

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 003.047.01

НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ
НАУКИ СИБИРСКОГО ИНСТИТУТА ФИЗИОЛОГИИ И БИОХИМИИ РАСТЕНИЙ
СИБИРСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК ПО ДИССЕРТАЦИИ НА
СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК

аттестационное дело № _____
решение диссертационного совета от 16.06.22 протокол № 9

о присуждении **Семёновой Наталье Викторовне** (Российская Федерация)
ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Особенности липидного состава каллусной ткани эмбрионных клеточных линий лиственницы сибирской *Larix sibirica* Ledeb.» по специальности 1.5.21 – «физиология и биохимия растений» принята к защите 8 апреля 2022 года, протокол №7, диссертационным советом Д 003.047.01 на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Сибирского института физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук (664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, д. 132, а/я 317), приказ о создании №105/нк от 11 апреля 2012 г.

Соискатель Семёнова Наталья Викторовна, 1989 года рождения, в 2010 г. была принята на должность инженера 2й категории, в 2011 г. была переведена на должность ведущего инженера, в 2014 г. была переведена на должность ведущего технолога, с 2022 года и по настоящее время работает в должности младшего научного сотрудника в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Сибирского института физиологии и биохимии растений Сибирского отделения РАН.

Диссертация выполнена в лаборатории физико-химических методов исследований Федерального государственного бюджетного учреждения науки Сибирского института физиологии и биохимии растений Сибирского отделения РАН.

В 2013 г. соискатель окончила с отличием Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Иркутский государственный университет» с присвоением степени магистра по направлению «Химия» (магистерская программа «Аналитическая химия»).

Научный руководитель – Дударева Любовь Виссарионовна, кандидат биологических наук (1.5.21 – физиология и биохимия растений), Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирского института физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук, ведущий научный сотрудник лаборатории физико-химических методов исследований.

Ведущая организация - Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Самарский федеральный исследовательский центр Российской академии наук (СамНЦ РАН), Институт экологии Волжского бассейна Российской академии наук (ИЭВБ РАН) – филиал Федерального

государственного бюджетного учреждения науки Самарского федерального исследовательского центра Российской академии наук (СамНИЦ РАН), в своем **положительном заключении**, подписанном Нестеровым Виктором Николаевичем, кандидатом биологических наук (03.00.16 – экология) и Розенцвет Ольгой Анатольевной (03.00.12 – физиология и биохимия растений) доктором биологических наук и утвержденном директором Федерального государственного бюджетного учреждения науки Самарского федерального исследовательского центра РАН д.с.-х.н., академиком РАН Шевченко Сергеем Николаевичем отмечают, что диссертационная работа «Особенности липидного состава каллусной ткани эмбрионных клеточных линий лиственницы сибирской *Larix sibirica* Ledeb.» по актуальности темы, поставленным целям и задачам, объему проведенных исследований, новизне полученных результатов, их научной и практической значимости отвечает всем требованиям пункта 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденным постановлением Правительства РФ №842 от 24.09.2013 г., а ее автор Семёнова Наталья Викторовна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.21 – физиология и биохимия растений. Отзыв рассмотрен и утвержден на заседании лаборатории Экологической биохимии Института экологии Волжского бассейна Российской академии наук – филиала Федерального государственного бюджетного учреждения науки Самарского федерального исследовательского центра Российской академии наук, протокол заседания №1 от 4 мая 2022 года.

Замечания в отзыве ведущей организации.

Из недостатков работы можно выделить пробелы в оформлении диссертации, например, в написании неудачных предложений, различные опечатки.

