

УТВЕРЖДАЮ
Директор федерального
государственного бюджетного
учреждения науки Самарского
федерального исследовательского
центра Российской академии наук
д.с.-х.н., академик РАН

Шевченко Сергей Николаевич



2022 г.

ОТЗЫВ

ведущей организации на диссертацию

Семёновой Натальи Викторовны

(Ф.И.О. соискателя)

на тему: Особенности липидного состава каллусной ткани эмбрионных клеточных линий лиственницы сибирской *Larix sibirica* Ledeb.

(тема диссертации)

по специальности 1.5.21 – физиология и биохимия растений

(шифр научной специальности)

на соискание ученой степени кандидата биологических наук.

(отрасль науки)

1. Актуальность избранной темы.

Объектом диссертационной работы Семеновы Натальи Викторовны выбрана лиственница Сибирская – *Larix sibirica* Ledeb. Данный вид является высокопродуктивным, малотребовательным к условиям произрастания хвойным древесным растением, представляющим интерес для лесного хозяйства. Лиственница Сибирская особенно распространена на северо-востоке Европейской части и в Сибири. Древесина лиственницы прочная, твердая, долговечная, хорошо противостоит гниению, используется для подводных сооружений, для изготовления пиломатериалов, паркета, мебели и др. Кора используется как дубитель. Вместе с тем *L. sibirica* является уязвимым для вредителей и антропогенных воздействий видом, с затрудненным размножением в естественных условиях. В связи с этим необходимость возобновления лиственничных лесов является одной из первостепенных

задач, как с экологической, так и с практической точки зрения. Перспективными в этом плане разработок являются программы с использованием современных биотехнологий микрклонального размножения и введение лиственницы сибирской в культуру *in vitro*. Однако биотехнология получения соматических зародышей остается трудновыполнимой задачей для большинства видов хвойных. Эти трудности вызваны недостатком сведений об условиях и механизмах индукции соматического эмбриогенеза у голосеменных растений. Известно, что генетически детерминированный эмбриогенный потенциал реализуется через клеточную компетентность. Состояние такой компетентности может быть охарактеризовано особенностями биохимического состава клеток растений, включая изменчивость качественного и количественного состава липидов и входящих в их состав жирных кислот. Именно этому, несомненно, актуальному, аспекту биологии *L. sibirica* и посвящено исследование автора.

2. Новизна исследования и полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации.

Использование методов культуры клеток растений *in vitro* является важным способом, как для сохранения генофонда растений, так и для альтернативного источника получения биологически активных веществ. Первые работы, посвященные получению каллуса *in vitro* из изолированных частей растений и изучению каллусогенеза, появились еще в конце 19 – начале 20 века. Техника культивирования тканей растений позволяет получить длительную, пересадочную каллусную культуру из любых живых клеток растения. Различно дифференцированные клетки переходят *in vitro* к сложному процессу дедифференциации, теряют присущую им структурную организацию и специфические функции и начинают делиться, образуя первичный каллус. В процессе субкультивирования формируется штамм, характеризующийся индивидуальными генетическими и физиологическими особенностями. Одной

из особенностей культуры клеток является их физиологическая асинхронность – в каждый момент времени клетки находятся в разных фазах роста: одни делятся, другие растут, а третьи уже стареют. Различные типы каллуса могут быть иницированы на одном и том же экспланте и иметь различную морфологию и различный регенерационный потенциал, как показано для ели, ячменя, кукурузы, риса и других культур. Отмечается также, что каллусные культуры при длительном культивировании редко сохраняют свои морфологические и генетические особенности. В этой связи важным является показатель активности и направленности морфогенетических процессов *in vitro*. Данные полученные автором, а именно – маркеры компетентности клеток к инициации соматического эмбриогенеза вместе с данными электронно-микроскопических и гистологических исследований позволят оценить ход эмбриогенеза. Тем более что в отношении хвойных видов такие сведения все еще немногочисленны, а особенности липидного обмена в культуре тканей лиственницы сибирской не изучались. В диссертации Семеновой Н.В. впервые показаны различия жирнокислотного состава эмбриогенных и неэмбриогенных клеточных линий *L. sibirica*, количественный и качественный состав гликофосфо- и нейтральных липидов, выявлены особенности стеринового компонента в культуре *in vitro* *L. sibirica*. Результаты исследований последовательно изложены и обсуждены с привлечением современной литературы и наглядно проиллюстрированы.

3. Значимость для науки и производства полученных автором диссертации результатов.

Полученные автором данные по составу липидов каллусной ткани *L. sibirica* представляют интерес в области биотехнологий с целью отбора материала для клонального размножения хвойных в культуре *in vitro*. Выявленные маркеры компетентности клеток к инициации соматического эмбриогенеза (отношения стерина/эфирных стеридов, ФХ/ФЭ, МГДГ/ДГДГ и др.) дополняют

существующие данные фундаментальных исследований по функционированию и роли липидов в живых организмах на различных этапах онтогенеза. Результаты исследования могут использоваться для совершенствования биотехнологии размножения (в культуре *in vitro*) такого важнейшего для промышленности и экологии Сибири биоресурса как *L. sibirica*.

4. Соответствие работы требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям.

