

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу

Балюк Натальи Валерьевны

«Физиолого-биохимические особенности реализации адаптивного потенциала клонально микроразмноженных растений картофеля с использованием иммуностимуляторов»

представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.05 – физиология и биохимия растений

Соответствие диссертации специальности и отрасли науки, по которым она представлена к защите

Диссертационная работа Балюк Н.В. представляет собой законченное исследование, посвященное выяснению особенностей формирования устойчивости растений картофеля к вирусному заражению в оптимальных условиях выращивания или при дефиците почвенной влаги, а также оценке влияния различных композиций иммуностимуляторов на характер защитной реакции растений. По предмету исследования, характеру решаемых задач, применяемым для их решения методам, диссертация Балюк Н.В. соответствует отрасли «биологические науки» и паспорту специальности 03.01.05 – физиология и биохимия растений по формуле специальности и пунктам – 4, 10, 11, 12, 13, 15, 17 Паспорта специальности ВАК Республики Беларусь от 23.11.2016 №300.

Актуальность темы диссертации

Диссертационная работа Балюк Н.В. посвящена актуальной проблеме современной физиологии и биохимии растений – установлению механизмов формирования системной устойчивости к действию биотических и абиотических факторов внешней среды. Стressовые факторы различной природы оказывают существенное влияние на все аспекты жизнедеятельности растений, в том числе способны значительно подавлять рост, развитие и продуктивность сельскохозяйственных культур. В частности, продуктивность семенного картофеля может значительно снижаться при заражении его тканей вирусами, а также при дефиците влаги в почве. Повышение устойчивости растений, таким образом, важно для получения высоких урожаев. Применение иммуностимуляторов биологического происхождения экологически безопасно и может повысить урожайность картофеля, в том числе при получении оздоровленных мини-клубней. Среди наиболее перспективных иммуностимуляторов часто рассматривают непатогенные ризосферные бактерии рода *Bacillus*, а также вещества с гормональной активностью, такие как брашиностероиды, жасмоновая, салициловая кислоты и их производные. В настоящее время

эффективность использования иммуностимуляторов в системе оригинального семеноводства картофеля изучена еще недостаточно. Большой интерес представляет оценка влияния различных групп иммуностимуляторов на адаптивный потенциал растений и подбор наиболее эффективных иммуностимуляторов и их смесей для семеноводства картофеля.

В связи со всем вышесказанным актуальность диссертационной работы Балюк Н.В. не вызывает сомнений.

Степень новизны научных результатов и положений, выносимых на защиту

Результаты, представленные в диссертационной работе и выносимые на защиту, являются новыми.

Автором впервые продемонстрировано, что при комбинированной обработке *Bacillus subtilis* штамм 47 с метилжасмонатом и салициловой кислотой процесс адаптации картофеля к водному дефициту проходит значительно эффективнее, что проявляется в снижении основных параметров стрессового состояния.

Показано, что при выращивании инфицированных растений картофеля как в условиях оптимального почвенного водообеспечения, так и при недостатке влаги применение *Bacillus subtilis* с метилжасмонатом и салициловой кислотой позволяет снизить степень вирусного заражения растительной ткани, стимулировать рост, накопление пролина и вызвать изменения в содержании фенольных соединений и активности антиоксидантных ферментов.

Обнаружено, что в оптимальных условиях выращивания механизмом реализации стресс-защитного эффекта, вызываемого обработкой эпибрассинолидом с сигнальными молекулами, являются физиологобиохимические изменения в про-/ антиоксидантной системе, способствующие снижению вирусной нагрузки, сохранению или увеличению роста и фотосинтетической активности растений.

В работе показано, что применение эпибрассинолида в условиях совокупного стресса способствует активизации защитных реакций и формированию устойчивости растений путем накопления пероксида водорода, неэнзиматиченских антиоксидантов и индукции антиоксидантных ферментов.

Впервые автором обнаружено, что в стрессовых условиях иммуностимуляторы с антивирусной активностью обеспечивают сохранение или повышение продуктивности, накопление защитных белков в полученных мини-клубнях картофеля и улучшение их качества.

