

## УТВЕРЖДАЮ:

Проректор по научной работе  
Федерального государственного  
бюджетного образовательного  
учреждения высшего образования  
«Российский государственный  
аграрный университет–МСХА имени  
К.А.Тимирязева», доктор  
биологических наук, профессор,  
профессор РАН



М.И.Селионова

«августа» 2025 г.

## ОТЗЫВ

ведущей организации Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Российский государственный аграрный университет–МСХА имени К.А.Тимирязева» на диссертацию Мартиросяна Левона Юрьевича на тему «Биотехнологические аспекты получения новых форм каучуконоса *Taraxacum kok-saghyz* L.E. Rodin и разработка условий их аэропонного культивирования», представленную к защите в диссертационный совет 24.1.016.01 (Д 006.027.01), на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии» на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.6 - Биотехнология.

**АКТУАЛЬНОСТЬ ТЕМЫ.** Актуальность темы диссертационной работы обусловлена острой необходимостью в разработке устойчивых и экологически безопасных альтернативных источников натурального каучука (НК) в условиях глобального дефицита и высокой зависимости мировой промышленности от монокультуры гевеи бразильской (*Hevea brasiliensis*), выращивание которой ограничено тропическими регионами и сопряжено с рисками, связанными с болезнями, волатильностью цен и геополитической нестабильностью.

В этом контексте каучуконосное растение *Taraxacum kok-saghyz* (*T. kok-saghyz*), традиционно выращивавшееся в СССР, представляет собой перспективный кандидат для создания нового, климатически независимого агропромышленного комплекса. Его способность синтезировать высококачественный НК и ценный сопутствующий продукт – инулин, обладающий широким спектром биологической активности, – делает его объектом повышенного интереса в биотехнологии.

Однако широкое внедрение *T. kok-saghyz* в промышленность сдерживается рядом факторов: низкой и нестабильной продуктивностью по НК в полевых условиях, отсутствием высокоурожайных сортов, а также недостаточно отработанными технологиями интенсивного культивирования. Существующие методы традиционного земледелия не обеспечивают необходимого контроля над факторами среды, что критически важно для изучения и оптимизации процессов биосинтеза каучука.

В связи с этим, разработка современных биотехнологических подходов, включающих селекцию высокопродуктивных форм, методы *in vitro* культивирования, генетическую модификацию и создание контролируемых условий выращивания, является насущной задачей. Особенно перспективным представляется применение аэропной технологии, позволяющей с высокой точностью управлять водно-солевым и газовым режимом корневой системы, что открывает возможности для интенсификации роста и повышения выхода целевых метаболитов.

Таким образом, работа, посвященная комплексному биотехнологическому подходу к получению новых форм *T. kok-saghyz* и разработке условий их аэропного культивирования, является актуальной и своевременной, отвечая стратегическим задачам обеспечения сырьевой независимости и развития отечественной биотехнологической отрасли.

**НАУЧНАЯ НОВИЗНА И ПРАКТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ ИССЛЕДОВАНИЙ И РЕЗУЛЬТАТОВ.** Научная новизна результатов диссертационной работы заключается в комплексном биотехнологическом подходе к созданию и культивированию высокопродуктивных форм каучуконоса *Taraxacum kok-saghyz* L.E. Rodin. Впервые в условиях аэропного фитотрона было показано, что оздоровленные растения *T. kok-saghyz* могут эффективно культивироваться в контролируемых условиях, что позволяет детально изучать влияние отдельных факторов среды на биосинтез натурального каучука (НК) и инулина. Автором получены и охарактеризованы новые полиплоидные формы *T. kok-saghyz*, демонстрирующие повышенное содержание целевых метаболитов. Также впервые для данного вида была адаптирована и применена технология получения трансформированных корней (hairy roots) методом агробактериальной трансформации, что открывает перспективы для изучения регуляции биосинтеза НК в изолированной корневой системе. Кроме того, разработан и апробирован экспресс-метод определения содержания НК в сухих корнях растений методом ЭПР спинового зонда, позволяющий проводить анализ без экстракции растворителями, что является существенным ускорением и упрощением аналитического процесса.

