

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

на диссертационную работу Мартиросяна Левона Юрьевича
«Биотехнологические аспекты получения новых форм каучуконоса
Taraxacum kok-saghyz L. E. Rodin и разработка условий их аэропонного
культивирования», представленную на соискание учёной степени
кандидата биологических наук по специальности 1.5.6. – Биотехнология

Представленная диссертационная работа сфокусирована на разработке и оптимизации биотехнологических методов выращивания и улучшения продуктивности каучуконоса *Taraxacum kok-saghyz* R. в контролируемых условиях с целью повышения выхода натурального каучука и инулина. Исследование **актуально** ввиду необходимости поиска и развития альтернативных источников натурального каучука в связи с угрозой дефицита и болезнями традиционного каучуконоса гевеи бразильской, а также для повышения эффективности и устойчивости производства каучука в умеренном климате. Выбор соискателем *Taraxacum kok-saghyz* R. в качестве объекта исследования полностью обоснован, так как растения данного вида способны к высокопродуктивному синтезу натурального каучука и инулина в условиях умеренного климата, что подтверждается экспериментальными данными о его биохимическом составе и адаптивных свойствах, представленными в работе. Результаты исследований Л.Ю. Мартиросяна форм каучуконоса *Taraxacum kok-saghyz* L. E. Rodin не только пополняют уже имеющиеся данные про методы оздоровления, аэропонного культивирования и улучшения свойств растений с использованием биотехнологических методов (**научная новизна**), но также могут быть использованы в создании эффективных технологий для промышленного производства натурального каучука и инулина в умеренном климате (**практическая значимость**).

Научные положения и выводы в представленной диссертации являются **обоснованными и достоверными**, так как согласуются с

результатами других исследований в данной области, включая работы, посвящённые биохимическому анализу состава натурального каучука и инулина у других каучуконосов, по методам оздоровления растений *in vitro*, а также публикации по применению аэропонных систем и светового спектра для оптимизации роста, и продуктивности культур.

Структура диссертации логична и включает последовательно расположенные введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты и обсуждение, заключение, выводы, списки используемых сокращений и терминов, список литературы и приложение. Содержание работы изложено в четкой, понятной манере на 191 страницах, иллюстрировано 56 рисунками, снабжено 29 таблицами и находится в полном соответствии с направлением исследования. Список литературы включает 354 литературных источников, в том числе 247 иностранных.

Во **Введении** даны краткое описание темы и структуры работы, аргументация актуальности и значимости, цель, задачи и методология исследования, обоснование достоверности результатов и защищаемые соискателем положения.

Обзор литературы (на 42 стр.) дает представление о значении натурального каучука, его преимуществах перед синтетическим, а также проблемах дефицита традиционных источников, таких как гевея бразильская. Рассматривается биология, физиология и биохимия каучуконосного растения *Taraxacum kok-saghyz*, включая особенности его корневой системы, биосинтез каучука и инулина, а также влияние минерального питания и патогенов. Особое внимание уделено современным методам культивирования, в том числе фитотронным технологиям и агробактериальной трансформации для получения трансгенных форм. Обзор подчеркивает актуальность и перспективы развития кок-сагыза как альтернативного источника натурального каучука с учетом современных биотехнологических подходов.

В главе **Материалы и методы** (на 41 стр.) достаточно подробно

описаны современные биотехнологические и физиолого-биохимические методы исследования растений *Taraxacum kok-saghyz*, включая создание и оздоровление коллекции *in vitro*, выращивание в аэропном фитотроне с контролем минерального питания и светового режима, а также агробактериальную трансформацию для получения культуры «hairy roots». Также представлены методы идентификации патогенов, полиплоидизации с использованием колхицина, количественного анализа каучука и инулина, включая разработку экспресс-метода с помощью ЭПР-спектроскопии и устройство для непрерывного взвешивания растений. Комплексный подход обеспечивает стандартизацию условий и объективность полученных данных. Методическая часть полностью соответствует поставленным в диссертации задачам.

Раздел **Результаты и обсуждение** занимает основную часть диссертации и изложен на 96 стр. Глава содержит детальное описание результатов, полученных автором в процессе реализации цели и задач.