1. С. 68. SDR формула 2. SDR обычно рассчитывается по формуле $\frac{C_{18:1}}{C_{18:0} + C_{18:1}}$. В приведенной формуле в знаменателе добавлен $C_{18:2}$. – Это модификация формулы? 2. С. 78. Табл. 1. Кл 4, Кл 2, Кл 31 – сумма липидов (в %) не составляет 100,0 %. Σ Э кл – сумма НЛ, ГЛ, ФЛ не совпадает с указанной. 3. С. 79. Содержание ФЛ для Клб в тексте 9,3 мг/г сухого веса, в таблице 9,5. 4. С. 81. «за счет таких соединений как: ТГ, ДГ, свободных стеринов, жирных кислот, ФИ, ФЭ, ФХ.» – преждевременный вывод! 5. С. 82. Табл. 2. ИДС Кл 4 при расчете по таблице составляет 1,1, а не 0,8. 6. В табл. 6. Кл4(э) указана сумма НЛ = 17,9, а при расчете по таблице получается – 17,7.

Официальные оппоненты

1. Ветчинникова Лидия Васильевна, доктор биологических наук (1.5.21 – физиология и биохимия растений), доцент, Институт леса – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра «Карельский научный центр Российской академии наук», главный научный сотрудник лаборатории лесных биотехнологий.
2. Аксенов-Грибанов Денис Викторович, кандидат биологических наук (03.02.08 – экология), доцент, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный

университет», руководитель лаборатории фармацевтической биотехнологии и руководитель лаборатории экспериментальной нейрофизиологии.

дали положительные отзывы о диссертации.

Замечания в отзыве официального оппонента д.б.н., Л.В. Ветчинниковой.

1. Нарушена нумерация разделов: в главе 3 отсутствует раздел 3.3 (за 3.2.1 следует 3.4). 2. Список сокращений излишне большой. Отсутствуют сокращения PLD δ , AI, MSGm и MSG. 3. На стр. 63 указана концентрация бензиламинопурина, равная 1 мг/л, а на стр. 64 – 0,5 мг/л. Какая из них является правильной? 4. Отсутствуют предположения, объясняющие низкое относительное содержание линолевой кислоты на фоне высокой доли олеиновой кислоты и ЖКОДЦ (!) в липидах эмбриогенных линий. 5. Почему в 1 положении, выносимом на защиту, и в выводе № 3 указана фосфатидная кислота, а далее по тексту и в Заключение подчеркивается, что ее содержание выше в каллусных тканях неэмбриогенных клеточных линий? 6. Почему на общей схеме липидного обмена (стр. 138) в левой колонке не представлен изофукостерин? 7. Какие из изученных эмбриогенных клеточных линий оказались наиболее высокопродуктивными, способными формировать жизнеспособные регенеранты: Кл4, Кл 6 (стр. 99) или Кл10 (стр. 116)? И соотносятся ли их характеристики с показателями липидного обмена, которые выявлены диссертантом на ранних стадиях их развития? 8. Имеются неисправленные технические опечатки. 9. В автореферате на стр. 13, 3-й абз. снизу, 2-я стр.: достоверно выше для неэмбриогенных (в тексте: эмбриогенных) линий. 10. В тексте встречаются повторы. 11. По оформлению внутритекстовых библиографических ссылок: а) почему в публикациях двух авторов их фамилии пишутся с «and» в случае англоязычных и через «и» – русскоязычных, а не через запятую; б) при упоминании в тексте иностранных авторов их фамилии даются не только без перевода, но и с дублированием в скобках. Или это какие-то новые правила?

Замечания в отзыве официального оппонента к.б.н., Д.В. Аксенова-Грибанова.

1. Избыточный список сокращений. Многие сокращения не использованы в тексте. 2. Диссертант не дает четкого определения «эмбриогенных и неэмбриогенных клеточных линий». 3. Огромной технической недоработкой диссертанта является стиль изложения, пунктуационные, стилистические и грамматические ошибки. 4. Научная новизна исследования, несомненно, присутствует, но не подчеркнута должным образом. 5. Зачастую в тексте диссертации рисунки и схемы встречаются раньше текстового описания. 6. В разделе лит. обзора приведено огромное количество ссылок. Однако единая линия повествования отсутствует. 7. Диссертант столь массово описывает работы с покрытосемянными растениями, тогда как работы с голосеменными практически не обсуждаются, ввиду, как постулирует автор, их немногочисленности. Необходимо было анализировать литературу и

