

УТВЕРЖДАЮ

Проректор по научной работе  
Белорусского государственного  
университета

А.В.Блохин

“\_\_\_\_\_” 2023 г.



**ОТЗЫВ  
ОППОНИРУЮЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ**  
Белорусского государственного университета  
на 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», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности

03.01.05 – физиология и биохимия растений

**1. Соответствие содержания диссертации заявленной специальности**

Диссертация Мазур Татьяны Васильевны посвящена исследованию физиологических и биохимических характеристик многоколосника морщинистого (*Agastache rugosa* (Fisch. et C.A. Mey.) Kuntze) в культуре клеток *in vitro* (каллусных и суспензионных культур), а также созданных на его основе наиболее перспективных линий сомаклонов и их каллусов, как продуцентов биологически активных веществ фенольной природы, установлению способов стимуляции синтеза фенольных соединений клеточными культурами посредством варьирования состава питательной среды.

По своей цели, решаемым задачам, объекту и предмету исследования, используемым методам, а также содержанию диссертационная работа Мазур Т.В. соответствует отрасли «биологические науки» и специальности 03.01.05 – физиология и биохимия растений.

**2. Научный вклад соискателя в решение научной задачи с оценкой его значимости**

Мазур Т.В. впервые в Республике Беларусь разработаны схема введения в культуру *in vitro* *Agastache rugosa* и методы культивирования полученных объектов *in vitro*. Так, выявлены оптимальные условия стерилизации семян, позволяющие сохранить на высоком уровне выживаемость семян при 100 %-ной стерильности. Сравнение ряда минеральных основ питательных сред показало, что среда Мурасиге и Скуга является более эффективной для микр克лонального размножения многоколосника морщинистого. Диссидентом исследован морфогенетический потенциал многоколосника

морщинистого в условиях *in vitro* в зависимости от типа экспланта и фитогормонального состава среды и определены условия, позволившие впервые получить сомаклоны *Agastache rugosa*.

Получены новые данные в ходе проведения комплексного анализа фенольных соединений, инициированных автором диссертации линий сомаклонов многоколосника морщинистого. На основании полученных результатов были отобраны 4 сомаклона, характеризующиеся высоким биосинтетическим потенциалом в отношении веществ фенольной природы: Aga20, Aga34, Aga36, полученные из стеблевых эксплантов, и Aga11 – из листового экспланта.

Впервые в Республике Беларусь получены каллусные культуры корневого, листового и стеблевого происхождения *Agastache rugosa* и его сомаклонов. Установлено, что оптимальной средой для индукции каллусообразования на различных эксплантах является среда Мурасиге и Скуга, включающая 1 мг/л 2,4-Д и 0,1 мг/л БАП. В длительнопассируемых (15-й пассаж) каллусах сомаклонов корневого, стеблевого и листового происхождения выявлено, что в них сохраняется характерная черта растений-сомаклонов, касающаяся повышенного содержания фенольных веществ в целом, а также отдельных классов этих соединений (флавоноидов и оксикоричных кислот). Таким образом, в результате проведенных исследований получены каллусные культуры с повышенным уровнем биосинтеза биологически активных веществ.

Также Мазур Т.В. было впервые изучено влияние наночастиц селена на уровень накопления фенольных соединений в каллусах *Agastache rugosa*, что позволило выявить стимулирующий эффект на синтез метаболитов фенольной природы. Диссидентом установлены комбинации и концентрации фитогормонов в питательных средах, стимулирующие накопление фенольных соединений в каллусной культуре *Agastache rugosa*.

Мазур Т.В. впервые в Республике Беларусь получена суспензионная культура из каллусов стеблевого и листового происхождения *Agastache rugosa*. Установлено, что ростовой цикл культуры на среде Мурасиге и Скуга, дополненной гормонами 0,5 мг/л 2,4-Д и 0,1 мг/л БАП, составляет 16–18 суток. Синтез фенольных соединений в клетках суспензионной культуры *Agastache rugosa* происходит на всех этапах роста культуры и достигает максимума на 17 сутки культивирования. Выявлено, что за период культивирования содержание фенольных соединений увеличивалось в 5,3 раза в стеблевой суспензионной культуре и в 6,0 раз в листовой суспензионной культуре.

Научная значимость результатов диссертационного исследования Мазур Т.В. состоит в том, что были впервые получены такие перспективные биотехнологические объекты, как линии сомаклонов для *Agastache rugosa* – ценного лекарственного растения и перспективного источника биологически активных веществ. Был проведен скрининг полученных сомаклонов на предмет биосинтетического потенциала в отношении фенольных соединений, представляющих собой фармакологически важные вещества. Полученные

результаты позволили отобрать наиболее перспективные линии сомаклонов для получения на их основе клеточных культур, являющихся основными объектами клеточной биотехнологии.

