

ОТЗЫВ

на диссертацию Кем Карины Робертовны
«Физиолого-биохимические особенности действия
брасиностероидов на рост растений в условиях стресса»,
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 Кем Карины Робертовны посвящена исследованию особенностей индивидуального и сочетанного действия росторегуляторов брасиностероидной преимущественно природы и стрессовых факторов – гербицидных препаратов и хлорида натрия на физиолого-биохимические характеристики ярового ячменя, озимого рапса и льна-долгунца, а также анализу качества продукции последнего. По цели и задачам исследования, методологии, объекту и предмету исследования, полученным результатам и положениям, вынесенным на защиту, диссертационная работа соответствует отрасли – «биологические науки», специальности 03.01.05 – «физиология и биохимия растений» по следующим пунктам паспорта специальности:

п. 1. Структура и функции растительной клетки, формирование и функционирование ее структурных элементов, органелл, цитоскелета и клеточной стенки. Органы, ткани, функциональные системы растений. Химический состав, строение и свойства веществ живой природы; исследования свойств, выделение и способы использования соединений, относящихся к различным классам и группам;

п. 18. Вторичный метаболизм. Процессы биосинтеза и физиологические функции вторичных метаболитов.

Актуальность темы диссертации.

Экзогенное применение веществ гормональной природы имеет большой потенциал при использовании в устойчивом сельском хозяйстве для обеспечения продовольственной безопасности, предлагая пути для повышения урожайности сельскохозяйственных культур. Обладая плеiotропным эффектом, фитогормоны совместно координируют и регулируют рост и развитие растений, способствуя адаптации к динамическим условиям окружающей среды и защите от абиотических и биотических стрессоров.

Важнейшим классом фитогормонов являются брасиностероиды, которые участвуют в процессах регуляции роста и развития, размножения растений, а также реакциях на стресс, усиливая их защиту от различного рода стрессовых факторов и способствуя реакциям иммунитета. Они способны вызывать сдвиги в гормональном балансе других эндогенных гормонов, что свидетельствует о сложных механизмах их регуляторной роли в клетках

растений. Понимание точных механизмов сигнально-регуляторной роли brassиностероидов и модификаций биосинтетического потенциала растительных клеток под их воздействием и в условиях действия стрессовых факторов открывает широкий спектр возможностей в процессах регуляции продукционным процессом культурных растений.

В этой связи, исследования, посвященные выявлению закономерностей экзогенного воздействия brassиностероидов на физиолого-биохимические процессы, в частности, выявлению оптимальных дозировок препаратов фитогормонов данного класса для запуска эффективных защитных реакций в растениях при действии стрессоров, представляются крайне актуальными в современной физиологии и биохимии растений.

В диссертационной работе Кем К.Р. сделана попытка установления физиологических эффектов малых доз brassиностероидов и ряда гербицидов как химических стрессоров, а также их композиций на важнейшие культурные растения ярового ячменя, озимого рапса и льна-долгунца. С этой целью в работе был проведен широкий спектр исследований по выявлению зависимостей доза-эффект в однокомпонентном и сочетанном действии различных brassиностероидов, гербицидов и хлорида натрия на рост, биосинтетический потенциал и урожайность исследуемых культур; выявлены наиболее эффективные диапазоны концентраций brassиностероидов на фоне химического стресса, установлена их видовая специфичность действия, раскрыты отдельные особенности регуляции накопления ключевых интермедиатов шикиматного пути.

Таким образом, диссертационная работа Кем К.Р. «Физиолого-биохимические особенности действия brassиностероидов на рост растений в условиях стресса» представляется актуальной. С одной стороны, она расширяет представления об особенностях регуляции brassиностероидами процессов первичного и вторичного метаболизма в клетках важнейших культурных растений, с другой – позволяет выработать подходы для разработки новых эффективных средств защиты растений в условиях действия гербицидов и засоления.

Степень новизны результатов и научных положений, выносимых на защиту.

В ходе выполнения диссертационной работы Кем Мариной Робертовной получен ряд научных результатов, обладающих несомненной новизной.

Автором впервые установлена зависимость доза-эффект воздействия глифосата, α -нафтилуксусной кислоты и метсульфурон-метила в широком диапазоне концентраций на рост корневой системы ярового ячменя и льна-долгунца; показано, что данная кривая зависимости имеет четыре зоны в соответствии с типом реакции: зона стимуляции роста, зона умеренного ингибирования, зона сильного ингибирования, зона остановки роста. Данные результаты отражены в первом положении, выносимом на защиту.