Практическая значимость работы заключается в разработке и запатентовании нескольких инновационных технологий, имеющих высокий потенциал для внедрения. К ним относятся: 1. конструкция исследовательского аэропного фитотрона, обеспечивающего точный контроль факторов роста; 2. способ периодической срезки корней, позволяющий значительно увеличить общую биомассу корней и суммарный выход НК; 3. устройство для непрерывного взвешивания растений в процессе вегетации; 4. экспресс-метод определения содержания НК. Полученные данные и разработанные методики

могут быть использованы в селекционных программах для создания новых высокоурожайных линий *T. kok-saghyz*, а также в промышленной биотехнологии для организации интенсивного производства натурального каучука и инулина в контролируемых условиях, что является важным шагом к обеспечению сырьевой независимости в этой стратегической отрасли.

**ОБЪЕМ И СТРУКТУРА ДИССЕРТАЦИИ.** Диссертация изложена на 252 страницах, содержит 30 таблиц и 56 рисунков. Включает в себя введение, обзор литературы (глава 1), описание методов исследования (глава 2), результаты и их обсуждение (глава 3), заключение, выводы и список литературы (354 источника).

**Во введении** обоснована актуальность темы исследования и показана степень проработки проблемы; сформулированы цель и задачи исследований; научная новизна, теоретическая и практическая значимость полученных результатов, их достоверность, апробация работы и личный вклад соискателя; представлены методология и методы исследований; представлены результаты публикаций материалов диссертации в различных научных изданиях, в том числе входящих в списки Scopus и Web of Science и в перечень ВАК РФ; представлена структура и объем диссертации.

**В обзоре литературы** представлен всесторонний анализ современного состояния проблемы альтернативных источников натурального каучука (НК). Обоснована актуальность использования каучуконоса *Taraxacum kok-saghyz* (*T. kok-saghyz*) как перспективного растения. Рассмотрены его физиологические и биохимические особенности, включая механизмы биосинтеза НК и инулина. Проанализировано влияние факторов среды (минеральное питание, спектр света, CO<sub>2</sub>) на рост и продуктивность. Описаны современные методы селекции (включая полиплоидизацию), биотехнологии (культивирование *in vitro*, генная инженерия) и фитотронные технологии. Глава завершается обзором методов выделения и анализа НК и обоснованием направления собственных исследований.

**В методической части** работы – главе 2 **Материалы и методы** – описывается объект исследования — коллекция образцов *T. kok-saghyz*, полученная из ВИР и мест естественного произрастания. Подробно изложены методы работы: создание аэропонного фитотрона, разработка питательных растворов, методы культивирования *in vitro*, индукции каллусогенеза и морфогенеза, полиплоидизации (обработка колхицином), агробактериальной трансформации для получения «hairy roots», оздоровления растений от эндопатогенов (*P. putida*, *R. terrigena*) с помощью антибиотиков. Также описаны методы анализа содержания НК (экстракция гексаном, ЭПР спинового зонда), инулина, молекулярно-генетические методы (ПЦР) и статистическая обработка данных.

**В третьей главе** представлены результаты комплексного исследования. Подобраны высокопродуктивные линии *T. kok-saghyz* (до 14,1% НК). Оптимизированы условия для каллусогенеза и регенерации *in vitro*. Разработана и апробирована технология аэропонного культивирования, показавшая преимущество по биомассе и накоплению НК/инулина по сравнению с почвой. Получены полиплоидные растения (3n, 4n, 6n), одна из форм (4n)

продемонстрировала повышенное содержание инулина (до 2327 мг/г). Показано положительное влияние повышенной концентрации CO<sub>2</sub> (до 1200 ppm) и интенсивности света (до 800 мкмоль/м<sup>2</sup>/с) на продуктивность. Успешно проведено оздоровление растений от бактериальных патогенов (эффективность до 88%). Получены трансформированные корни (hairy roots) методом агробактериальной трансформации. Разработан экспресс-метод определения НК методом ЭПР. Предложена и протестирована стратегия периодической срезки корней, позволяющая значительно увеличить суммарный выход НК.

В своем **Заключении** диссертант подвел итоги экспериментального исследования – были разработаны биотехнологические основы для получения новых высокопродуктивных форм *T. kok-saghyz* и созданы условия для их аэропонного культивирования.

### **СТЕПЕНЬ ОБОСНОВАННОСТИ И ДОСТОВЕРНОСТИ ВЫВОДОВ И РЕЗУЛЬТАТОВ, А ТАКЖЕ ЛИЧНЫЙ ВКЛАД СОИСКАТЕЛЯ.**

Представленная диссертация представляет собой законченное научное исследование. Анализ большого объема экспериментальных данных и глубокий обзор отечественных и зарубежных публикаций по теме свидетельствуют о достаточной обоснованности положений, выносимых на защиту. Работа выполнена с использованием современных, апробированных методик и стандартных подходов к статистической обработке данных. Сформулированные автором выводы и рекомендации логически вытекают из полученных результатов, являются научно обоснованными и полно изложены. Текст диссертации отличается высоким качеством научного изложения.