В целом, в диссертации Н.В. Балюк получены новые экспериментальные данные, расширяющие современные представления об особенностях формирования у растений картофеля комплексной устойчивости к действию одного из самых опасных вирусов, Y-вируса, и недостатка почвенной влаги, а также роли в регуляции выявленного защитного ответа различных композиций широкого спектра иммуностимуляторов на основе ризосферной бактерии *Bacillus subtilis*, фитогормонов эпибрасинолида, салициловой кислоты и метил-жасмоната, а также их влияние на урожайность семенного картофеля.

Обоснованность и достоверность выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Достоверность полученных результатов, обоснованность научных положений и выводов диссертации обеспечена использованием большого набора современных и адекватных методов исследования, взаимодополняющих друг друга, применением статистических методов обработки достаточно большого экспериментального материала с помощью релевантных компьютерных программ. Сделанные выводы вытекают из содержания диссертации, аргументированы и соответствуют целям и задачам работы. Обоснованность практических рекомендаций, изложенных в диссертации, подтверждена двумя актами внедрения в производственный процесс и одним – в учебный процесс.

Научная, практическая, экономическая и социальная значимость результатов диссертационного исследования, рекомендации по их использованию

Результаты диссертационной работы имеют несомненную научную и практическую значимость.

Научная значимость диссертационной работы Балюк Н.В. заключается в установлении морфометрических, биохимических и физиологических параметров, ассоциированных с функционированием ферментативных и неферментативных компонентов антиоксидантной системы, фотосинтетической активностью и ростовыми процессами, характеризующих формирование комплексной устойчивости микроклонально размноженных растений картофеля к действию биотических и абиотических стресс-факторов и роли в их регуляции иммуностимуляторов бактериальной и фитогормональной природы.

Выявление автором в ходе выполнения диссертационной работы состава смесей иммуностимуляторов, наиболее эффективных для повышения устойчивости семенного картофеля к действию вирусного заражения и дефицита почвенной влаги, а также его продуктивности, имеет несомненную практическую значимость, что подтверждается двумя актами внедрения в

производственный процесс комплекса «Лаборатория-теплица» ОАО «Агро-Мотоль».

Социальная значимость работы состоит в получении новых знаний, которые расширяют существующие представления о механизмах устойчивости растений и могут быть использованы в курсах лекций по физиологии и биохимии растений в ВУЗах, что подтверждается внедрением результатов исследований в образовательный процесс кафедры биотехнологии учреждения образования «Полесский государственный университет».

Опубликованность результатов диссертации в научной печати

Основные результаты диссертации Балюк Н.В. достаточно полно представлены и обсуждены в научной печати. Всего опубликовано 24 научных труда: 6 статей в научных журналах, включенных в перечень изданий Республики Беларусь для опубликования результатов докторских и кандидатских диссертационных исследований и в иностранных научных изданиях, 3 статьи в других научных рецензируемых журналах, 11 публикаций в сборниках материалов конференций, 4 тезиса докладов.

Соответствие оформления диссертации требованиям ВАК

Диссертация и автореферат оформлены в соответствии с требованиями действующей Инструкции ВАК Республики Беларусь. Диссертационная работа состоит из введения, перечня сокращений и условных обозначений, общей характеристики, обзора литературы (глава 1), описания материалов и методов исследования (глава 2), изложения основных результатов исследования (главы 3–6), заключения, библиографического списка, включающего 310 источников литературы (из них на английском 226 источников) и 24 публикации соискателя. Полный объем работы изложен на 150 страницах печатного текста, включая 39 рисунков, 12 таблиц и 3 приложения.

Представленный в диссертации обзор литературы (глава 1) дает достаточно полное представление о современных успехах в области изучения механизмов устойчивости растений к действию стрессовых факторов внешней среды, прежде всего фитопатогенов, в том числе вирусов, а также условий водного дефицита в почве, роли непатогенных бактерий и различных групп соединений, таких как брациностероиды, салициловая, жасмоновая кислота и их производные, в регуляции защитных ответов. Проведенный автором глубокий анализ современных литературных данных позволил четко сформулировать научные задачи, которые были успешно решены в ходе выполнения диссертационной работы.