Автором получен ряд новых данных по выявлению протекторного действия brassinosterоидов на ростовые процессы корневой системы проростков ярового ячменя и льна-долгунца при ингибирующем воздействии метсульфурон-метила, глифосата, α -нафтилуксусной кислоты и NaCl. В частности, впервые установлено, что диапазоны концентраций brassinosterоидов, в которых наблюдается максимальный эффект их действия на фоне химического стресса, практически совпадают по культурам и сортам для каждого из brassinosterоидов и не зависят от их химической структуры. Выявлено, что вышеуказанный защитный эффект brassinosterоидов осуществляется в узком диапазоне концентраций (10^{-8} – 10^{-7} М) и вне зависимости от природы исследуемых стрессовых факторов. Также выявлено, что наиболее широким диапазоном концентраций, в котором проявляется активность фитогормона в стрессовых условиях, обладает эпибрасинолид: от 10^{-10} до 10^{-7} М. Исключением в характере эффектов brassinosterоидов является влияние на рост корней ярового ячменя на фоне стресса, вызванного глифосатом – ингибирующий эффект гербицида в их присутствии усиливается. Вышеуказанные результаты отражены во втором положении, выносимом на защиту.

К наиболее значимым результатам по научной новизне следует отнести исследование особенностей накопления интермедиатов шикиматного пути биосинтеза в тканях растений льна-долгунца и ярового ячменя, при сочетанном воздействии глифосата и эпибрасинолида в инкрустирующей смеси, которая была нанесена на поверхность семян перед их проращиванием. Так, установлено значительное снижение накопления шикимовой кислоты и её производных у льна-долгунца за счет внесения в инкрустационную смесь эпибрасинолида и повышение накопления шикиматов у проростков ярового ячменя.

Также к ранее неизвестным и важнейшим результатам относится выявление выраженного положительного действия ростостимулирующей композиции эпибрасинолид + глифосат + α -нафтилуксусная кислота на повышение качества льноволокна, а именно: увеличение количества волокон в пучке и толщины стенки элементарного волокна, что обуславливает повышение прочности льноволокна на разрыв в 1,5 – 1,7 раза. Данные результаты являются новыми и существенно дополняют имеющиеся представления о клеточных механизмах повышения устойчивости растений в условиях стресса с участием brassinosterоидов и эффективных методах и стратегиях повышения продуктивности важнейших культурных растений Республики Беларусь, они отражены в третьем и четвертом положениях, выносимых на защиту.

Новизна результатов исследований Кем К.Р. подтверждена получением положительного решения предварительной экспертизы по заявке на патент «Способ повышения урожайности и качества волокна льна-долгунца», регистрационный номер а20240100 от 29 апреля 2024 года.

Обоснованность и достоверность выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации.

Кем К.Р. выполнила значительный объем экспериментальной работы с использованием как классических, так и современных методов исследования (микроскопические, спектрофотометрические, высокоэффективная жидкостная хроматография и др.). В проведенных исследованиях все измерения осуществлялись не менее чем в трехкратной повторности. В работе проведена статистическая обработка экспериментальных данных и оценка значимости различий между ними.

Таким образом, результаты, представленные в диссертационной работе, являются статистически достоверными, выводы и рекомендации основаны на полученных экспериментальных данных и являются вполне обоснованными.

Научная, практическая и экономическая значимость результатов диссертации с указанием рекомендаций по их использованию.

Результаты, представленные в диссертационной работе, имеют как научную, так и практическую значимость. Научная значимость полученных в работе результатов состоит в развитии и существенном расширении представлений об особенностях регуляции brassиностероидами физиолого-биохимических процессов в клетках растений в условиях стресса. Кем К.Р. показано повышение накопления важнейшего интермедиата шикиматного пути – шикимовой кислоты и ее производных в тканях растений, выращенных из семян, инкрустированных глифосатом. Установлено значительное снижение этого показателя у льна-долгунца за счет внесения в инкрустационную смесь эпибрасинолида и повышение накопления шикиматов у проростков ярового ячменя, что может указывать на факт действия данных агентов на один и тот же этап биосинтеза ароматических соединений.