получаемые материалы с позиции хвойных. 8. Разделы «лит. обзор» и «рез-ты и обсуждение» требуют сокращения на 30-50%. 9. В выводах из литературного обзора (стр. 60) приведены ссылки на опубликованные научные труды. Классически под выводами подразумеваются собственные умозаключения. 10. Главное замечание к главе 2 «Материалы и методы» – это отсутствие описания клонов. 11. В метод. разделе множественно приведено, что «Образцы высушивали до постоянного веса». Однако, нормативной ссылки на данный метод не приведено. 12. Огромного внимания требуют формулы расчета показателей SDR, ODR (стр. 68). В формулах не приведена расшифровка. Чем вызвана модификация формул и кем она была сделана? В главе рез-тов (стр. 85) происходит смешивание понятий «активность ферментов» и «интегральные показатели». 13. В работе не приведено ни одной полученной хроматограммы. Отсутствуют типовые сканы пластин ТСХ. 14. К сожалению, метод денситометрии не предполагает количественного определения. 15. В тексте нет ни одного каталожного номера стандартных реактивов. 16. «Рез-ты и обсуждение» - начинаются с гипотез и обсуждения, что является нетрадиционной схемой представления полученных данных. 17. Материалы исследования обсуждены преимущественно с использованием нехвойных объектов исследования. По каким законам растительного мира идет эмбриогенное развитие хвойных растений. Универсальны ли эти законы, или же у хвойных имеются свои особенности. 18. К сожалению, из материалов диссертации не следует, что проведение экспериментов в динамике, или при различных стрессовых факторах были проведены. 19. «Как, варьируя внесение в состав питательных сред тех или иных жирных кислот, можно ускорить получение хвойных растений-регенерантов?» или «Как интенсифицировать рост культуры, внедрив в практику полученные результаты».

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается их научными достижениями в данной отрасли науки по специальности защищаемой диссертации. В ведущей организации ИЭВБ РАН – филиала СамНЦ РАН работают авторитетные специалисты, которые разрабатывают и оптимизируют методы исследования липидов. Изучают механизмы адаптации в регуляции устойчивости ресурсных видов растений в экосистемах в связи с прогнозируемым изменением климата, в частности, липидный состав.

Официальный оппонент д.б.н. Л.В. Ветчинникова является авторитетным специалистом в области изучения закономерностей наследования и изменчивости берез Севера, физиологии древесных растений, в частности, жирнокислотному составу липидов и их накоплению в различных органах берез Севера, специалист клонального микроразмножения редких видов и форм березы. Д.В. Аксенов-Грибанов является авторитетным исследователем в области химии природных соединений, стресс-адаптации, хроматографии, масс-спектрометрии.

На автореферат поступили отзывы (все отзывы положительные):