**Личный вклад соискателя.** Автор диссертации является ответственным исполнителем исследований, заявленных в тематике, непосредственно принимал участие в разработке программы исследования, сборе и обработке полученных данных, формулировке научных положений и выводов, подготовке научных публикаций, написании и оформлении текста диссертации.

Таким образом достоверность, обоснованность полученных результатов и личный вклад в исследования соискателя, не вызывают сомнений.

**АПРОБАЦИЯ РАБОТЫ.** Основные положения диссертации и материалы проведенных исследований были представлены в виде докладов на научных конференциях: XIII международная конференция «Новые и нетрадиционные растения и перспективы их использования» Сочи-Москва, 2018 г.; XXI Всероссийская конференция молодых ученых «Биотехнология в растениеводстве, животноводстве и сельскохозяйственной микробиологии», Москва, 2021 г.; VIII Международная молодежная научная конференция ФТИ-2021, Екатеринбург, 2021 г.; конференция «Физиология растений и феномика как основа современных фитобиотехнологий», Нижний Новгород, 2022 г.; IX Международная конференция молодых ученых: вирусологов, биотехнологов, биофизиков, молекулярных биологов и биоинформатиков, Новосибирск, 2022 г.; конференция «Неделя студенческой науки», Москва, 2022 г.; Международная научная конференция молодых ученых и специалистов, посвященная 135-летию со дня рождения А.Н. Костякова, Москва, 2022 г.; XXII Ежегодная молодежная конференция с международным участием ИБХФ РАН-ВУЗы «Биохимическая физика», Москва, 2022 г.; XIII Международная конференция ученых-биологов

Симбиоз-Россия, Пермь, 2022 г.; Всероссийская студенческая научно-практическая конференция «Эколого-физиологические аспекты формирования агро- и биоценозов», посвященная памяти профессора М.Н. Кондратьева, Москва, 2022 г.; XXII Международная конференция молодых ученых «Биотехнология в растениеводстве, животноводстве и сельскохозяйственной микробиологии», Москва, 2022 г.

**ПОЛНОТА ПУБЛИКАЦИИ ОСНОВНЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ ДИССЕРТАЦИИ В НАУЧНОЙ ПЕЧАТИ.** Обзор литературных данных, полученные автором основные экспериментальные результаты, выводы и рекомендации диссертационного исследования опубликованы в 5 научных работах в журналах, входящих в перечень рецензируемых научных изданий ВАК РФ, из них 2 статьи входит в международную базу цитирования научных работ Scopus, 1 в базу Web of Science. Новые разработки автора защищены 4 патентами.

**РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ИСПОЛЬЗОВАНИЮ РЕЗУЛЬТАТОВ И ВЫВОДОВ ДИССЕРТАЦИОННОЙ РАБОТЫ.** Полученные автором результаты и сделанные на их основании выводы имеют широкий спектр применения. Разработанная технология аэропного культивирования *Taraxacum kok-saghyz* может быть адаптирована и использована для выращивания других многолетних корнеклубненосных растений, являющихся продуцентами вторичных метаболитов. Методы оздоровления растений *in vitro* от бактериальных патогенов и микрклонального размножения генетически однородного посадочного материала могут быть применены не только к каучуконосам, но и к другим ценным сельскохозяйственным и лекарственным растениям для создания чистых элитных линий. Данная технология культивирования в контролируемых условиях фитотронов позволяет выращивать высокопродуктивные формы *T. kok-saghyz* в регионах, непригодных для традиционного земледелия, включая северные территории России. Разработанный экспресс-метод количественного определения содержания натурального каучука методом ЭПР-спектроскопии спинового зонда может быть внедрен в селекционные и биотехнологические лаборатории для ускоренной оценки продуктивности новых форм. Полученные результаты, включая данные по влиянию спектрального состава света и концентрации CO<sub>2</sub> на биосинтез каучука и инулина, могут быть использованы в учебном процессе при подготовке специалистов по биотехнологии, физиологии растений и сельскохозяйственной биологии при проведении лекционных и лабораторно-практических работ.