Важный практический интерес представляют результаты, которые отражают выявление зависимости доза-эффект при действии гербицидов и brassиностероидов в опытах на проростках значимых для Республики Беларусь сельскохозяйственных культур – ярового ячменя, озимого рапса и льна-долгунца и установление наиболее эффективных для практического использования вариантов brassиностероид-пестицидных композиций. Показано, что зависимость доза-эффект при воздействии глифосата, α -нафтилуксусной кислоты и метсульфурон-метила в широком диапазоне концентраций на рост корневой системы *Hordeum vulgare* L. и *Linum usitatissimum* L. имеет четыре зоны в соответствии с типом реакции: зона стимуляции роста, зона умеренного ингибирования, зона сильного ингибирования, зона остановки роста. Высокую практическую значимость имеют результаты, связанные с выявлением существования узких диапазонов активности brassиностероидов, в которых они способны усиливать или ослаблять гербицидное действие глифосата на растения в зависимости от их видовой принадлежности. Показано, что диапазоны активности,

проявляющиеся на фоне химического стресса, практически совпадают по культурам и сортам для каждого из brassinosterоидов. Для brassinолида, гомоbrassinолида, эпиbrassinолида, кастастерона и гомокастастерона вне зависимости от природы стрессора он составляет 10^{-8} – 10^{-7} М. Самым широким диапазоном концентраций, в котором проявляется активность фитогормона в стрессовых условиях, обладает пикастастерон: от 10^{-10} до 10^{-7} М.

Несомненную практическую ценность представляют результаты работы, которые связаны с разработкой нового ростостимулирующего препарата – эпиbrassinолид + глифосат + аналфтилуksусная кислота, используемого в дозе 30 мг/га + 6 г/га + 100 г/га и индуцирующего увеличение урожайности льноволокна (на 1,4–2,6 ц/га по сравнению с контролем) и повышение его качества, особенно разрывной нагрузки. В частности показано, что обработка растений льна-долгунца в фазу елочки композицией регуляторов роста, включающей brassinosterоиды, N-фосфометилглицин и α -налфтилуksусную кислоту, увеличивает количество волокон в пучке и толщину стенки элементарного волокна, что обуславливает повышение прочности льноволокна на разрыв в 1,5 – 1,7 раза. Не менее значимым также является установление действия указанной смеси на повышение урожайности льносемян на 1,2–2,2 ц/га. Данная разработка имеет важную практическую значимость еще и потому, что может служить теоретической основой для создания новых росторегулирующих препаратов, используемых в сельском хозяйстве.

Практическая значимость представленных в диссертации результатов также состоит в формировании новых знаний, которые расширяют современные представления о возможностях регуляции продукционным процессом культурных растений и может быть использована при чтении курсов лекций по физиологии и биохимии сельскохозяйственных растений, молекулярным и клеточным основам продуктивности растений в ВУЗах Республики Беларусь.

Экономическая значимость результатов может быть связана с решением проблемы импортозамещения при создании новых росторегуляторов растений отечественного производства на основе композиций, включающих brassinosterоиды, N-фосфометилглицин и α -налфтилуksусную кислоту.

По результатам исследований имеется 2 акта внедрения в образовательный процесс ОП «Ляховичского аграрного колледжа» УО «Барановичского государственного университета»: протокол № 7 от 09.02.2023 г. (приложение Б).

Опубликованность результатов диссертации в научной печати.

Материалы диссертации опубликованы в 30 научных работах, среди них 7 статей в рецензируемых журналах, включенных в Перечень ВАК Беларуси и 23 работы в сборниках материалов и тезисах докладов конференций. Общий

объем материалов диссертационного исследования, опубликованных в изданиях из Перечня ВАК, составляет 3,3 авторских листа.

Соответствие оформления диссертации требованиям ВАК.

Диссертационная работа оформлена в соответствии с требованиями ВАК Беларуси, изложена на 166 страницах печатного текста, содержит 66 рисунков, 11 таблиц. Приложение занимает 5 страниц и содержит 2 акта внедрения научных результатов и 1 уведомление о положительном результате предварительной экспертизы по заявке на выдачу патента на изобретение. Работа имеет все необходимые разделы и состоит из перечня условных обозначений, введения, общей характеристики работы, аналитического обзора литературы (глава 1), описания объектов и методов исследования (глава 2), изложения полученных результатов и их обсуждения (главы 3–6), заключения, библиографического списка, включающего 299 источника литературы (из них 184 – зарубежные), списка публикаций соискателя и приложений.

В обзоре литературы автор приводит современные данные о N-фосфонометилглицине (глифосате) и его действии на растения, понятии о гормезисе, действии малых и сверхмалых доз различных факторов окружающей среды, метсульфурон-метиле, гербицидном действии и применении его для защиты растений. Кроме того, в данной главе подробно рассматриваются и анализируются литературные данные о биологической активности брассиностероидов. Особое внимание уделено эффектам комбинированного действия факторов среды. Из литературного анализа логично вытекают поставленные научные задачи.

Во второй главе достаточно полно описаны методы исследования, которые позволяют заключить, что диссертационная работа Кем К.Р. выполнена на высоком методическом уровне с использованием классических и современных методов исследования.

