

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию Кем Карины Робертовны «Физиолого-биохимические особенности действия brassinosterоидов на рост растений в условиях стресса», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.05 – физиология и биохимия растений

Соответствие диссертации специальности и отрасли науки. Диссертационная работа Кем К.Р. представляет собой законченное исследование, посвященное изучению физиолого-биохимических особенностей действия brassinosterоидов (БС) на рост растений в условиях химического стресса, вызванного гербицидами и засолением. По предмету исследования, кругу решаемых научных задач, применяемым методическим подходам диссертация Кем К.Р. соответствует отрасли – биологические науки, специальности 03.01.05 – «физиология и биохимия растений» согласно паспорту специальности, утвержденному приказом ВАК Республики Беларусь от 4 июля 2018 г. № 161 (п. 3. «Рост и морфогенез растений, типы роста»; п. 10. «Гормональная регуляция роста и развития растений»; п. 11. «Физиолого-биохимические основы устойчивости растений к стрессовым условиям внешней среды. Физиология и биохимия адаптации растений к стрессу. Реакция растений на ксенобиотики»; п. 18 «Вторичный метаболизм. Процессы биосинтеза и физиологические функции вторичных метаболитов») и профилю совета по защите диссертаций Д 01.38.01 при ГНУ «Институт экспериментальной ботаники им. В.Ф. Купревича».

Актуальность темы диссертации. Диссертационная работа Кем К.Р. посвящена актуальной проблеме современной физиологии и биохимии растений – изучению особенностей действия малых доз БС и ряда гербицидов как стрессоров, а также их композиций на растения ярового ячменя, озимого рапса и льна-долгунца. Наиболее широко в настоящее время в мировой практике для защиты посевов от сорной растительности применяются гербициды, действующими веществами которых являются N-фосфометилглицин (глифосат) и метсульфурон-метил. Вместе с тем, наряду с положительным эффектом часто наблюдаются негативные последствия, связанные с чувствительностью ряда культурных растений к этим препаратам. В этой связи актуальность диссертационной работы Кем К.Р., в которой проведено изучение зависимости доза-эффект в действии БС и brassinosterоид-гербицидных смесей на рост и развитие проростков важных сельскохозяйственных культур, урожайность и качество продукции льна-долгунца, не вызывает сомнений.

Диссертационная работа выполнена в рамках ряда государственных программ научных исследований и соответствует «Перечню приоритетных направлений научной, научно-технической и инновационной деятельности на 2021–2025 годы», пункт 2 «Биологические, химические, медицинские и фармацевтические технологии и производства» (Указ Президента Республики Беларусь №156 от 07.05.2020).

Степень новизны результатов, полученных в диссертации, и научных положений, выносимых на защиту. Результаты, полученные в диссертации и положения, выносимые на защиту, являются новыми.

Следует отметить приоритетные данные автора, определяющие 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., которая имеет четыре зоны (зона гормезиса (стимуляции роста), зона умеренного ингибирования, зона сильного ингибирования, зона остановки роста).

Впервые установлено, что защитное действие БС на рост корневой системы проростков ярового ячменя и льна-долгунца при ингибировании их метсульфурон-метилом, глифосатом, α -нафтилуксусной кислотой и NaCl осуществляется в узком диапазоне концентраций, который для брассинолида, гомобрассинолида, эпибрассинолида (ЭБЛ), кастастерона и гомокастастерона вне зависимости от природы стрессора составляет $10^{-8} - 10^{-7}$ М, а для эпикастастерона – $10^{-10} - 10^{-7}$ М.

Научный приоритет имеют результаты, свидетельствующие о видовой специфичности эффектов инкрустации семян смесями ЭБЛ и глифосата на биосинтез флавоноидов в проростках ярового ячменя и льна-долгунца. Обнаружено, что для проростков льна-долгунца характерно значительное снижение ингибирующего эффекта глифосата на содержание флавоноидов за счет внесения в смеси ЭБЛ, тогда как для проростков ярового ячменя такого действия не выявлено. Установлено, что более высокую антистрессовую активность ЭБЛ проявляет в концентрациях около $1,7 \cdot 10^{-7}$ М.

В рамках исследования впервые обнаружена видоспецифичность ингибирующего действия глифосата на рост корней 9-дневных проростков, которая у *Hordeum vulgare* L. сопровождается более высоким накоплением шикиматов в присутствии БС, в то время как у *Linum usitatissimum* L. наблюдается противоположный эффект – снижение содержания шикиматов в тканях проростков.