В главе 2 описаны объекты и методы исследования. Из данной главы видно, что работа выполнена на высоком методическом уровне, что

подтверждается широким набором применяющихся для решения поставленных задач методических приемов, включающих в себя микроклональное размножение растений, иммуноферментный анализ, спектрофотометрию, флуориметрию, двухмерный электрофорез, масс-спектрометрию, высокоэффективную жидкостную хроматографию и др.

Глава 3 посвящена изложению и анализу результатов исследования физиолого-биохимических особенностей растений картофеля при варьируемых условиях почвенной влажности и при их обработке иммуностимуляторами в различных условиях влагообеспечения. Выявлено развитие стрессового ответа растений при снижении влажности почвы до 60% и ниже, а также положительное влияние на ряд изученных параметров различных композиций *Bacillus subtilis* с метилжасмонатом и салициловой кислотой.

В главе 4 описаны результаты изучения влияния смесей бактерий *B. subtilis* с метилжасмонатом и салициловой кислотой на морфо-физиологические показатели растений картофеля в условиях вирусного заражения и водного дефицита. Показано, что в оптимальных условиях почвенного водообеспечения все применяющиеся обработки способствовали снижению вирусного заражения и стимуляции ростовых процессов. В условиях комбинированного стресса (вирусное заражение и недостаток влаги) наиболее выраженный стресс-протекторный эффект оказывала обработка растений смесями бактерий с метилжасмонатом или метилжасмонатом и салициловой кислотой.

В главе 5 представлены результаты исследования влияния на развитие защитных реакций картофеля в ответ на заражение Y-вирусом и водный дефицит различных вариантов смесей эпибрассинолида с салициловой кислотой и метилжасмонатом. Во всех опытных вариантах в оптимальных условиях влагообеспечения показано снижение вирусного заражения по отношению к инфицированному контролю, в то время как в условиях двойного стресса снижение вирусного заражения проявлялось только при обработке эпибрассилидом без салициловой кислоты и метилжасмоната.

Глава 6 посвящена сравнительной характеристике влияния различных видов иммуностимуляторов на продуктивность картофеля и качество получаемой продукции. Автором приводятся оптимальные сочетания иммуностимуляторов для повышения качественных и количественных характеристик мини-клубней картофеля при действии вирусного заражения в условиях оптимального влагообеспечения и при водном дефиците.

Следует отметить, что текст диссертации и автореферата хорошо оформлен, написан четким и ясным научным языком. Изложение экспериментальных данных представлено в логической последовательности,

обсуждаемые положения и выводы наглядно проиллюстрированы в 39 рисунках и 12 таблицах. Автору удалось разработать обобщающую схему, отражающую выявленные особенности формирования защитных реакций картофеля на изучаемые стрессовые факторы при участии эпифитонолида и метил-жасмоната.

Автореферат отражает суть работы, ее основные выводы и положения, выносимые на защиту.

При анализе диссертационной работы у меня возникли некоторые вопросы и замечания.

1. Было бы интересно и информативно дополнить исследование изучением влияния на развитие защитных реакций картофеля смеси эпифитонолида и бактерий рода *Bacillus*.
2. Наблюдались ли визуальные проявления вирусной инфекции на каком-то этапе роста растений, например, через 75 дней. Измеряли ли через 75 дней количество вирусных частиц в тканях растений?
3. Рисунок 4.6, б, стр. 73. В обсуждении результатов автор пишет «Учитывая, что в этом варианте происходило максимальное снижение титра вируса в листьях картофеля, можно предложить, что низкая активность антиоксидантных ферментов обусловила усиление защиты исследуемых растений от вирусного заражения.». Чем может быть обусловлено положительное действие снижения активности антиоксидантных ферментов?
4. При исследовании активности ПФО и содержания фенольных соединений в растениях картофеля при вирусном заражении на фоне обработок смесями *B. subtilis* с сигнальными молекулами (рис. 4.4., стр. 71) показано, что «Во всех исследуемых вариантах при обработке *B. subtilis* с сигнальными молекулами отмечено снижение активности данного фермента и содержания фенольных соединений по отношению к зараженному контролю», в то время как обработка *B. subtilis* в условиях комбинированного стресса приводила к снижению активности ПФО и повышению содержания фенольных соединений (рисунок 4.9., 4.10). – стр. 79. Как можно объяснить то, что в первом случае эти два взаимосвязанных параметра синхронно снижаются, а во втором изменяются разнонаправленно?
5. Стр. 88 «Применение смесей ЭБЛ+СК и ЭБЛ+МeЖ не вызывало достоверно значимых отличий по содержанию вирусных частиц в сравнении с зараженным контролем, что, вероятно, связано с ингибированием ЭБЛ экспрессии генов, отвечающих за салицилат- и жасмонат-зависимые ответы». – но ведь один ЭБЛ снижал титр

