

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу

Мазур Татьяны Васильевны

«Физиолого-биохимическая характеристика многоколосника морщинистого (*Agastache rugosa* (Fisch. et C.A. Mey.) Kuntze) в культуре *in vitro*, его сомаклональная вариабельность с целью биотехнологического использования», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.05 – физиология и биохимия растений

Соответствие диссертации специальностям и отрасли науки, по которым она представлена к защите.

Диссертационная работа Мазур Татьяны Васильевны посвящена изучению перспективного лекарственного растения многоколосника морщинистого (*Agastache rugosa* (Fisch. et C.A. Mey.) Kuntze) для введения его в клеточную культуру и получении сомаклонов и линий каллусных культур, характеризующихся повышенным содержанием биологически активных веществ.

Диссертация Мазур Т.В. выполнена в ГНУ «Центральный ботанический сад Национальной академии НАН Беларусь» в рамках научных программ: ГПОФИ «Ресурсы растительного и животного мира, тема 37 «Сохранение генофонда редких и хозяйственno ценных видов растений в коллекции *in vitro*. Разработка методов микреклонального размножения и депонирования лекарственных и декоративных культур» (2006-2012 гг.); НП Республики Беларусь «Инновационные биотехнологии», тема 23 «Разработка способов сохранения генофонда лекарственных и пряно-ароматических растений в составе коллекций *in vitro* и их использования в качестве основы получения суспензионных культур биотехнологического назначения (2010-2012 гг.); ГПНИ «Фундаментальные основы биотехнологии», задание 1,15 «Структурные и регуляторные белки клетки компартментов органелл как показатель физиологического состояния и уровней накопления вторичных метаболитов дифференцированными тканями лекарственных растений» (2011-2015); грант НАН Беларусь № Б12СО-017 на выполнение научно-исследовательских работ «Разработка новой стратегии получения вторичных метаболитов в культурах *in vitro* лекарственных растений на основе комбинации методов протеомики и метаболомики (2012-2014 гг.).

Научный руководитель доктор биологических наук, профессор, академик НАН Беларусь, заведующий отделом биохимии и биотехнологии растений ГНУ «Центральный ботанический сад НАН Беларусь» Решетников Владимир Николаевич.

Представленные автором результаты многолетних комплексных исследований использованию разных путей повышения синтеза вторичных метаболитов в растении – усовершенствование исходных сортов растений, отбор высокопродуктивных клеточных линий, оптимизация сред культивирования,

направленная на регуляцию биосинтеза БАВ в клеточных культурах растений, позволили получить сомаклоны многоколосника морщинистого (*Agastache rugosa* (Fisch. et C.A. Mey.) Kuntze) и линии коллусных культур в качестве продуцентов биологически активных веществ, характеризующиеся повышенным содержанием БАВ.

Таким образом, диссертационная работа Мазур Т.В. «Физиологобиохимическая характеристика многоколосника морщинистого (*Agastache rugosa* (Fisch. et C.A. Mey.) Kuntze) в культуре *in vitro*, его сомаклональная вариабельность с целью биотехнологического использования» соответствует отрасли биологические науки, специальности 03.01.05 – «физиология и биохимия растений» согласно следующим пунктам Паспорта специальности ВАК Республики Беларусь от 13.12.2021 №304.

п.15. Физиология культуры клеток и тканей *in vitro*, регенерации и клonalного микроразмножения растений,

п.18. Вторичный метаболизм. Процессы биосинтеза и физиологические функции вторичных метаболитов.

Тема диссертации соответствует приоритетным направлениям научной, научно-технической и инновационной деятельности на 2021-2025 гг., утвержденным указом Президента Республики Беларусь № 156 от 07.05.2020 г., пункту 2 «Биологические, медицинские, фармацевтические и химические технологии и производства: биотехнологии (геномные и постгеномные, клеточные, микробные, медицинские, промышленные); фармацевтические субстанции, диагностические препараты и системы, лекарственные средства и иммуномодуляторы».

Актуальность темы диссертации.

