

ОТЗЫВ официального оппонента

кандидата биологических наук Ласточкиной Оксаны Владимировны на диссертационную работу Бойко Екатерины Владимировны на тему: «Роль мелатонина в регуляции морфофизиологических процессов растений на селективном свету и в условиях засухи», представленную в диссертационный совет 24.2.479.01, созданного на базе ФГБОУ ВО «Уфимский университет науки и технологий», на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.21. Физиология и биохимия растений

Актуальность работы

Дефицит влаги является одной из основных причин снижения урожайности и качества продукции сельскохозяйственных культур, обусловливая необходимость разработки эффективных методов повышения засухоустойчивости растений. Ключевую роль в регуляции морфогенеза и адаптации растений к абиогенным факторам, вызывающим изменения в водном статусе, отводят гормональной и фоторегуляторной системам. Особый интерес представляет растительный мелатонин (Мел), который ряд исследователей относят к фитогормонам. Известно, что Мел выполняет антиоксидантные функции в растениях и может быть использован в качестве защитного вещества. Найдены рецепторы, контролирующие Мел-зависимые реакции. Кроме того, в растениях Мел участвует в поддержании ионного гомеостаза, регуляции углеводного и липидного обменов, экспрессии генов сигнальных путей фитогормонов, прорастания семян и роста растений, созревания и старения плодов, повышает жизнеспособность и эффективность фотосинтеза в стрессовых условиях. Несмотря на значительный прогресс в изучении механизмов адаптации растений к абиотическим стрессам, многие аспекты функционирования Мел в растениях в норме и при действии засухи остаются неясными. В последнее время отмечен возрастающий интерес к светодиодным технологиям для совершенствования производства растительной продукции и изучению влияния света различного спектрального состава на формирование устойчивости растений к неблагоприятным факторам среды. Широкий спектр физиологических реакций возможен благодаря взаимодействию систем фоторецепции с гормональными системами растений. В отдельных исследованиях показано изменение содержания Мел в зависимости от спектрального состава света, изменение его физиологической роли в регуляции метаболизма растений. Вместе с тем, в изучении механизма действия Мел и его многообразной роли в растениях остается еще много неясностей, требующих дальнейших исследований. Среди нерешенных важное место занимают вопросы о взаимосвязи путей передачи сигналов света разного спектрального состава и Мел при регуляции физиологических процессов у растений в норме и при стрессе. Практически не изучена роль Мел в регуляции ответных реакций растений на засуху при воздействии света разного спектрального состава, не изучены механизмы, в которых Мел может участвовать в качестве гормон-подобного вещества. Диссертационная работа Екатерины Владимировны Бойко посвящена изучению роли Мел в регуляции морфофизиологических процессов растений на селективном свету и в условиях засухи. Принимая во внимание вышеизложенное, актуальность данной работы не вызывает сомнения.

Научная новизна

Полученные в работе диссертанта результаты, несомненно, имеют научную новизну. Автором впервые установлено взаимодействие сигналов света разного спектрального состава и Мел в процессе регуляции морфогенеза и метаболизма растений огурца в

условиях засухи. Установлены различия в формировании засухоустойчивости на свету разного спектрального состава у проростков и взрослых растений огурца при обработке экзогенным Мел. Выявлена зависимость фотосинтеза, транспирации и антиоксидантной системы листьев растений огурца от кратковременной обработки корней Мел. Впервые показано взаимодействие Мел и ИУК в процессе регуляции роста клеток на примере колеоптилей пшеницы в темноте. С помощью мутантного метода установлено действие Мел на свето- и ауксин-зависимые реакции морфогенеза на примере растений арабидопсиса. Выявлено протекторное действие Мел на устойчивость растений картофеля к дефициту воды в условиях засоления и гипотермии.

Характеристика содержания работы

Диссертационная работа написана по традиционному плану: состоит из введения, трех глав (обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты и обсуждение), заключения, списка условных сокращений, списка использованной литературы (включающей 253 источника, из них 168 – на иностранном языке) и 2 приложений. В работе содержится 13 таблиц и 46 рисунков. Общий объем диссертации 163 страницы.

Во введении описана проблема, аргументирована актуальность работы и определены цель и задачи исследования, изложены основные положения, выносимые на защиту, обоснованы научная новизна и практическая значимость работы.

Глава «Обзор литературы» включает 3 раздела и 4 подраздела, в которых проведен анализ современного состояния изучаемой проблемы: описано значение водного обмена и дефицита воды в жизнедеятельности растений; особое внимание удалено роли света и его качественным характеристикам (интенсивность, спектральный состав и фотопериод) в регуляции морфогенеза, роста и развития растений; подробно описана система фоторецепции у растений, включающая различные типы фоторецепторов, и их участие в передаче световых сигналов; представлен анализ гормональной системы в регуляции жизнедеятельности растений с акцентом на роль фитомелатонина и его взаимосвязь с другими фитогормонами в норме и при стрессе. В целом, обзор литературы написан хорошим языком и касается проблем, имеющих отношение к теме диссертационной работы.