Впервые установлено, что обработка растений льна-долгунца в фазу елочки композицией регуляторов роста, включающей ЭБЛ, N-фосфонометилглицин и α -нафтилуксусную кислоту в дозе 30 мг/га + 6 г/га + 100 г/га, увеличивает количество волокон в пучке и толщину стенки элементарного волокна, что обуславливает повышение прочности льноволокна на разрыв в 1,5–1,7 раза, способствует повышению урожайности льноволокна на 1,4–2,6 ц/га и льносемян на 1,2–2,2 ц/га.

В целом, результаты диссертационной работы Кем К.Р. расширяют научные представления о защитной роли стероидных гормонов при химическом стрессе, вызванном действием гербицидов (глифосат, метсульфурон-метил, α -нафтилуксусной кислоты) и хлоридом натрия на рост и развитие культурных растений и создают научную основу для их использования в адаптивных агротехнологиях.

Обоснованность и достоверность выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации. Автором представлен значительный объем экспериментальных данных, полученных с использованием современных методов исследования. Представленные в диссертации результаты статистически оценены с использованием компьютерных программ Excel 2010, Statistika 6.0 и Analysis of Variance (One-way ANOVA). Сделанные выводы вытекают из основного содержания диссертации, соответствуют цели и задачам работы.

Научная, практическая, экономическая и социальная значимость результатов диссертации с указанием рекомендаций по их использованию. Результаты рецензируемой работы имеют определенную научную и практическую значимость.

Научная значимость полученных в работе результатов состоит в развитии научных представлений о защитном влиянии стероидных гормонов при химическом стрессе, вызванном действием глифосата, метсульфурон-метила, α -нафтилуксусной кислоты и хлорида натрия на ростовые процессы и биосинтез фенольных соединений проростков культурных растений разных систематических групп и разных сортов.

Несомненную научную ценность представляют результаты работы, свидетельствующие о том, что действие глифосата в ингибирующей дозе в смеси с БС наблюдается в узком диапазоне концентраций БС, в пределах которого стероидные гормоны видоспецифично усиливают (у ярового ячменя) или ослабляют (у льна-долгунца и

озимого рапса) гербицидное действие глифосата на рост корневой системы проростков. При этом, диапазон «активных концентраций» для каждого из БС практически совпадает, несмотря на разнонаправленное действие на рост растений.

Автором экспериментально доказано, что во всех вариантах с инкрустацией семян смесями ЭБЛ и глифосата содержание фенольных соединений значительно превышало уровень контроля (глифосат). Самое высокое содержание флавоноидов в корнях (по отношению к контролю) обнаружено у льна-долгунца в варианте, где концентрация ЭБЛ составляла $1,5 \cdot 10^{-7}$ М (0,89%), тогда как у ярового ячменя этот показатель практически не изменялся.

Важно также отметить научную значимость полученных результатов, которые подтверждают факт накопления шикимовой кислоты в тканях растений, выращенных из семян, инкрустированных глифосатом, особенно сильно выраженное в листьях льна-долгунца. При внесении в инкрустирующую смесь ЭБЛ установлено значительное снижение этого показателя у льна-долгунца и почти двукратное повышение накопления шикимата в проростках ярового ячменя.

В результате выполненной диссертационной работы получены экспериментальные данные, имеющие несомненное практическое значение для усовершенствования приемов защиты сельскохозяйственных растений. В работе апробирована тест-система для оценки параметров роста корневой системы 9-дневных растений на фоне действия химического стресса, которая позволяет проводить раннюю диагностику ростовой активности природных и синтетических БС и может быть использована в научной практике.

Автором разработан защитно-стимулирующий состав, содержащий ЭБЛ + ГФ + α НУК (30 мг/га + 6 г/га + 100 г/га) для внекорневой обработки вегетирующих растений льна-долгунца в фазу ёлочки. Доказана высокая эффективность этого состава в посевах льна-долгунца по увеличению урожайности льноволокна на 1,4–2,6 ц/га с повышением его прочности и урожайности льносемян на 1,2–2,2 ц/га. Получено удостоверение НЦИС о положительном результате предварительной экспертизы по заявке на выдачу патента на изобретение «Способ повышения урожайности и качества волокна льна-долгунца» (регистрационный номер а20240100 от 29 апреля 2024 года).