Одним из факторов, сдерживающих производство и применение лекарственных средств на растительной основе, является сложная и трудно предсказуемая динамика накопления вторичных метаболитов в исходном растительном сырье, что обуславливает актуальность поиска новых безопасных и эффективных методов стимуляции их общего накопления и направленного биосинтеза растениями. В этом плане использование клеточных технологий может быть одним из возможных путей решения данной проблемы. С этой целью используются несколько путей повышения синтеза вторичных метаболитов в клеточных культурах – отбор высокопродуктивных клеточных линий, оптимизация сред культивирования и направленная регуляция биосинтеза в клеточных культурах растений желаемых соединений. Однако систематических исследований, посвященных целенаправленному изменению количества и регуляции состава наиболее фармакологически ценных индивидуальных соединений в культурах клеток и тканей растений недостаточно для установления закономерностей и механизмов их биосинтеза под влиянием различных факторов.

Важным также является поиск перспективных лекарственных растений, обладающих большим потенциалом для практического применения в фармацевтической, косметической, пищевой промышленности и ветеринарии, и разработка технологии введения их в культуру *in vitro* с целью получения биологически активных соединений, а также сохранения в естественной среде.

В этой связи, тема диссертационной работы несомненно является актуальной и имеет важное значение для дальнейшего развития новых перспективных подходов в биотехнологии.

Степень новизны результатов, полученных в диссертации, и научных положений, выносимых на защиту.

Научные результаты диссертационной работы Т.В.Мазур и положения, выносимые на защиту, характеризуются существенной научной новизной в области физиологии и биохимии растений. Для решения поставленной цели автором решен большой спектр сложных научных задач, с использованием современных методов, что позволило впервые в Республике Беларусь получить сомаклоны *Agastache rugose* и линии каллусных культур в качестве продуцентов биологически активных веществ, с повышенным содержанием метаболитов. Экспериментальные образцы каллусов *Agastache rugose* послужили основой для получения суспензионных культур, которые могут в дальнейшем быть использованы для получения препаратов вторичных метаболитов из биотехнологического сырья. Обоснована целесообразность применения препарата на основе наночастиц селена в клеточной культуре, приводящего к накоплению фенольных соединений и направленному биосинтезу фармакологически соединений. Полученные результаты являются экспериментальной базой для развития работ в области биотехнологии культуры изолированных клеток и тканей лекарственных растений.

Обоснованность и достоверность выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации.

Материалы диссертационной работы репрезентативны. Это подтверждается необходимым и достаточным количеством экспериментальных данных, полученных автором. Достоверность результатов проведенных исследований подтверждается данными статистического анализа. Выводы и рекомендации базируются на проанализированном материале результатов проведенных исследований и вполне обоснованы. Результаты исследований и выводы по диссертационной работе докладывались на 10 Международных конференциях и семинарах, а также на семинарах отдела биохимии и биотехнологии растений ГНУ «Центральный ботанический сад НАН Беларуси».

Проверка диссертационной работы Мазур Т.В. «Физиолого-биохимическая характеристика многоколосника морщинистого (*Agastache rugosa* (Fisch. et C.A. Mey.) Kuntze) в культуре *in vitro*, его сомаклональная вариабельность с целью

биотехнологического использования» на корректность использования заимствованных материалов выполнена в Государственном учреждении «Белорусская сельскохозяйственная библиотека им. И.С. Лупиновича» Национальной академии наук Беларусь. С учетом самоцитирования оригинальность диссертационной работы Мазур Татьяны Васильевны составляет 85,16%.

Научная, практическая, экономическая и социальная значимость результатов диссертации с указанием рекомендаций по их использованию.

Научная значимость полученных результатов состоит во введении лекарственного растения – многоколосника морщинистого (*Agastache rugosa* (Fisch. et C.A. Mey.) Kuntze в клеточную культуру и получении сомаклонов и линий каллусных культур, характеризующихся повышенным содержанием биологически активных веществ. Установлена зависимость выхода биологически активных соединений, имеющих большую значимость для фармацевтического производства от видов каллусных линий, варьирования регуляторов роста и модификаторов биосинтеза вторичных метаболитов в питательной среде и ростового цикла суспензионных культур. Обоснована целесообразность применения препарата на основе наночастиц селена в клеточной культуре, приводящего к накоплению фенольных соединений и направленному биосинтезу фармакологически ценных индивидуальных соединений.