Экспериментальные главы 3–6 включают обоснование поставленной задачи, представление полученных результатов, их подробный и конструктивный анализ, а также заключения.

В целом диссертационная работа Кем К.Р. написана грамотно и логично, хорошим научным языком. Материал диссертации легко воспринимается и сопровождается рисунками и таблицами. Результаты изложены в логической последовательности, положения и выводы вытекают из поставленных задач и основаны на полученных экспериментальных данных.

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

В ходе изучения диссертационной работы Кем К.Р. возникли следующие замечания:

1. В Главу 1 «Аналитический обзор литературы» следовало бы включить раздел, посвященный характеристике и регуляции шикиматного пути биосинтеза, описанию его центральной роли в образовании лигнанов и

лигнинов, флавоноидов и др. классов веществ, а также известным современным способам повышения качества льноволокна, что могло бы придать более высокой целостности представленной диссертационной работе.

2. Поскольку, как известно, экзогенная обработка брассиностероидами влияет на процессы накопления в растениях суммы фенольных соединений и флавоноидов, а также, приводит к модуляции структуры и состава клеточной стенки посредством контроля экспрессии генов, участвующих в первичном и вторичном биосинтезе и метаболизме клеточной стенки, что влияет на отложение лигнина, автору при обсуждении ответных реакций исследуемых растений на действие глифосатсодержащих гербицидов в присутствии брассиностероидов, было бы желательно учитывать этот факт.

3. Описание хроматографического метода анализа приводится не достаточно полно. В частности, не указаны модель используемого прибора и тип хроматографической колонки.

4. При представлении калибровочных кривых не указаны отклонения средних значений.

5. В разделе «Статистическая обработка данных» не уточняются значения биологических и аналитических повторностей проведения опытов. Указано лишь то, что: «В проведенных исследованиях все измерения осуществляли не менее чем в трехкратной повторности, их достоверность подтверждена методами биологической статистики».

6. При обсуждении результатов исследований, касающихся индивидуального или сочетанного влияния брассиностероидов на продуктивность исследуемых растений, следовало бы привести данные и других исследователей, чтобы иметь возможность провести сравнительный анализ эффективности предлагаемых методов, например, с растениями других таксонов.

Указанные замечания не влияют на сделанные автором выводы и положения, выносимые на защиту, и не уменьшают общей высокой оценки работы.

Соответствие научной квалификации соискателя ученой степени, на которую он претендует.

Диссертация Кем Карины Робертовны «Физиолого-биохимические особенности действия брассиностероидов на рост растений в условиях стресса» является квалификационной научной работой и по актуальности, объему выполненной работы и значимости полученных результатов полностью соответствует требованиям ВАК Беларуси, предъявляемым к диссертационным работам на соискание учёной степени кандидата биологических наук.

В соответствии с требованиями «Положения ВАК о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий в Республике Беларусь» п. 20, Кем Карине Робертовне может быть присуждена ученая степень кандидата

биологических наук по специальности 03.01.05 – «физиология и биохимия растений» за новые научно обоснованные экспериментальные результаты исследования физиолого-биохимических механизмов регуляции устойчивости растений к стрессовым факторам химической природы с участием brassinosteroidов и эффективных стратегиях повышения продуктивности важнейших культурных растений Республики Беларусь, а именно:

- выявление специфических эффектов действия глифосата в ингибирующей дозе в смеси с brassinosteroidами, которые выявляются в узком диапазоне концентраций brassinosteroidов, в пределах которого они, в зависимости от видовой принадлежности растений, усиливают или ослабляют гербицидное действие глифосата на рост корневой системы проростков;

- установление эффективных диапазонов концентраций brassinosteroidов, в которых наблюдается максимальный эффект их действия на фоне химического стресса, которые практически совпадают по культурам и сортам для каждого из brassinosteroidов и не зависят от их химической структуры;

- доказательство значительной видовой и сортовой чувствительности проростков льна-долгунца, озимого рапса и ярового ячменя на действие стрессовых факторов химической природы: N-фосфометилглицина, метсульфурон-метила и α -нафтилуксусной кислоты;

- установление закономерности повышения накопления шикимовой кислоты и ее производных в тканях растений, выращенных из семян, инкрустированных глифосатом;

- обоснование применения ростостимулирующей композиции, содержащей эпибрасинолид, глифосат и α -нафтилуксусная кислота в дозе 30 мг/га + 6 г/га + 100 г/га и индуцирующей увеличение урожайности льноволокна и повышение его качества.

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

Официальный оппонент,
доцент кафедры клеточной биологии
и биоинженерии растений
Белорусского государственного университета,
кандидат биологических наук, доцент

 С. Н. Филиппова