Социальная значимость представленных в диссертации результатов состоит в формировании новых знаний, которые расширяют существующие представления о физиолого-биохимических особенностях действия БС на рост культурных растений в условиях химического стресса и могут быть использованы при чтении курсов лекций по физиологии и биохимии растений в ВУЗах республики. Результаты исследований внедрены в учебный процесс ОП «Ляховичский аграрный колледж» УО «Барановичский государственный университет», что подтверждается двумя актами о практическом использовании (протокол № 7 от 09.02.2023г.).

Опубликованность результатов диссертации в научной печати. Основные результаты диссертационной работы Кем К.Р. опубликованы в 7 статьях в научных изданиях из перечня ВАК Беларуси (3,3 а.л.) и 23 работах в материалах и тезисах докладов конференций.

Соответствие оформления диссертации требованиям ВАК. Диссертационная работа оформлена в соответствии с требованиями ВАК Беларуси. Диссертационная работа содержит введение, общую характеристику работы, аналитический обзор литературы (глава 1), описание объектов и методов исследования (глава 2), 4 экспериментальные главы (главы 3-6), заключение, список литературы, содержащий 299 источников (из них 145 – русскоязычные, 184 – на иностранных языках) и 2 Прило-

жения. Текст диссертации изложен на 166 страницах машинописного текста, содержит 66 рисунков и 11 таблиц. Приложение А содержит уведомление о положительном результате предварительной экспертизы по заявке на выдачу патента на изобретение, Приложение Б – 2 акта о практическом использовании результатов исследования.

Представленный в диссертации обзор литературы дает достаточно четкое представление о характере действия использованных гербицидов на рост и развитие культурных растений. Отдельный раздел посвящен проявлению эффекта гормезиса при применении N-фосфонометилглицина на различных культурах. Автором проведен анализ современных литературных сведений, касающихся механизмов действия БС и результатов их применению в растениеводстве, проанализированы эффекты комбинированного действия факторов среды на растительный организм. Детальный анализ современных литературных сведений, касающихся темы диссертационной работы, позволил автору сформулировать цель и задачи исследования.

Во второй главе описаны объекты и методы исследования. Диссертационная работа Кем К.Р. выполнена с использованием морфофизиологических, биохимических и микроскопических методов исследования, включая количественный анализ шикимовой кислоты методом ВЭЖХ. Используемые современные методы исследования, а также оригинальные схемы экспериментов позволили автору сделать однозначные выводы на основе полученных экспериментальных данных.

Экспериментальная глава 3 посвящена анализу влияния N-фосфонометилглицина и БС в широком диапазоне концентраций на рост проростков ярового ячменя, льна-долгунца и озимого рапса. Автором обнаружено, что ростовые процессы надземной части проростков льна-долгунца и ярового ячменя обладают значительно меньшей чувствительностью к химическому стрессу, чем корневая система (в условиях девятидневного эксперимента). Выявлено, что кривую зависимости доза-эффект при действии химических стрессоров на проростки растений можно разделить на 4 зоны по типу ростовой реакции корневой системы: зона стимуляции (гормезиса), зона постепенного усиления ингибирования роста, зона резкого ингибирования ростовых процессов, зона полного подавления роста проростков.

В экспериментальной главе 4 особое внимание уделено оценке диапазонов концентраций БС лактонной и кетонной химических групп, в которых проявляется их защитное действие в условиях стресса, вызванного химическими агентами (N-фосфонометилглицин, α -нафтилуксусная кислота, метсульфурон-метил) и засолением (NaCl). Установленные диапазоны, независимо от стрессора и исследуемой культуры, находятся в пределах концентраций БС от 10^{-10} до 10^{-6} М, однако имеют разную ширину.

В экспериментальной главе 5 представлены результаты изменения ряда биохимических показателей у проростков ярового ячменя и льна-долгунца в результате действия БС и их смесей с глифосатом. Выявлена значительная видовая специфичность реакции на инкрустацию семян смесями ЭБЛ и глифосата по содержанию флавоноидов. Подтвержден факт накопления шикимовой кислоты в тканях растений, выращенных из семян, инкрустированных глифосатом. Установлено значительное снижение этого показателя у льна-долгунца за счет внесения в инкрустирующую смесь ЭБЛ и повышение накопления шикиматов у проростков ярового ячменя.

В экспериментальной главе 6 приведены результаты изучения влияния брассиностероид-пестицидных композиций на продуктивность льна-долгунца и качество волокна в полевых опытах на базе РУП «Институт льна». В результате проведенных

исследований анатомического строения стебля льна-долгунца, урожайности льноволокна и льносемян, разработаны научные основы применения состава, содержащего ЭБЛ + ГФ + α НУК (30 мг/га + 6 г/га + 100 г/га) для внекорневой обработки вегетирующих растений льна-долгунца в фазу ёлочки.

