, полученные в исследовании, докладывались и обсуждались в следующих научных конференциях:

1. Всероссийская научная конференция «Актуальные вопросы фундаментальной и экспериментальной биологии», (Уфа, 2016);

2. Всероссийская научно-практическая конференция, посвященная памяти член-корреспондента АН РБ, доктора биологических наук, профессора Миркина Бориса Михайловича «Актуальные вопросы экологии и природопользования» (Уфа, 2017);

3. Международная научно-практическая конференция «Состояние и перспективы увеличения производства высококачественной продукции сельского хозяйства» (Уфа, 2017);

4. XXX Зимняя молодежная научная школа «Перспективы направления физико-химической биологии и биотехнологии» (Москва, 2018);

5. Международная научная конференция PLAMIC2018 «Растения и микроорганизмы: биотехнология будущего» (Уфа, 2018);
6. V студенческая научная конференция «Биология будущего», (Уфа, 2018);
7. X Всероссийская научно-практическая конференция студентов, магистрантов, аспирантов (Уфа, 2020);
8. Международная научная конференция PLAMIC2020 «Растения и микроорганизмы: биотехнология будущего» (Саратов, 2020);
9. Всероссийская конференция «Генетические ресурсы растений для генетических технологий: к 100-летию Пушкинских лабораторий ВИР» (Санкт-Петербург, 2022);
10. Международная научная конференция PLAMIC2022 «Растения и микроорганизмы: биотехнология будущего» (Санкт-Петербург, 2022);
11. Всероссийская научная конференция с международным участием, посвященная 60-летию Института биохимии и генетики Уфимского федерального исследовательского центра РАН «Геномика и биотехнология для медицины и сельского хозяйства» (Уфа, 2022).

Научные результаты по теме диссертации изложены в 7 публикациях, среди которых 3 в изданиях из Перечня рецензируемых научных изданий, рекомендованных ВАК, 3 научных статьи в изданиях, включенных в базы данных Scopus или RSCI и 1 научная публикация, в журнале индексируемом в базе данных РИНЦ.

Основное содержание работы полностью раскрывается в следующих публикациях.

№	Название статьи	Выходные данные	Авторы	Вклад соискателя
Публикации в научных изданиях из Перечня рецензируемых научных изданий, рекомендованных ВАК				
1.	Введение в культуру <i>in vitro</i> и регенерация побегов из эксплантов эпикотилей амаранта <i>Amaranthus cruentus</i> .	Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю.А. Овчинникова. - 2018. - Т. 14, № 1. - С. 64-66.	Таипова Р.М., Кулуев Б.Р.	Проведение экспериментов, анализ полученных результатов, подготовка текста публикации.

2.	Определение оптимальной концентрации мутагена азидата натрия для обработки семян <i>Amaranthus cruentus</i> L.	Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация. - 2021. - № 3. - С. 34-41.	Таипова Р.М., Кулуев Б.Р.	Проведение экспериментов, анализ полученных результатов, подготовка публикации.
3.	Оценка генетического разнообразия и устойчивости мутантов <i>Amaranthus cruentus</i> L. к засухе и засолению.	Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Естественные науки. - 2023. - № 2. С. 77-93.	Таипова Р.М., Мусин Х.Г., Гайнуллина К.П., Кулуев Б.Р.	Проведение экспериментов, анализ полученных результатов, подготовка публикации.
Публикации в изданиях, включенных в международные базы Scopus или RSCI:				
4.	Изменение фенотипа трансгенных растений амаранта <i>Amaranthus retroflexus</i> L. с конститутивной экспрессией гена <i>ARGOS-LIKE</i>	Генетика. - 2016. - Т. 52, № 12. - С. 1388-1397.	Кулуев Б. Р., Михайлова Е. В., Таипова Р.М., Чемерис А. В.	Анализ полученных результатов, выполнение расчетов, обработка и оформление результатов
5.	Агробактериальная трансформация эксплантов эпикотилей амаранта багряного <i>Amaranthus cruentus</i>	Журнал Сибирского федерального университета. Биология. - 2020. - Т. 13, № 2. - С. 179-187.	Таипова Р.М., Мусин Х.Г., Кулуев Б.Р.	Проведение экспериментов, анализ полученных результатов, подготовка текста публикации.
6.	Изменения в содержании белков, липидов и состоянии антиоксидантной системы у мутантных форм амаранта <i>Amaranthus cruentus</i> L.	Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. - 2021. - № 1. - С. 76-85.	Таипова Р.М., Нестеров В.Н., Розенцвет О.А., Кулуев Б.Р.	Проведение экспериментов, анализ полученных результатов, подготовка текста публикации.
Публикации в журналах, индексируемых в базе данных РИНЦ				
7.	Амарант: особенности культуры, применение, перспективы возделывания в России и создания трансгенных отечественных сортов.	Биомика. - 2015. - Т. 7, № 4. - С. 284-299.	Таипова Р.М., Кулуев Б.Р.	Подготовка текста публикации.

Публикации полностью соответствуют теме диссертации и раскрывают ее основные положения. В диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных соискателем работах, в которых изложены основные полученные результаты диссертации.

Диссертация Таиповой Рагиды Мухтаровны на тему «Физиолого-биохимическая характеристика генетически трансформированных и мутантных форм *Amaranthus spp*» рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по научной специальности 1.5.21. Физиология и биохимия растений.

Заключение принято на заседании кафедры биохимии и биотехнологии Института природы и человека Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Уфимский университет науки и технологий».

Присутствовали на заседании 15 человек, в том числе 6 докторов наук.

Результаты голосования: «за» - 15 человек, «против» - нет, «воздержались» - нет.

Протокол № 1 от «11» сентября 2023 г.

Д.б.н., профессор,
заведующий кафедрой биохимии
и биотехнологии Института
природы и человека
ФГБОУ ВО «Уфимский
университет науки и технологий»

Башкатов Сергей Александрович

Подпись С.А. Башкатова заверяю
Ученый секретарь Ученого совета
университета
к.филол.н., доцент



Н.В. Ефименко