Рассматривая диссертационную работу в целом, можно констатировать, что тема её соответствует заявленной научной специальности. Полученные в результате исследований экспериментальные данные всесторонне анализированы, аргументировано, последовательно и профессионально изложены, легко читаются и соответствуют поставленным целям и задачам. Все экспериментальные данные математически обработаны с использованием соответствующих методов статистического анализа. Содержание диссертации достаточно полно отражено в автореферате и в опубликованных научных работах. Оценивая в целом положительно диссертационную работу Мартиросяна Левона Юрьевича, считаем необходимым отметить следующие замечания:

1. В разделе 2.5 описаны штаммы *Agrobacterium rhizogenes* SWISS 15834. Однако не указаны плазмиды, которые содержались в этих штаммах. Без указания конкретной плазмиды невозможно судить о генетическом составе полученных корней.
2. Каким образом контролировалась концентрация колхицина в растворе. Колхицин известен своей нестабильностью, особенно под действием света и при хранении. Отсутствие информации о сроках хранения, условиях хранения (свет/темнота, температура) и способе подготовки раствора в дальнейшем не позволит воспроизвести эксперимент.
3. В разделе 2.2.1, не указаны параметры распыления (частота, продолжительность, объем тумана), которые являются критически важными для аэропной системы. Без этих данных метод не может быть воспроизведен.
4. В главе 3.6 утверждается, что получены трансформированные корни. Приводится ПЦР-анализ на наличие гена *rolC* (Рис. 3.25) и отсутствие генов вирулентности *vir* (Рис. 3.26, 3.27). Однако, для подтверждения факта агробактериальной трансформации необходимо наличие двух ключевых доказательств: наличие T-DNA (в данном случае гена *rolC*) в геноме растения и интеграция T-DNA в геном растения. В работе представлено только первое (наличие *rolC*), но полностью отсутствует доказательство интеграции (например, Southern-blot анализ, или ПЦР с праймерами, один из которых специфичен к T-DNA, а другой — к геному растения). Без этого невозможно утверждать, что корни являются трансформированными, а не просто колонизированными *Agrobacterium rhizogenes*.
5. Не изучено влияние бактериофагов на растения *T. kok-saghyz*, образование устойчивых форм патогенов и меры борьбы с ними.

### **ЗАКЛЮЧЕНИЕ ПО ДИССЕРТАЦИОННОЙ РАБОТЕ.**

Содержание диссертации соответствует паспорту специальности 1.5.6 – Биотехнология. Автореферат и научные публикации соответствуют содержанию диссертации. Высказанные замечания и пожелания не имеют принципиального значения и не снижают общей положительной оценки диссертационной работы. Диссертация Мартиросяна Левона Юрьевича на тему «Биотехнологические аспекты получения новых форм каучуконоса *Taraxacum kok-saghyz* L.E. Rodin и разработка условий их аэропного культивирования», представляет собой законченную научно-квалификационную исследовательскую работу, которая по своей актуальности, методическому решению поставленных задач, большому объёму выполненной работы, научной новизне и практической значимости соответствует требованиям пп. 9-11, 13, 14 «Положения о присуждении учёных степеней» (постановление Правительства РФ от 24 сентября 2013 года № 842), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор Л.Ю. Мартиросян заслуживает присуждения учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.6 – Биотехнология.

Отзыв на диссертационную работу Мартиросяна Левона Юрьевича на тему «Биотехнологические аспекты получения новых форм каучуконоса *Taraxacum kok-saghyz* L.E. Rodin и разработка условий их аэропного культивирования»,

рассмотрен и одобрен на заседании кафедры биотехнологии Института агrobiотехнологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Российский государственный аграрный университет–МСХА имени К.А.Тимирязева», протокол № 1 от 26 августа 2025 г.

Доцент кафедры биотехнологии  
института агrobiотехнологии  
Федерального государственного бюджетного  
образовательного учреждения высшего образования  
«Российский государственный аграрный университет–  
МСХА имени К.А.Тимирязева»  
(ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА им.К.А.Тимирязева),  
кандидат биологических наук,  
доцент, специальность  
03.01.06- Биотехнология  
(в том числе бионанотехнологии)

 Киракосян Рима Нориковна

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А.Тимирязева» ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А.Тимирязева, 127434, Москва, Тимирязевская ул., д.49  
Контактный телефон +7(499) 976-40-72, Email: [r.kirakosyan@rgau-msha.ru](mailto:r.kirakosyan@rgau-msha.ru), [mia41291@mail.ru](mailto:mia41291@mail.ru)



ЗАВЕРЯЮ  
СЛУЖБЫ КАДРОВОЙ  
ПЕРСОНАЛА  
В.ЛОГУТОВ  
2025 г.