В целом, работа хорошо оформлена, написана четким и ясным языком. Изложение экспериментальных результатов выстроено в логической последовательности, все обсуждаемые положения и выводы хорошо проиллюстрированы в 66 рисунках и 11 таблицах.

Автореферат диссертации отражает суть работы, ее результаты и основные положения, которые автор выносит на защиту.

В диссертации соискатель ученой степени приводит ссылки с указанием авторов и источников, материалы которых он использует, а также на собственные публикации, в которых содержатся материалы, излагаемые в диссертации. При использовании в диссертации результатов, принадлежащих лицам, совместно с которыми были написаны научные работы, автор ссылается на них и отмечает это в диссертации и автореферате ссылкой на источник.

На основании вышеизложенного следует заключить, что в диссертации Кем К.Р. выполнены требования пункта 26 Положения о присуждении ученых степеней и присвоения ученых званий в Республике Беларусь.

В результате анализа диссертационной работы Кем К.Р. возник ряд вопросов, замечаний и пожеланий:

1. Хотелось бы выяснить, почему автор выбрал в качестве индукторов химического стресса наряду с широко распространенными гербицидами, такими как глифосат и метсульфурон-метил, дополнительно еще α -нафтилуксусную кислоту и хлорид натрия, которые имеют другой механизм действия. Тем более, что в литературном обзоре два последних соединения не рассмотрены и в экспериментальной части работы в лабораторных опытах их действие изучено только по параметрам роста растений.

2. Не совсем понятно, почему автор выбрал в качестве приема обработки инкрустацию семян, а не опрыскивание растений, как это общепринято для использования гербицидов в растениеводстве.

3. Хотелось бы уточнить, с какими особенностями льна-долгунца и ярового ячменя (физиологическими, биохимическими или генетическими), по мнению автора, связан разнонаправленный характер действия ЭБЛ в сочетании с глифосатом на изученные показатели роста и биохимический состав проростков. Автору следовало бы более подробно в этом плане обсудить эффекты, указывающие на видоспецифичность действия ЭБЛ на рост корней у проростков льна-долгунца и ярового ячменя, а также на содержание фенольных соединений, флавоноидов и шикимовой кислоты.

4. Возникли также вопросы по изложению и интерпретации результатов исследования в главе 5 (раздел 5.3, стр.114-121), касающихся предположения автора о роли БС как компонентов клеточных мембран.

Во-первых, хотелось бы отметить, что сам автор в этом разделе приводит большое количество литературных сведений об участии стероидных гормонов в регуляции физико-химических свойств цитоплазматических мембран, к которым можно добавить еще ряд литературных источников:

1) Gregory M. Symons, John J. Ross, Corinne E. Jager and James B. Reid Brassinosteroid transport // *Journal of Experimental Botany*. – 2008. – Vol. 59, N. 1. – P. 17–24.

2) Sadura I., Latowski D.; Oklestkova J.; Gruszka D.; Chyc M.; Janeczko A. Molecular Dynamics of Chloroplast Membranes Isolated from Wild-Type Barley and a Brassinosteroid-Deficient Mutant Acclimated to Low and High Temperatures // *Biomolecules*. – 2021. – Vol. 11. – P. 27.

3) Rudolphi-Szydlo El., Dyba B., Janeczko A., Latowski D., Sadura I. and Filek M. Brassinosteroid-lipid membrane interaction under low and high temperature stress in model systems // *BMC Plant Biology*. – 2022. – Vol. 22. – P. 246.

4) Manghwar H., Hussain A., Ali Q., Liu F. Brassinosteroids (BRs) Role in Plant Development and Coping with Different Stresses // *Int. J. Mol. Sci.* – 2022. Vol. 23. – P. 1012.

В этой связи сложно согласиться, что предположение автора о том, что «...особенности регуляции брассиностероидами физиолого-биохимических процессов в клетке могут быть обусловлены выполнением ими на негеномном уровне роли сигнально-регуляторных компонентов клеточных мембран» является совершенно новым.

Во-вторых, представленные в этом разделе результаты касаются только морфометрических параметров роста корней проростков льна-долгунца. Автором установлено, что «...вне зависимости от вида растения, химической структуры стероидов и природы химического стресса диапазоны концентраций БС, в которых проявляется их модифицирующее действие на рост проростков, практически совпадают». По нашему мнению, для рассуждения о роли БС как структурных компонентов следовало бы определить структурно-функциональные параметры биомембран, например, проницаемость или ацидофицирующую активность как наиболее легко измеряемых в многовариантных опытах.