В главе «Материалы и методы» соискателем детально и полно описаны объекты исследования, условия проведения экспериментов и методики. Методология исследования основывается на использовании системного подхода с применением современных методов биохимии и физиологии растений, статистики, а также на анализе данных отечественной и зарубежной литературы.

Глава «Результаты и обсуждение» включает 3 раздела, каждый из которых представлен подразделами. Результаты описаны подробно и ясно, хорошо структурированы, иллюстрированы и обсуждены.

В первом разделе изучено влияние Мел в разных концентрациях на морфофизиологические параметры растений огурца в нормальных условиях, в темноте и на селективном свету. В результате проведенных исследований установлено, что экзогенный Мел ускоряет развитие растений огурца на стадии прорастания семян и вегетативного роста. Повышение концентрации экзогенного Мел уменьшало время последействия для активации фотосинтеза, транспирации и устьичной проводимости листьев, неферментативной (пролин) и ферментативной (гваякол-пероксидаза) антиоксидантных систем.

Во втором разделе изучена роль Мел в регуляции устойчивости растений к дефициту воды на белом и селективном свету. Установлен протекторный эффект Мел в регуляции

морфофизиологических реакций растений огурца в ответ на действие атмосферной и субстратной засухи, что проявлялось в более быстром прорастании семян и развитии растений, в восстановлении контрольного уровня нефотохимического тушения флуоресценции хлорофилла и увеличения содержания фотосинтетических пигментов за счёт увеличения антиоксидантов, обеспечивающих снижение окислительного статуса и степени повреждения клеточных мембран растений. Выявлено, что действие Мел на водный обмен, окислительный статус и антиоксидантную систему регенераторов картофеля при засолении и гипотермии аналогично его влиянию на параметры растений огурца при засухе. Показана зависимость действия Мел от условий освещения: Мел увеличивал размеры семядолей при двукратном увеличении доли синего спектра света, а также осевых органов огурца при равном соотношении синего и красного спектров или при преобладании синего спектра света. Отмечена опосредованная светом засухоустойчивость проростков и взрослых растений огурца. Негативный эффект действия умеренной засухи на проростки частично снимался при увеличении плотности потока фотонов синего и красного спектра, на взрослые растения – синего спектра света. Мел снижал негативное действие засухи на биохимические параметры при равном соотношении синего и красного или при преобладании красного света, а также способствовал формированию фотосинтетического аппарата при большей доле синего и равном соотношении исследуемых спектров спектра.

В третьем разделе исследовано участие Мел в регуляции гормоно- и светозависимых морфофизиологических реакций у растений. Установлено, что механизмы действия Мел состоят в регулировании активности антиоксидантной системы (огурец и картофель) и дозозависимых ИУК-опосредованных ростовых реакций (пшеница и арабидопсис). При нарушении сигналинга ИУК (мутант *axr1-3 Arabidopsis thaliana*) эффект Мел зависел от качества света. Выявлено, что мутации по генам фоторецепторов (мутанты *hy3* и *hy4 A. thaliana*) снижают эффективность действия Мел на ростовые процессы на индуктивном селективном свету, что свидетельствует о взаимодействии сигналинга Мел с PHYB- и CRY1-зависимыми реакциями.

В целом, проведенные диссидентом эксперименты позволили сделать ряд заключительных положений: (1) Мел регулирует морфогенез и физиолого-биохимические процессы растений в норме и в условиях засухи; (2) протекторный эффект Мел в формировании устойчивости проростков и растений огурца к засухе зависит от света разного спектрального состава и проявляется в модификации ростовых и метаболических процессов, изменяющих аккумуляцию осмопротекторов, антиоксидантов и фотосинтетических реакций; (3) в качестве механизмов действия Мел на морфофизиологические процессы пшеницы и арабидопсиса выступают контролируемые мелатонином ИУК-зависимые и PHYB- и CRY-зависимые реакции.

Итоги экспериментальной части диссертационной работы представлены в заключении с шестью выводами (с. 123-126), которые согласуются поставленными задачами и логично вытекают из полученных данных. Результаты имеют научно-практическое значение, положения отвечают признакам научной новизны.

Теоретическая и практическая значимость работы

Полученные автором данных расширяют современные представления о фундаментальных физиологических и биохимических механизмах устойчивости растений к дефициту влаги, позволяя более полно понять картину взаимодействия Мел и ауксина в регуляции роста и развития растений. Кроме того, исследование позволило выявить зависимость контролируемых Мел реакций от света разного спектрального состава.