Диссертация имеет следующую структуру:

- титульный лист;
- содержание;
- список сокращений;
- текст диссертации: введение, основная часть, заключение;
- список литературы

Диссертация изложена на 174 страницах, содержит 21 рисунок и 10 таблиц. Количество литературных источников исчисляется 292, из них – 229 иностранных. Основные структурные элементы в соответствии с ГОСТ Р 7.0.11–2011 в каждом разделе диссертации присутствуют. По теме диссертации опубликовано 12 работ, из них 4 статьи в рецензируемых журналах из Перечня ВАК РФ (входящие в базы Web of Science и Scopus).

Таким образом, по формальным признакам диссертационная работа соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям.

5. Достоинства и недостатки по содержанию и оформлению работы.

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

С. 8. «...играют важную роль в росте и развитии растений как in

vivo, так и in vitro» – повторяется дважды.

С. 54. Пункт 3.3., предыдущий – 3.1.2, до этого –3.2.2. Нарушен порядок.

С. 64. «Для изучения состава и содержания жирнокислотного состава суммарных

липидов в клеточных линиях...» – слово состав повторяется дважды.

С. 65. «Для изучения состава и содержания жирнокислотного состава разных фракций липидов (НЛ, ФЛ, ГЛ), а также профиля НЛ (в том числе стеринового), ФЛ и ГЛ в клеточных линиях листовенницы сибирской использовали эмбриогенные.....» – слово состав повторяется дважды.

С. 68. SDR формула 2. SDR обычно рассчитывается по формуле $\%C18:1/(\%C18:0+\%C18:1)$. В приведенной формуле в знаменателе добавлен $\%C18:2$. – Это модификация формулы?

С. 68. «таксолеиновой (C18:Δ5,9)» – Пропущена цифра C18:2Δ5,9.

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.

С. 79. «При этом наиболее высоким содержанием ФЛ среди эмбриогенных клеточных линий отличалась линия Кл6 (9,3 мг/г сухого веса),...» – в таблице указана цифра 9,5.

С. 81. «за счет таких соединений как: ТГ, ДГ, свободных стерinov, жирных кислот, ФИ, ФЭ, ФХ.» – преждевременный вывод!

С. 82. Табл. 2. ИДС Кл 4 при расчете по таблице составляет 1,1, а не 0,8.

С. 82 и 87. Все-таки сначала указывается ссылка на рисунок или таблицу, а затем дается сам рисунок (таблица), а не наоборот.

С. 102. Таблица 6. Кл4(э) указана сумма НЛ = 17,9, а при расчете по таблице получается – 17,7.

С. 123 – «Например, при добавлении хлорида холина в питательную среду показало ускоренный рост клеток и приводило к созреванию большего количества соматический зародышей *C. sajan* (Kumar et al., 2015)» – предложение не согласовано (что/кого показало?, окончания неправильные).

С. 129 – «Кроме того, как уже упоминалось ранее, авторы работы (Wu et al., 2014) показано, что с накоплением ФК.....» – предложение не согласовано.

С. 133 – «Еще одним важным компонентом мембран, помимо ФЛ, в являются ГЛ.» – Опечатка.

К достоинствам работы (по содержанию и оформлению) можно отнести оригинальную схему, представленную в разделе «закключение», обобщающую результаты кандидатской диссертации и показывающую особенности липидного обмена в клеточных линиях лиственницы сибирской с разным эмбриогенным потенциалом.

6. Мнение о научной работе соискателя в целом.

Диссертация Семеновой Натальи Викторовны, несмотря на небольшие недостатки, производит хорошее впечатление. Это самостоятельная, законченная научно-исследовательская работа на актуальную тему, посвященную, в широком смысле, биотехнологии выращивания и размножения

растений, а в частности – выявлению участия липидных компонентов в процессах эмбриогенеза клеточных линий лиственницы сибирской.

7. Рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации.

На практике данные об особенностях состава липидов каллусной ткани *L. sibirica* могут применяться при скрининге клеточных линий с целью отбора материала для клонального размножения хвойных в культуре *in vitro*. Маркером компетентности клеток к инициации соматического эмбриогенеза могут служить высокие значения отношений: стерины/эфиры стеринов, ФХ/ФЭ, МГДГ/ДГДГ, а также высокое содержание олеиновой кислоты. Результаты исследования могут использоваться при чтении курсов лекций по физиологии и биохимии растений в высших учебных заведениях и при создании методических пособий по биотехнологии *L. sibirica*.

Заключение

Таким образом, диссертация Семеновой Натальи Викторовны является научно-квалификационной работой, в которой установлены особенности состава и содержания липидных компонентов каллусной ткани эмбриогенных клеточных линий лиственницы сибирской (*Larix sibirica* Ledeb.) на ранней стадии культивирования. Данная диссертационная работа имеет существенное значение для развития биотехнологии выращивания и размножения хвойных растений, в частности, для отбора компетентных клеточных линий лиственницы сибирской. Диссертационное исследование соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.21 – физиология и биохимия растений.

Отзыв составлен кандидатом биологических наук, и.о. зав. лаборатории Экологической биохимии, с.н.с. Нестеровым Виктором Николаевичем

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 № 1 от «4» мая 2022 г.

Нестеров Виктор Николаевич,
Старший научный сотрудник, и.о. заведующего лаборатории Экологической биохимии Института экологии Волжского бассейна Российской академии наук – филиала федерального государственного бюджетного учреждения науки Самарский федеральный исследовательский центр Российской академии наук,

к.б.н. 

Розенцвет Ольга Анатольевна, главный научный сотрудник лаборатории Экологической биохимии Института экологии Волжского бассейна Российской академии наук – филиала федерального государственного бюджетного учреждения науки Самарский федеральный исследовательский центр

Российской академии наук,

д.б.н. 