5. Полученные автором результаты опубликованы только в белорусских научных журналах, а на иностранном языке представлены лишь в тезисах докладов на 5-ти международных конференциях, 3 из которых проходили в г. Минске. Хотелось бы пожелать автору работы представить свои результаты не только в русскоязычных статьях, но и в зарубежных изданиях, чтобы расширить их доступность для научной общественности.

6. В работе имеются также погрешности в техническом оформлении и немногочисленные опечатки. На рис. 1 (стр.7) в автореферате на оси абсцисс указана концентрация «[ЭБЛ], М», тогда как в подписи указан «глифосат». В Заключение п. 5 автореферата (стр.21) и диссертации (стр. 130) 2 раза повторяется предложение «Подтвержден факт накопления шикимовой кислоты в тканях растений, выращенных из семян, инкрустированных глифосатом». В главе 4 допущена ошибка в нумерации рисунков, после рис. 4.13 (стр.87) сразу идет рис. 4.17 (стр.89). В таблице 3 автореферата (стр.18) варианты 5 и 6 в 2020 году имеют одинаковые схемы обработки. В список публикаций автора в разделе «Статьи в сборниках материалов конференций» (стр.157-159) включены 12 ссылок имеющих 1 страницу, что нельзя считать статьей, тем более, что дальше автор приводит список тезисов докладов. Указанный в рекомендациях по практическому использованию результатов «Акт полевых испытаний от 17 января 2024 года» (стр.132) не представлен в виде скана документа в Приложении.

Высказанные замечания, однако, не влияют на сделанные автором выводы и положения, выносимые на защиту, а некоторые из них могут быть уточнены в дискуссии.

Соответствие научной квалификации соискателя ученой степени, на которую он претендует. Считаю, что диссертация Кем Карины Робертовны «Физиолого-

биохимические особенности действия brassinosterоидов на рост растений в условиях стресса», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.05 – физиология и биохимия растений является законченным научным трудом и по актуальности темы, объему и значимости полученных результатов отвечает требованиям ВАК Беларуси, предъявляемым к кандидатским диссертациям. Автор работы Кем К.Р. является высококвалифицированным специалистом в области физиологии и биохимии растений и заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.05 – «физиология и биохимия растений» за новые научно обоснованные результаты, определяющие особенности действия БС на рост растений в условиях химического стресса и включающие:

- определение зависимости 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., которая имеет четыре зоны (зона гормезиса (стимуляции роста), зона умеренного ингибирования, зона сильного ингибирования, зона остановки роста);

- обнаружение защитного действия БС на рост корневой системы проростков ярового ячменя и льна-долгунца при ингибировании их метсульфурон-метилом, глифосатом, α -нафтилуксусной кислотой и NaCl, которое осуществляется в узком диапазоне концентраций 10^{-8} – 10^{-7} М вне зависимости от природы стрессора;

- выявление видовой специфичности эффектов инкрустации семян смесями ЭБЛ и глифосата на биосинтез флавоноидов и содержание шикимовой кислоты в проростках ярового ячменя и льна-долгунца;

- разработку композиции регуляторов роста, включающей ЭБЛ, N-фосфометилглицин и α -нафтилуксусную кислоту в дозе 30 мг/га + 6 г/га + 100 г/га для обработки растений льна-долгунца в фазу елочки и экспериментальное доказательство ее эффективности в полевых условиях за счет увеличения количества волокон в пучке и толщины стенки элементарного волокна, способствующих повышению прочности льноволокна на разрыв, урожайности льноволокна и льносемян,

что в совокупности расширяет научные представления о механизмах защитного действия стероидных гормонов на рост и развитие культурных растений в условиях химического стресса и создает научную основу для разработки новых агроприемов их возделывания, обеспечивающих повышение продуктивности и качества урожая.

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

Официальный оппонент,
заведующий лабораторией прикладной
биофизики и биохимии ГНУ «Институт
биофизики и клеточной инженерии
НАН Беларуси», член-корр., д.б.н.,
доцент

18.12.2024

Л.Ф. Кабашникова



Подпись *Кабашникова Л.Ф.* удостоверяю
Заместитель директора
по научной работе
Л.М. Лукьяненко
Л.М. Лукьяненко