Практическая значимость. Экспериментальные образцы клеточных культур из каллусов *Agastache rugosa* послужили основой для получения суспензионной культуры, которая может быть использована в биореакторах для получения биологически активных веществ. Результаты исследования по направленной регуляции накопления клеточными культурами *Agastache rugosa* биологически активных веществ, включая использование наночастиц селена, могут применяться на предприятиях, специализирующихся на получении активных метаболитов из лекарственных растений. Клеточные культуры многоколосника морщинистого и его сомаклоны включены в коллекционный фонд асептических культур Центрального ботанического сада НАН Беларусь и ДНК-банк интродуцентов. Полученные данные могут быть использованы для разработки регламентов получения биологически активных веществ фенольной природы из клеточных культур многоколосника морщинистого. Разработаны и утверждены лабораторные регламенты на метод культивирования многоколосника морщинистого и на получение суспензионной культуры *Agastache rugosa*. Представленные методические регламенты могут быть применены в аналогичных работах по получению клеточных культур лекарственных растений как продуцентов БАВ. Практическая значимость также подтверждается внедрением результатов исследований в образовательный процесс студентов факультета естествознания БГПУ имени Максима Танка.

Экономическая значимость. Экономическая эффективность состоит в введении перспективного лекарственного растения многоколосника

морщинистого, имеющего высокий потенциал практического применения в фармацевтической, косметической и пищевой промышленности, в культуру *in vitro*, так как решает проблему дефицита сырья и способствует сохранению растения в естественной среде.

Социальная значимость Полученные результаты способствуют расширению исследований по разработке и внедрению новых препаратов или пищевых продуктов (добавок) лечебно-профилактического назначения растительного происхождения. Разработанная лабораторная технология дает возможность регулировать накопление вторичных метаболитов растений - фенольных соединений в клеточной культуре, что способствовало обоснованию научно-методологического подхода к повышению общего содержания фенольных метаболитов и получению ценных биологически активных соединений для профилактики и комплексного лечения различных заболеваний.

Опубликованность результатов диссертации в научной печати.

В соответствии с требованиями ВАК РБ, основные положения и научные результаты соискателя, выносимые на защиту опубликованы в полном объеме и отражены с достаточной полнотой освещения. По материалам диссертации опубликована 21 печатная работа, из них 1 монография, 15 статей, в том числе 7 в изданиях, включенных в перечень ВАК, 5 тезисов докладов. Общий объем опубликованных материалов составляет 3,7 авторских листа (личный вклад соискателя – 2,2 авторских листа). Объем материалов в изданиях, включенных в перечень ВАК – 2,1 авторских листа, из них 1,4 авторских листа – личный вклад соискателя.

Соответствие оформления диссертации требованиям ВАК Республики Беларусь.

Диссертация и автореферат, текст и иллюстративный материал отвечают их содержанию, оформлены в соответствии с требованиями действующей Инструкции ВАК Республики Беларусь. Диссертационная работа включает введение, общую характеристику работы, четыре главы (аналитический обзор литературы, описание объектов и методов исследований, 2 главы результатов исследований и их обсуждение) заключение, список использованных источников и приложения. Работа выполнена на 147 страницах печатного текста, содержит 15 таблиц и 36 рисунков. Список использованных источников состоит из 179 источников (140 – на английском, 39 – на русском языке) и списка публикаций соискателя, включающего 21 научную работу. Автореферат полностью соответствует содержанию диссертации и основным положениям, выносимым на защиту, в краткой форме отражает результаты исследований.

Соответствие научной квалификации соискателя ученой степени, на которую он претендует.

Выполненные автором оригинальные исследования представляют большой интерес, имеют важное фундаментальное и прикладное значение. Достаточно широкая апробация полученных результатов на конференциях различного уровня в Беларуси и за рубежом, их востребованность в области биотехнологии культуры изолированных клеток и тканей лекарственных растений свидетельствуют о высоком научно-методическом уровне диссертации и подтверждают научную квалификацию Т.В.Мазур как соискателя ученой степени кандидата биологических наук.

Конкретные рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации.

Использование, разработанных и утвержденных в ходе выполнения диссертационной работы лабораторных регламентов позволит получать биотехнологическое сырье для изготовления иммуномоделирующих препаратов, антисептиков, препаратов для лечения и профилактики заболеваний. Подобранные модификаторы метаболизма могут использоваться для регуляции биосинтеза вторичных метаболитов при биотехнологическом производстве, способствуя повышению объема производимой продукции и как следствие снижая расходы. Разработанные регламенты могут найти применение в аналогичных работах по получению клеточных культур лекарственных растений как продуцентов БАВ.

