

До разової спеціалізованої вченої ради
Інституту клітинної біології та генетичної інженерії
вул. Академіка Заболотного, 148, м. Київ, 03143

ВІДГУК
офіційного опонента

**доктора сільськогосподарських наук (рослинництво),
професора, в.о.завідувача відділу культурної флори, заступника
директора з наукової роботи Національного ботанічного саду імені
М.М.Гришка НАН України Джамала РАХМЕТОВА**

на дисертаційну роботу
**Тараса ГАЛИЧА «Зв'язок ураження геному за різних типів
опромінення із стимуляцією утворення фармацевтичних сполук
Matricaria chamomilla L.» подану на здобуття наукового ступеня доктора
філософії в галузі знань 09 «Біологія» за спеціальністю 091 «Біологія»**

Актуальність обраної теми. На сьогодні спостерігається стрімке зростання використання рослин в офіцинальній медицині, із розширенням підходів до отримання більшої кількості і розмаїття лікарських речовин з цієї природної фітосировини. Поряд з пошуком нових видів, які мають лікувальні властивості, їх інтродукції в нетипові для них кліматичні умови, виведенням більш продуктивних сортів, використовуються все нові молекулярно-генетичні підходи до переорієнтації метаболізму організмів у бік збільшення необхідних для практики речовин. Генетична і метаболічна інженерія при цьому фокусуються на генетичній трансформації організмів; в той час як біологія рослин надає багату інформацію про можливість дії різноманітних стресових факторів в стимуляції захисних механізмів, тобто використання епігенетичних механізмів для переорієнтації метаболізму.

Одним з ефективних підходів є використання, як абіотичного стресу, різних форм опромінення. Відомо, що при їх дії спостерігається зсув метаболічних процесів у бік підвищення утворення речовин вторинного метаболізму, до складу яких входить більшість радіопротекторів, що мають антиоксидантну, антиканцерогенну, імуномодельуючу і протизапальну дію та

застосовуються в фармакології. Перевагами технологічного застосування радіаційних методів для стимуляції продуктивності є те, що за передпосівного опромінення насіння за короткий період вегетації рослин можна досягти суттєвого збільшення кількісного та якісного складу фармацевтичної сировини. На тепер нагромаджено значний експериментальний матеріал відносно підвищення за рахунок різних видів і доз опромінення виходу фармацевтичної продукції у різних лікарських рослин за умов передпосівного опромінення насіння.

Разом з тим лишаються відкритими багато питань, вирішення яких необхідно для переходу від суто емпіричних досліджень до надійних практичних застосувань радіаційних методів. Вирішенню деяких ключових питань цього напрямку досліджень і можливостей їх практичного застосування присвячена робота, що рецензується.

Одним з них є питання про механізми і фактори, що формують віддалені у часі метаболічні перебудови у фармацевтичній сировині за умов передпосівного опромінення насіння. Це питання є надважливим не лише з практичної, але і з суто теоретичної точки зору. На сьогодні біофізичними і біохімічними методами добре досліджено прямі, безпосередні та «швидкі» реакції клітинних структур, зокрема ДНК, на опромінення і практично невідомі механізми, що викликають довготривалі метаболічні перебудови у структурах, які безпосередньо не опромінювались.

З іншого боку, для практичного застосування опромінення важливим є пояснення надійно встановленого факту, що лікарські рослини, які належать до одного виду, але різних сортів неоднаково реагують на різні рівні опромінення. Це відмінності виявляються як на зміні продуктивності фармацевтичної сировини, так і питомому вмісті цільового продукту. Інакше кажучи, ступінь прояву ефекту залежить від сортоспецифічності рослин. Це відбивається на характері проходження первинного і вторинного метаболізму у рослин, природа якого лишається нез'ясованою, і привертає увагу до молекулярно-генетичного підґрунтя стимуляції у різних генотипів двох

технологічно важливих характеристик – врожайності фармацевтичної сировини та накопичення сполук антиоксидантної дії.

Зазначені недосліджені питання, які мають як теоретичне, так і практичне значення і визначили актуальність дисертаційної роботи, що виноситься на захист.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Робота виконана в Інституті клітинної біології та генетичної інженерії НАН України під час навчання на аспірантурі у 2019-2023 рр., у відділі біофізики та радіобіології у рамках бюджетної наукової роботи: III-7-19 «Підвищення продуктивності лікарських рослин шляхом передпосівного ультрафіолетового опромінення насіння»; III-6-22 «Стимуляція утворення антиоксидантних, онкопротекторних та протизапальних сполук передпосівним опроміненням насіння салатних овочів та лікарських рослин»; III-2-23 «Генетичні і епігенетичні механізми та фактори захисних і адаптивних реакцій рослин».