Результаты исследования представляют интерес и в прикладной области, так как раскрывают особенности реакции растений на корневую обработку Мел, что может быть применимо в сельском хозяйстве для повышения засухоустойчивости и продуктивности растений. Результаты исследования могут быть использованы в лекционных и практических курсах по физиологии, биохимии и экологической физиологии растений для студентов и магистрантов ВУЗов.

Достоверность и апробация полученных результатов

Использование классических и современных методов исследований, которые соответствуют цели работы и поставленным задачам, а также проведение экспериментов в достаточных для построения достоверной статистики повторах, подтверждают достоверность и обоснованность экспериментальных результатов и выносимых на защиту положений и выводов. Основные положения и результаты исследований опубликованы в российских и зарубежных научных изданиях (в т.ч. 4 статьи, 1 глава в монографии), представлены на многочисленных научных конференциях. Рукопись автореферата соответствует содержанию диссертации, результатам и положениям, выносимым на защиту.

Вопросы и замечания

Существенных недостатков в работе не выявлено, кроме ряда конкретных замечаний и вопросов, которые перечислены ниже:

1. В обзоре литературы в тексте обращает на себя внимание недостаточность использования в ссылках современных источников литературы (последних 3-5 лет). Хотя в последнее время наблюдается значительный рост исследований, посвященных изучению влияния спектрального состава света и экзогенных регуляторов роста, как в отдельности, так и при совместном их применении для повышения роста и стресс-устойчивости растений. И многие из этих работ присутствуют в общем списке литературы, но не совсем полно задействованы в виде ссылок в тексте диссертации.

2. Результаты и обсуждение.

(а) Атмосферная засуха увеличивала интенсивность перекисного окисления липидов (ПОЛ) в корнях и листьях нижнего и верхнего ярусов растений, что вполне ожидаемо. Обработка Мел снижала уровень стресс-индуцированного ПОЛ в листьях нижнего и верхнего ярусов, тогда как в корнях приводила к дополнительному увеличению (рис. 22б, стр. 77). С чем может быть связано такое различное действие Мел на ПОЛ в разных органах растений при атмосферной засухе?

(б) Обработка растений огурца Мел в норме и воздействие засухи по отдельности сопоставимо снижали (на 14%) уровень антоцианов, тогда как при совместном воздействии засухи и Мел (ПЭГ4+1 мкМ Мел) данный показатель возрастал в 2,8 раза (Таблица 8, стр. 83). Чем может быть обусловлен такой характер изменений в содержании антоцианов?

(в) На рис. 40 (стр. 106) в легенде обозначены не все представленные варианты обработок.

3. По всему тексту диссертации встречаются опечатки, орфографические ошибки, стилистические погрешности, а также несогласованные предложения (например, стр. 25, строка 18 снизу; стр. 83, 13 строка сверху). Ссылки на литературу не везде расположены в хронологическом порядке (Стр. 37, 107).

Отмеченные выше замечания и вопросы не носят принципиального характера и не умаляют значимости полученных результатов и общую положительную оценку работы, имеющую высокую теоретическую и практическую значимость.

Заключение

По актуальности темы, методическому уровню, объему исследований, степени обоснованности и достоверности полученных результатов, их научной новизне, значительной теоретической и практической значимости диссертационная работа Бойко Екатерины Владимировны на тему «Роль мелатонина в регуляции морфофизиологических процессов растений на селективном свету и в условиях засухи», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по научной специальности 1.5.21. Физиология и биохимия растений, по всем критериям соответствует требованиям, установленным пунктами 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2023 г. № 842 в действующей редакции, а ее автор заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата биологических наук по научной специальности 1.5.21. Физиология и биохимия растений.

Официальный оппонент, кандидат биологических наук (03.01.05 – Физиология и биохимия растений), заместитель директора по научной работе, старший научный сотрудник лаборатории молекулярных механизмов устойчивости растений к стрессам Института биохимии и генетики – обособленного структурного подразделения Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук.

«22» 09 2024 г.

Оксана Владимировна Ласточкина

Институт биохимии и генетики – обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального

исследовательского центра Российской академии наук

Адрес: 452054, Россия, г. Уфа, проспект Октября, д. 71

тел./факс: +7 (347) 235-60-88

e-mail: molgen@anrb.ru, официальный сайт: <http://ufaras.ru>

Подпись О.В. Ласточкиной заверяю:

Ученый секретарь ИБГ УФИЦ РАН

«22» 09 2024 г.



Марина Алексеевна Бермишева

Я, Ласточкина Оксана Владимировна, даю согласие на включение своих персональных данных в документы, связанные с защитой диссертации Бойко Екатерины Владимировны, и их дальнейшую обработку.

«22» 09 2024 г.

Оксана Владимировна Ласточкина