Замечания в адрес диссертационной работы.

Принципиальных замечаний по содержанию и оформлению диссертационной работы и автореферата не имеется. Вместе с тем следует указать на некоторые замечания и высказать ряд пожеланий, носящих в основном рекомендательный характер:

1. В работе в главе 2 необходимо привести агрохимическую характеристику экспериментального участка ЦБС НАН Беларуси, на котором выращивались растения – регенеранты (сомаклоны) многоколосника морщинистого.
2. Биохимический состав сомаклонов определялся на фазу цветения. В этой связи нужно отметить было ли различия у них по срокам наступления цветения.
3. Диссертантом в работе не отмечено на растениях какого года выращивания определялся биохимический состав, и сохраняются ли полученные закономерности в последующие годы выращивания.
4. Среди показателей биохимического состава сомаклонов определялось содержание флавона акацетина, поэтому в диссертации нужно более подробно раскрыть его свойства.

5. В тексте диссертационной работы есть отдельные синтаксические, стилистические и технические ошибки, опечатки. Встречаются неудачные выражения и формулировки (С.23, С.53, С.54, С.55, С.57).

Высказанные замечания не снижают значимости работы и ее положительных достоинств в целом. Диссертация по актуальности темы, уровню выполненных исследований, степени научной новизны и практической значимости результатов, соответствует 03.01.05 – физиология и биохимия растений и требованиям ВАК Беларусь (п. 20 «Положение о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий»).

Научные результаты, за которые соискателю может быть присуждена ученая степень.

Диссертационная работа Мазур Татьяны Васильевны по своей структуре, объёму и стилю изложения материала соответствует требованиям «Положения о присуждении ученых степеней и присвоения ученых званий в Республике Беларусь» (Указ Президента Республики Беларусь 17.11.2004 г. №560 (в редакции Указа Президента Республики Беларусь 02.06.2022 г. №190)) и «Инструкции о порядке оформления квалификационной научной работы (диссертации) на соискание ученых степеней кандидата и доктора наук, автореферата и публикаций по теме диссертации» (Постановление Высшей аттестационной комиссии Республики Беларусь от 28 февраля 2014 г №3 (в редакции постановления Высшей аттестационной комиссии Республики Беларусь 22.08.2022 №5)), предъявляемым к работам на соискание ученой степени кандидата биологических наук и рекомендуется к защите по специальности 03.01.05 – физиология и биохимия растений.

Диссертация соответствует п. 20-21 «Положения о присуждении ученых степеней и званий в Республике Беларусь», и соискателю Мазур Татьяне Васильевне может быть присуждена искомая степень за:

- введение впервые в Беларусь лекарственного растения – многоколосника морщинистого (*Agastache rugosa* (Fisch. et C.A. Mey.) Kuntze в клеточную культуру и получение сомаклонов и линий каллусных культур, характеризующихся повышенным содержанием фенольных соединений;
- установление зависимости выхода фармакологически ценных фенольных соединений от видов каллусных линий, варьирования регуляторов роста и модификаторов биосинтеза вторичных метаболитов в питательной среде, а также от ростового цикла суспензионных культур;
- обоснование целесообразности применения препарата на основе наночастиц селена в клеточной культуре, приводящего к накоплению фенольных соединений и целенаправленному биосинтезу фармакологически ценных биологически активных соединений;
- научное подтверждение возможности применения суспензионной культуры *Agastache rugosa* (Fisch. et C.A. Mey.) Kuntze для получения

биологически активных веществ и разработку лабораторной технологии направленной регуляции накопления клеточными культурами многоколосника моршинистого фенольных соединений.

Выражаю свое согласие на размещение отзыва о диссертации на официальном сайте государственного научного учреждения «Институт экспериментальной ботаники имени В.Ф.Купревича Национальной академии наук Беларусь» в глобальной сети Интернет.

Официальный оппонент
главный научный сотрудник
государственного научного учреждения
«Институт экспериментальной ботаники имени
В.Ф.Купревича Национальной академии наук Беларусь»,
член-корреспондент НАН Беларусь, профессор,
доктор биологических наук,

Б. Н. Прохоров