На первом этапе работы был проведен отбор высокопродуктивных образцов *Taraxacum kok-saghyz* с оптимальным содержанием каучука и инулина, а также по эффективному каллусогенезу и морфогенезу *in vitro* с использованием регуляторов роста и глутатиона. Далее были выделены и идентифицированы два патогена – *Pseudomonas putida* и *Raoultella terrigena*, для борьбы с которыми разработаны методы оздоровления растений с применением антибиотиков и бактериофагов. Показано влияние элементов минерального питания и спектрального состава света на рост, фотосинтез и накопление целевых метаболитов в условиях аэропного фитотрона. Получены и охарактеризованы культуры трансформированных корней «hairy roots» и растения с увеличенной корневой биомассой и продуктивностью. Разработана методика полиплоидизации с подтверждением плоидности и выявлением улучшенных биохимических и морфологических характеристик полиплоидных растений. Впервые предложен и апробирован метод

периодической срезки корней в аэропонном фитотроне, значительно повышающий продуктивность по каучуку и инулину.

В разделе **Заключение** автор подчеркивает, что разработанные биотехнологические методы, значительно повышают продуктивность и качество растений *Taraxacum kok-saghyz* как перспективного альтернативного источника натурального каучука и инулина.

Изложенные далее **Выводы** хорошо аргументированы и соответствуют поставленным в работе задачам.

Диссертация выполнена на достойном уровне. Критичные **замечания** по содержанию и методологии отсутствуют. Вместе с тем, необходимо отметить ряд неточностей и вопросов, требующих уточнения:

1. Как автор оценивает экономическую целесообразность и масштабируемость использование бактериофагов для борьбы с патогенами кок-сагыза в условиях промышленного выращивания, учитывая высокую стоимость препаратов?

2. Разработка экспресс-метода количественного анализа каучука с помощью ЭПР-спектроскопии выглядит перспективной. Какие ограничения по чувствительности и воспроизводимости существуют у этого метода, особенно при работе с большим числом образцов?

3. Экспресс метод ЭПР-спектроскопии предлагается автором для корней кок-сагыза, а может ли этот метод быть распространен на растение целиком?

4. Для определения количественного содержания каучука автором предлагается метод с использованием стабильного нитроксильного радикала 2,2,6,6-тетраметилпиперидин-1-оксил (ТЕМПО) («Sigma-Aldrich», США) и спектрометр Bruker EMX (Германия), возможно ли провести экономическую оценку их использования в условиях промышленного выращивания?

5. Метод периодической срезки корней в аэропонном фитотроне существенно повысил продуктивность. Есть ли данные о влиянии этой

процедуры на долговременное здоровье и жизнеспособность растений?

6. В работе выявлены новые патогены – *Pseudomonas putida* и *Raoultella terrigena*. Какие меры биобезопасности и контроля автор может рекомендовать для предотвращения их распространения в промышленных условиях?

7. Автор также проводил исследование фотосинтетической активности листьев кок-сагыза методом РАМ-флуориметрии. При использовании данной методологии существует устоявшаяся терминология и обозначение параметров измерения, которой стоит пользоваться. По какому показателю Вы измеряли скорость фотосинтеза (таблица 3.14)? В таблице 3.15 опечатка в обозначении параметра «ETR».

8. В результатах исследования автор приводит данные по содержанию растительных пигментов. При этом, в главе «Материалы и методы» отсутствует описание метода выделения и определения пигментного состава. Кроме того, автор допускает ошибки в слове «хлорофилл». Также, следует отметить, что название таблицы 3.16 не корректно. В таблице приводятся данные по содержанию не только хлорофиллов, но и каротиноидов.

9. В работе присутствуют орфографические ошибки, например, «летнего покоя» и другие.

Общее заключение. Диссертация представляет собой законченное исследование в области биотехнологии, агрономии и материаловедения с фокусом на производство натурального каучука. Уровень решаемых соискателем задач соответствует критериям оценки диссертаций на соискание ученой степени кандидата биологических наук. Достоверность, значимость и научная новизна полученных Мартиросяном Л.Ю. результатов не вызывает сомнений. Результаты нашли достаточно полное отражение в 5 публикациях в рецензируемых научных журналах и в докладах на 11 конференциях. Разработки автора защищены 4 патентами. Основное содержание диссертации в краткой форме и корректно изложено в автореферате.

В целом, представленная к защите диссертация является завершённой