вирусов, возможно, можно предположить, что это СК и Меж подавляют действие ЭБЛ, а не наоборот?

В диссертации и автореферате встречаются орфографические и синтаксические ошибки.

В целом, высказанные вопросы и замечания не влияют на качество и ценность данной работы, на сделанные автором выводы и положения, выносимые на защиту, и могут быть сняты в процессе дискуссии.

Соответствие научной квалификации соискателя ученой степени, на которую он претендует

Соискатель ученой степени внесла существенный вклад в установление особенностей формирования комплексной устойчивости микроклонально размноженных растений картофеля к вирусному заражению и водному дефициту при действии широкого спектра иммуностимуляторов бактериальной и фитогормональной природы, что имеет важное фундаментальное и прикладное значение.

Считаю, что диссертация Балюк Н.В. «Физиолого-биохимические особенности реализации адаптивного потенциала клонально микроразмноженных растений картофеля с использованием иммуностимуляторов», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.05 – физиология и биохимия растений, является законченным оригинальным научным трудом и по актуальности темы, объему и значимости полученных результатов отвечает требованиям и отвечает требованиям, установленным главой З Положения ВАК Республики Беларусь о присуждении ученых степеней.

Таким образом, автор работы, Балюк Наталья Валерьевна, заслуживает присуждения искомой ученой степени за новые научные и практические результаты в области физиологии и биохимии растений, включающие:

– выявление стресс-протекторного действия композиций ризосферной бактерии *Bacillus subtilis* штамм 47 с метилжасмонатом и салициловой кислотой, проявляющегося в снижении параметров стрессового состояния растений картофеля и способствующего эффективному процессу их адаптации к водному дефициту и вирусному заражению;

– определение биохимических, физиологических и морфометрических параметров, ассоциированных с функционированием антиоксидантной системы, фотосинтетической активностью и ростовыми процессами, характеризующих формирование комплексной устойчивости картофеля к вирусному заражению и недостатку почвенной влаги, а также за выявление регуляторной роли *Bacillus subtilis*, эпифлоринолида и их смесей с салициловой кислотой, метилжасмонатом в формировании защитного ответа;

– научное обоснование высокой эффективности применения смеси эпибрасинолида с метилжасмонатом для повышения продуктивности и улучшения качества мини-клубней картофеля при вирусном заражении растений в оптимальных условиях почвенной влажности, а также прямую демонстрацию сохранения или увеличения продуктивности и повышения качества продукции при действии смесей иммуностимуляторов с антивирусной активностью в условиях совокупного действия вредоносного вируса и водного дефицита.

– разработку технологии использования иммуностимуляторов для защиты картофеля в процессе получения мини-клубней в системе первичного семеноводства картофеля.

Выражаю своё согласие на размещение отзыва о диссертации на официальном сайте государственного научного учреждения «Институт экспериментальной ботаники имени В.Ф. Купревича Национальной академии наук Беларусь» в глобальной компьютерной сети Интернет.

Официальный оппонент,
заведующий лабораторией биофизики и биохимии
растительной клетки

Государственного научного учреждения
«Институт биофизики и клеточной инженерии
Национальной
академии наук Беларусь», к. б. н.

Е. М. Кабачевская