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих у дисертації. Запорукою обґрунтованості сформульованих у дисертації положень і висновків є високий методичний рівень здійсненого дослідження, що дозволило публікації результатів в наукових журналах з високим рейтингом. Цілком виправданим є вибір ромашки лікарської *Matricaria chamomilla* L. як об'єкта дослідження, оскільки ця однорічна лікарська рослина відома широким практичним застосуванням у медицині і косметології, великим ареалом розповсюдження, невибагливістю до умов вирощування. Для досягнення мети дослідження цілком логічним є оцінка відкладеного у часі радіаційно-індукованого ураження ДНК (шляхом виявлення ступеня відхилення первинної структури ДНК опромінених від неопроміненого (контрольного) варіанту), а також зв'язок цього із перебудовами первинного та вторинного метаболізму. Аналіз вмісту антиоксидантних сполук, таких як феноли та флавоноїди, є ефективним показником захисної відповіді організму на ураження ДНК, має чітко виражену практичну спрямованість. У роботі використано широкий спектр сучасних біохімічних і молекулярно-генетичних методів, а також

методи як лінійної статистики, так і кластерного аналізу, що засвідчує достатній рівень оволодіння здобувачем методології наукових досліджень.

Структура роботи. Дисертаційна робота має традиційну структуру і викладена на 158 сторінках та складається із вступу, 6 розділів, висновків, списку використаних джерел, що включає 189 статей та монографій. Робота містить 20 таблиць, 31 рисуноків, 1 додаток.

У першому розділі «СУЧАСНИЙ СТАН РОЗВИТКУ РАДІАЦІЙНИХ БІОТЕХНОЛОГІЙ: ЗДОБУТКИ І ВИКЛИКИ» розглянуто не тільки сучасний стан саме цієї проблеми (власне, «здобутки»), але й новітні досягнення того напрямку молекулярної біології і генетики, яка відноситься до біофізичних механізмів і факторів стійкості первинної структури ДНК, функціональних механізмів забезпечення її стабільності, дослідження стресових реакцій рослини на рівні геному, тобто механізмів первинного, прямого ураження різними видами опромінення, виникнення можливих довготривалих порушень в геномі (явище геномної нестабільності), конститутивної та індукцибельної компоненти репарації, захисних реакцій.

У другому розділі докладно описано проведення вегетаційних і польових досліджень, підготовку рослинного матеріалу для біохімічного і молекулярно–генетичного аналізу, методів, які використовував здобувач. Варто підкреслити, що оцінка ефектів геномної нестабільності проведено шляхом взаємодії сучасних молекулярно-генетичних методів і методів кластерного аналізу, що надало змогу глибше проаналізувати зв'язок дозових залежностей порушення первинної структури ДНК із стимуляцією захисних реакцій.

У третьому розділі дисертаційної роботи був проведений аналіз зв'язку ефективності різних типів опромінення по двох показниках підвищення продуктивності окремих генотипів з мінісателітним поліморфізмом їхньої ДНК, і показано неоднозначні результати. Виявлено чіткий зв'язок поліморфізму ДНК по RAPD-послідовностях з продуктивністю фармацевтичної сировини. Разом з тим, у розділі не зовсім докладно доведено доцільність використання саме цих ДНК–маркерів, без врахування досить багатих даних про види молекулярних маркерів.

У розділах 4 та 5 розглядалося питання впливу передпосівного рентгенівського і УФ-С опромінення на формування віддалених ефектів, а саме досліджувався зв'язок між станом радіаційно-індукованої нестабільності геному і захисною відповіддю організму, зокрема стимуляцією синтезу та накопичення антиоксидантів. У результаті проведеного дослідження було встановлено, що явище стимуляції напрацювання антиоксидантів, як у випадку іонізуючого, так і УФ-С опромінення, пов'язано із взаємодією між розвитком ураження ДНК і активацією репаративних процесів, розпізнаванням помилкової первинної структури ДНК та відповідної конформації хроматину.

Останній розділ 6 був посвячений впливу передпосівного УФ-С та іонізуючого опромінення на вихід ефірної олії та вміст хамазулену в ній. Одержані результати виявились дещо несподіваними відносно відсутності стимуляції накопичення хамазулена у суцвіттях ромашки при передпосівному УФ-С опроміненні. Разом з тим, результати свідчать про ефективність застосування рентгенівського опромінення для стимуляції напрацювання лікарськими рослинами не тільки добре відомих антиоксидантів, але й важливих протизапальних сполук, антиоксидантні властивості яких ще мало досліджені.

Новизна представлених експериментальних результатів дослідження. Вперше, на основі молекулярно-генетичних, біохімічних методів, з використанням кластерного аналізу, виявлено вплив мінісателітного поліморфізму ДНК ряду генотипів ромашки лікарської на чутливість до певного виду опромінення при стимуляції двох важливих для практики показників – продуктивності фармацевтичної сировини і кількості хімічних сполук, що мають радіопротекторну, антиоксидантну та протизапальну дію.

Важливим досягненням роботи є встановлення ключового механізму трансформації первинного ураження ДНК при разовому передпосівному опроміненні у довготривалі метаболічні перебудови у рослинних структурах, що не були безпосередньо опромінені. Показано, що ознаки геномної нестабільності, що пов'язують первинні ураження з віддаленими

метаболічними наслідками, залежать від мінісателітного поліморфізму досліджених генотипів.