1. д.б.н. М.А. Даренская, ФГБНУ «НЦ ПЗСРЧ», г. Иркутск

2. к.б.н. В.И. Маляровская, ФГБУН «Федеральный исследовательский центр «Субтропический научный центр Российской академии наук», г. Сочи
3. д.б.н., проф. Н.Ф. Кушнерова, ФГБУН Тихоокеанского океанологического института им. В.И. Ильичева ДВО РАН, г. Владивосток
4. д.фарм.наук Д.Н. Оленников, ФГБУН «Институт общей и экспериментальной биологии» СО РАН, г. Улан-Удэ
5. д.б.н. В.М. Терёшина, ФИЦ Биотехнологии РАН, Института микробиологии им. С.Н. Виноградского РАН, г. Москва (1. В работе изучали состав липидов, поэтому называть это обменом (рис. 7 и по тексту) некорректно. 2. Планируется ли проверить индукционное действие олеиновой кислоты путем добавления ее в среду культивирования? Пытались ли проверить предположение о том, что олеиновая кислота может быть маркером? 3. Очень интересны данные о преобладании фосфатидных кислот (до 77% от суммы фосфолипидов) в неэмбриогенных линиях. Накопление фосфатидных кислот может говорить об ингибировании синтеза липидов в НЭ клеточных линиях. 4. Рассматривая отдельно классы мембранных липидов (ФЛ, ГЛ, стерины) трудно представить компонентный состав мембран, хотелось бы иметь представления о соотношении мембранных липидов.
6. к.б.н., доц. В.В. Нохсоров, Институт биологических проблем криолитозоны СО РАН, г. Якутск
7. д.б.н. К.А. Петров, Институт биологических проблем криолитозоны СО РАН, г. Якутск
8. к.б.н. О.Ю. Глызина, Лимнологический институт СО РАН, г. Иркутск
9. к.б.н. С.В. Сеник, БИН РАН им. А.Л. Комарова, г. Санкт-Петербург
10. д.х.н. Е.Л. Водовозова, Институт биоорганической химии им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, г. Москва
11. к.б.н., доц. А.В. Третьякова, ФГБОУ ВО «ИГУ», г. Иркутск
12. д.б.н. И.В. Жигачева, Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, г. Москва

Соискатель имеет 12 научных работ, из них 4 статьи в рецензируемых журналах из перечня ВАК РФ (входящих в базу Web of Science и Scopus)

Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:

1. Макаренко С.П. Жирнокислотный состав суммарных липидов эмбриогенных и неэмбриогенных каллусных линий лиственницы / С.П. Макаренко, В.Н. Шмаков, Л.В. Дударева, А.В. Столбикова, **Н.В. Семёнова**, И.Н. Третьякова, Ю.М. Константинов // Физиология растений. – 2016. – Т. 63, №2. – С. 267-274.

2. **Семенова Н.В.** Жирнокислотный состав суммарных липидов хвои и каллусов некоторых хвойных: *Pinus sylvestris* L., *Picea pungens* Engelm., *Pinus koraiensis* Siebold & Zucc. и *Larix sibirica* Ledeb. / **Н.В. Семенова**, С. П. Макаренко, В.Н. Шмаков, Ю. М. Константинов, Л.В. Дударева // Биологические мембраны: Журнал мембранной и клеточной биологии. – 2017. – Т. 34, № 4. – С. 298-306.

3. Семёнова Н.В. Особенности состава нейтральных липидов эмбриогенных и неэмбриогенных клеточных линий *Larix sibirica* Ledeb. / Н.В. Семёнова, В.Н. Шмаков, М.Э. Пак, И.Н. Третьякова, Ю.М. Константинов, Л.В. Дударева // Биологические мембраны. – 2020. – Т. 37, № 3. – С. 215–223. – DOI: 10.31857/S0233475520020127

4. Семёнова Н. В. Фосфолипиды эмбриогенных и неэмбриогенных клеточных линий *Larix sibirica* Ledeb. / Н.В. Семёнова, В.Н. Шмаков, Ю.М. Константинов, Л.В. Дударева // Физиология растений. – 2020. – Т. 67, № 6. – С. 654–660. – DOI: 10.31857/S0015330320060159.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

разработаны положения, вносящие значительный вклад в представление о составе и содержании липидов в эмбриогенных клеточных линиях *L. sibirica* и о влиянии нейтральных липидов, фосфолипидов, гликолипидов, а также свободных стерinov и жирных кислот на процессы роста и развития на ранней стадии культивирования;

предложено использование олеиновой кислоты, а также соотношений ФХ/ФЭ, стерина/эфир стерина, МГДГ/ДГДГ в качестве маркера компетентности клеток к инициации соматического эмбриогенеза на ранней стадии культивирования.

Теоретическая значимость исследований обоснована тем, что:

полученные результаты имеют важное фундаментальное значение для понимания особенностей липидного состава каллусных тканей эмбриогенных клеточных линий хвойных растений и выявления вклада отдельных липидов в успех культивирования, а именно в инициацию и поддержание эмбриогенеза.