Исследование влияния таких факторов, как внесение наночастиц селена в среду культивирования и варьирования фитогормональным составом сред позволило установить условия, способствующие повышению продуктивности исследуемых объектов *in vitro*.

**3. Конкретные научные результаты (с указанием их новизны и практической значимости), за которые соискателю может быть присуждена искомая ученая степень**

Соискателю Мазур Т.В. может быть присуждена ученая степень кандидата биологических наук за:

– разработку методических подходов по введению *Agastache rugosa* в культуру *in vitro*, оптимизацию условий перехода к микроклональному размножению;

– установление морфогенетического потенциала *Agastache rugosa* в условиях *in vitro* в зависимости от типа экспланта и фитогормонального состава среды и выявление условий, позволивших впервые получить сомаклоны *Agastache rugosa*;

– проведение комплексного количественного анализа фенольных соединений, накапливаемых сомаклонами многоколосника морщинистого, позволившего выделить 4 линии сомаклонов, характеризующихся высоким биосинтетическим потенциалом в отношении веществ фенольной природы: Aga20, Aga34, Aga36, полученные из стеблевых эксплантов, и Aga11 – из листового экспланта;

– получение каллусных культур наиболее перспективных линий сомаклонов, определение физиологических характеристик и установление их высокого биосинтетического потенциала в отношении фенольных соединений;

– установление влияния модификации состава питательной среды путем внесения наночастиц селена и варьирования фитогормонального состава среды; выявление стимулирующего действия наночастиц селена в концентрации 50 мг/л и фитогормонов 2,4-Д и бензиладенина в концентрациях 1,0 и 0,1 мг/л соответственно, на накопление фенольных соединений в каллусе стеблевого происхождения многоколосника морщинистого;

– впервые в Республике Беларусь проведенное получение суспензионных культур из каллусов стеблевого и листового происхождения многоколосника морщинистого и установление их физиологических и биохимических характеристик, и научное обоснование перспективности их практического использования.

**4. Рекомендации по практическому применению**

Инициированные из сомаклонов клеточные культуры *in vitro* демонстрируют высокую продуктивность и могут быть использованы как сырьевая база для разработки схем получения биологически активных веществ

фенольной природы с целью удовлетворения нужд фармацевтической и косметической промышленности в ценном лекарственном сырье многоколосника морщинистого. Биологически активные вещества фенольной природы, полученные из многоколосника морщинистого *in vitro* могут быть использованы в изготовлении иммуномоделирующих препаратов, антисептиков, препаратов для лечения и профилактики заболеваний печени. Представленные в диссертационной работе данные служат основой для разработки методических регламентов для культивирования *in vitro* и получения сомаклонов и других экономически важных лекарственных растений.

## 5. Замечания по диссертации

К сожалению, диссертационная работа и автореферат имеют некоторые недостатки и неточности.

– В тексте встречаются некоторые технические и стилистические ошибки: отсутствует выделение курсивом латинских названий – рода и вида растения (с. 14); рисунки, включающие несколько диаграмм, разделены на 2 листа (с. 53–54, 80–81, 89–90, 93–94); опечатки (с. 10, 50); неточности в формулировках утверждений и определений (с. 7, 15, 25, 26, 27, 30, 31, 34, 35, 39, 58); в таблице 3.4 (с. 58) состав 7 и 8 вариантов среды идентичен; на рисунке 3.11 (с. 64) в подрисуночной подписи не приводятся пояснения о том, какие варианты сред были протестированы; в таблице 3.7 (с. 68) не указано, какой объект выступал контролем, при этом в подрисуночной подписи – «различия достоверны по сравнению со значениями контрольного варианта»; с недостаточной точностью указаны значения показателей (с. 56, 59, 61); с излишней точностью указаны значения показателей (с. 79, 85, 86); на рисунке 4.7 не указано, какой образец является контрольным (с. 78).

– Некорректное использование термина: вместо «метаболомный анализ» правильнее было бы использовать «анализ фенольных соединений», таким образом конкретизируя анализируемую в работе группу вторичных метаболитов (с. 76, 79, 98, 99).

– В таблице 3.1 (с. 51) не приводятся статистические характеристики (ошибка средней величины, достоверности различий) определяемых параметров; на рисунке 3.4 А и Б не приводится достоверность различий.

– Очень кратко описаны некоторые методики: п. 2.2.5 Экстракция фенольных веществ из каллусных тканей *A. rugosa* (с. 41); п. 2.2.11 Количественное определение суммы дубильных веществ (с. 44).

– В некоторых методиках нужно было бы уточнить информацию: п. 2.2.14 Проведение ВЭЖХ – не указан градиент (с. 46); п. 2.1.3. Получение сомаклонов *A. rugosa* – не приводится информация о подходе к адаптации сомаклонов при их переводе в условия *in vivo*.

– В тексте автореферата (с. 6) имеется упоминание об определении степени агрегированности культуры, однако, судя по содержанию диссертации, данный анализ не проводился.