Повнота викладу основних наукових положень, висновків та практичних рекомендацій в опублікованих працях. За матеріалами дисертації опубліковано 5 наукових публікацій, із них 2 статті у виданнях, що входять до міжнародної наукометричної бази даних Scopus (Q1, Q3) із сумарним імпакт-фактором 3,443, 3 – у міжнародних наукових фахових виданнях, 9 публікацій у матеріалах наукових конференцій.

Загальні зауваження і питання.

1. Чим пояснюється такий досить вузький інтервал доз опромінення як УФ-С, так і рентгенівського опромінення восьми генотипів ромашки? Чому обрано саме УФ-С опромінення, а не інші інтервали УФ–опромінення? В якому інтервалі доз обох видів опромінення були проведені попередні дослідження, які дозволили визначити оптимальні дози? У тексті роботи наполегливо повторюється, що обраний інтервал доз відноситься до так званих «малих» доз. Чому, за якими критеріями?

2. Чим пояснюється вибір саме ISSR та RAPD–маркерів для генотипування групи сортів *Matricaria chamomilla* L.»? Ці ж ДНК маркери обрано для проведення дослідження ефектів геномної нестабільності при обох видах опромінення. Чому?

3. У чому пошукач бачить переваги молекулярно–генетичних методів оцінки ефектів геномної нестабільності порівнюючи з методами визначення стабільних і нестабільних хромосомних аберацій?

4. У третьому розділі проведено генотипування різних сортів ромашки лікарської. У шостому розділі, присвяченому оцінкам стимуляції рослинного антибіотика і антиоксиданта хамазулена, автор роботи знов повертається к питанню ролі поліморфізму первинної структури ДНК у межах виду у реакціях на опромінення. Чи доцільно було б не відокремлювати розгляд цих щільно пов'язаних питань і розглянути їх в одному розділі?

Питання до методичної частини:

1. Фаза квітування ромашки відбувається досить тривало. У роботі показано, що питомир вміст фармацевтичних речовин коливається протягом цього періоду. Який саме час з початку квітування обирали для визначення дозової залежності стимуляції виходу антиоксидантів? Як часто проводився збір фармацевтичної сировини (суцвіть), якими показниками керувались при цьому?

Зауваження по оформленню дисертаційної роботи:

У тексті дисертації існують граматичні помилки, зокрема русизми (приклад: «ефірне масло, замість «ефірна олія» тощо).

У таблицях зустрічається шрифт відмінний від уніфікованого шрифту тексту (Times New Roman).

Має місце не послідовне цитування: наприклад, цитована стаття [161] слідує одразу після [159], тоді як [160] – після [161].

У розділі «Посилання... » зустрічаються не правильне оформлення використаних джерел.

У цілому наявні зауваження та побажання носять переважно рекомендаційний характер і можуть бути враховані автором у подальшій науковій роботі. Вони не впливають на зміст основних положень та обґрунтованість і висновки, які здобувач виносить на захист.

Загальний висновок.

Оцінюючи в цілому дослідження проведені Галичем Тарасом Вадимовичем, можна стверджувати, що за актуальністю, науковою та практичною цінністю, змістом дисертаційної роботи, виконаними завданнями досліджень та високим науково-методичним рівнем виконання, сформульованими висновками дисертаційна робота є завершеною науковою працею. У роботі отримані науково обґрунтовані результати, які сумарно допомагають вирішити важливе наукове питання – зв'язок ураження геному за різних типів опромінення насіння із стимуляцією утворення фармацевтичних сполук рослин *Matricaria chamomilla* L.

Науковий рівень дисертаційної роботи і наукових публікацій (виключно з дотриманням принципів академічної доброчесності), дозволяє встановити, що набутий здобувачем рівень теоретичних знань, умінь, навичок та компетентностей відповідає вимогам.

З урахуванням вище зазначеного дисертаційна робота Галича Тараса Вадимовича здобувача третього (освітньо-наукового) рівня вищої освіти за темою «Зв'язок ураження геному за різних типів опромінення із стимуляцією утворення фармацевтичних сполук *Matricaria chamomilla* L.» подану на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 «Біологія» (в галузі знань 09 «Біологія») є самостійною завершеною кваліфікаційною науковою працею, відповідає всім вимогам, затвердженим наказом МОН України від 12.01.2017 №40 «Про затвердження вимог до оформлення дисертації» та «Порядку присудження ступеня доктора філософії» затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 12 січня 2022 р. №44, а її автор, Галич Тарас Вадимович заслуговує присудження йому наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 – Біологія.

Офіційний опонент:

Доктор сільськогосподарських наук
(рослинництво), професор, в.о.завідувача
відділу культурної флори,
заступник директора з наукової роботи
Національного ботанічного саду
імені М.М.Гришка НАН України

Джамал РАХМЕТОВ