Применительно к проблематике диссертации с получением обладающих новизной результатов использован комплекс современных подходов и методов исследования, включающих биохимические, хроматографические и хромато-масс-спектрометрические методы и др.; впервые изучен липидный состав эмбриогенных клеточных линий лиственницы сибирской *L. sibirica*, включая ЖК суммарных липидов и ЖК отдельных фракций липидов нейтральных: (НЛ), глико- (ГЛ) и фосфолипидов (ФЛ); компонентный профиль НЛ, ФЛ и ГЛ, а также состав стерinov и их эфиров. **Впервые** показано, что ЖК-состав клеточных линий *L. sibirica* способных и неспособных к эмбриогенезу существенно различается: для эмбриогенных клеточных линий характерно высокое относительное и абсолютное содержание олеиновой кислоты – до 56,5% от суммы кислот. **Впервые** установлено, что содержание отдельных липидных групп также было значительно выше у эмбриогенных линий (например, в 7 раз для фосфатидилхолинов (ФХ)). Полученные данные позволили выдвинуть предположение, что такие липидные компоненты, как ФЛ, НЛ и стерины принимают активное участие в процессах дифференциации в клеточных линиях *L. sibirica*. На основании показанных в экспериментах существенных различий липидного состава у эмбриогенных и неэмбриогенных клеточных линий лиственницы сибирской предложено

использование полученных сведений для отбора перспективных в отношении эмбриогенеза линий на ранних стадиях культивирования.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:

получены данные о высоком содержании мононенасыщенных ЖК, в первую очередь, олеиновой, а также особенностях состава свободных стеринов и их эфиров у эмбриогенных клеточных линий *L. sibirica*, которые могут быть использованы в качестве диагностического признака способности культуры лиственницы сибирской к эмбриогенезу. При скрининге клеточных линий для клонального размножения хвойных в культуре *in vitro* маркером компетентности клеток к инициации соматического эмбриогенеза на ранних стадиях культивирования хвойных растений могут быть также соотношения: стерины/эфиры стеринов, ФХ/ФЭ, МГДГ/ДГДГ

представлены материалы, которые могут быть использованы при написании учебно-методических пособий для студентов биологических факультетов.

Оценка достоверности результатов исследования выявила следующее: для экспериментальных работ результаты получены с применением оборудования Федерального государственного бюджетного учреждения науки Сибирского института физиологии и биохимии растений СО РАН с использованием стандартных и апробированных методик. Заключение о достоверности результатов основано на статистической обработке экспериментальных данных;

теория основана на имеющихся в литературе данных о биосинтезе липидов, значении липидов в процессах дифференциации и пролиферации, особенностях культивирования хвойных растений *in vitro*, соматическом эмбриогенезе;

использовано сравнение авторских данных и данных, полученных другими исследователями по рассматриваемой тематике;

установлены общие закономерности состава и содержания липидов у эмбриогенных и неэмбриогенных клеточных линий лиственницы сибирской, выявлены особенности этих параметров, характерные для эмбриогенных клеточных линий;

использованы современные методики сбора и обработки информации с использованием ресурсов eLIBRARY, Web of Science, Pubmed, Google Академия и др.

Личный вклад соискателя состоит: в планировании и проведении экспериментов, статистической обработке данных, обобщении и интерпретации полученных данных, в написании статей, опубликованных по результатам работы, а также в апробации результатов исследования в ходе выступления на конференциях различного уровня.

На заседании 16 июня 2022 г. диссертационный совет принял решение присудить Семёновой Наталье Викторовне ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 13 человек, из них 12 докторов наук, участвующих в заседании, из 19 человек входящих в состав совета, дополнительно введены на разовую защиту – 0 человек, проголосовали: за – 13 , против – 0 , недействительных бюллетней – 0.

Председатель
диссертационного совета
Д 003.047.01
д.б.н., профессор

Войников Виктор Кириллович

Ученый секретарь
диссертационного совета
Д 003.047.01
к.б.н

Акимова Галина Петровна

17.06.2022 г