– На с. 70 обсуждаются результаты по определению биохимических

характеристик избранных сомаклонов, однако не поясняется, почему только 7 сомаклонов из полученных были отобраны для биохимических тестов.

– На с. 72 сказано: «При использовании стандарта акацетина методом ТСХ и ВЭЖХ в анализируемых образцах определен флавон акацетин в свободной форме и в гликозилированной форме», однако стандарты гликозидов акацетина не использовались в исследовании, использовался только стандарт агликона акацетина, в этой связи можно сделать лишь предположение о вероятном присутствии гликозида акацетина.

Также можно было бы дать следующие рекомендации.

– Уместнее было бы выражать массу каллусов, не в мг, а в г, поскольку в мг получаются слишком большие значения (с. 66).

– Можно было бы порекомендовать для улучшения восприятия данных проводить более детальный анализ и расшифровку хроматограмм ТСХ и ВЭЖХ с указанием характеристик в табличной форме (для ТСХ – значений Rf пятен, для пиков на хроматограммах ВЭЖХ – время удерживания в колонке) (с. 72, 73, 74, и в Приложении Д – с. 132, 133, 134).

– Рисунок 4.5 (с. 76) – правильнее было бы разделить шкалы для содержания фенольных соединений (ФС) и содержания оксикоричных кислот (ОКК) введением дополнительной шкалы, так как данные показатели имеют разные единицы измерения.

– На с. 76–81 говорится об анализе каллусов сомаклонов. Можно было бы пояснить, с использованием какой методики получали данные объекты, поскольку ранее в работе информации об этих объектах не было.

– С. 86 – используются по тексту разные обозначения определяемой здесь активности – общая антиоксидантная активность/антиоксидантная активность/антирадикальная активность. Данная методика позволяет определить именно антирадикальную активность, поэтому правильнее было бы использовать обозначение «антирадикальная активность».

– С. 66–67 – хорошо было бы анализировать ростовые характеристики каллусных культур также в значениях общепринятых показателей, учитывающих и начальную массу каллусов, например, удельной скорости роста и времени удвоения биомассы.

Указанные замечания не влияют на сделанные автором выводы и положения, выносимые на защиту, и не уменьшают общей высокой оценки работы.

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

Анализ диссертационной работы свидетельствует о высокой научной квалификации диссертанта. Тема диссертационного исследования Мазур Татьяны Васильевны представляется весьма актуальной ввиду высокого потенциала практического применения растительных объектов *in vitro* и выбора перспективного ценного лекарственного растения для получения на его основе широкого перечня объектов *in vitro*. Диссертантом осуществлен анализ современной и классической литературы по предметным областям

выполненной диссертации, использованы современные и общепринятые экспериментальные методы, самостоятельно получены и изучены на предмет их физиологических и биохимических характеристик значительное количество инициированных объектов *in vitro*. На основании вышесказанного считаем, что научная квалификация Мазур Татьяны Васильевны соответствует степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.05 – физиология и биохимия растений.

Заключение составлено на основании обсуждения диссертационной работы, устного доклада соискателя и отзыва эксперта и одобрено на заседании научного семинара биологического факультета Белорусского государственного университета от 13.09.2023 (протокол № 2).

В работе семинара принимали участие 10 специалистов, имеющие ученые степени: докторов биологических наук – 1 (В.В.Гричик), кандидатов биологических наук – 9 (О.Г.Яковец, А.И.Соколик, Т.И.Дитченко, В.Н.Тихомиров, Г.Г.Филиппова, С.Н.Филиппова, Е.Н.Крытынская, О.Л.Нестерова, А.О.Логвина), из них 6 по специальности 03.01.05 – физиология и биохимия растений.

Результаты открытого голосования: «за» – 10, «против» – нет, «воздержались» – нет.

Выражаем согласие на размещение отзыва оппонирующей организации на диссертационную работу Мазур Татьяны Васильевны «Физиологобиохимическая характеристика многоколосника морщинистого (*Agastache rugosa* (Fisch. et C.A. Mey) Kuntze) в культуре *in vitro*, его сомаклональная вариабельность с целью биотехнологического использования» на официальном сайте ГНУ «Институт экспериментальной ботаники имени В.Ф. Купревича Национальной академии наук Беларусь» в глобальной компьютерной сети Интернет.

Председатель научного семинара:  
заведующий кафедрой общей экологии  
и методики преподавания БГУ,  
доктор биологических наук, профессор

Б.В.Гричик

Эксперт:  
доцент кафедры клеточной биологии  
и биоинженерии растений БГУ,  
кандидат биологических наук

А.О.Логвина

Секретарь научного семинара:  
доцент кафедры общей экологии  
и методики преподавания биологии БГУ,  
кандидат биологических наук, доцент

О.Л.Нестерова

ст.докт. В.В.Гричик, 6 Т.О.Соколик  
докт. О.Л.Нестерова  
зас. Т.И.Дитченко

