

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 003.047.01
НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО
УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ СИБИРСКОГО ИНСТИТУТА ФИЗИОЛОГИИ И
БИОХИМИИ РАСТЕНИЙ СИБИРСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ РОССИЙСКОЙ
АКАДЕМИИ НАУК ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ
СТЕПЕНИ КАНДИДАТА БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК

аттестационное дело № _____
решение диссертационного совета от 24 июня 2016 г. № 4

о присуждении **Корсуковой Анне Викторовне** (Российская Федерация) ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Изменение холода- и морозоустойчивости проростков злаков под действием тебуконазол-содержащего протравителя семян» по специальности 03.01.05 – «физиология и биохимия растений» принята к защите 22 апреля 2016 г., протокол № 3 диссертационным советом Д 003.047.01 на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Сибирского института физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук (664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, д. 132, а/я 317), приказ о создании №105/нк от 11 апреля 2012 г.

Соискатель Корсукова Анна Викторовна, 1986 года рождения, работает ведущим инженером в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Сибирском институте физиологии и биохимии растений Сибирского отделения РАН.

Диссертация выполнена в лаборатории физиологической генетики Федерального государственного бюджетного учреждения науки Сибирского института физиологии и биохимии растений Сибирского отделения РАН.

В 2012 году соискатель окончила Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Иркутский государственный университет» по специальности «Биология» и поступила в очную аспирантуру Федерального государственного бюджетного учреждения науки Сибирского института физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук.

В 2015 году Корсукова Анна Викторовна окончила аспирантуру с предоставлением рукописи диссертации.

Научный руководитель – Грабельных Ольга Ивановна, доктор биологических наук, доцент, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук, главный научный сотрудник лаборатории физиологической генетики.

Официальные оппоненты:

1. Жигачева Ирина Валентиновна, доктор биологических наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук (ФГБУН ИБХФ РАН), ведущий научный сотрудник лаборатории физико-химических основ регуляции биологических систем,

2. Разина Альфия Агламзановна, кандидат биологических наук, доцент, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Иркутский научно-исследовательский институт сельского хозяйства» (ФГБНУ Иркутский НИИСХ), старший научный сотрудник лаборатории агрохимии и защиты растений

дали положительные отзывы о диссертации.

Ведущая организация Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Казанский (Приволжский) федеральный университет» (ФГАОУ ВО КФУ) в своем **положительном заключении**, подписанном Тимофеевой Ольгой Арнольдовной, доктором биологических наук, доцентом, заведующей кафедрой ботаники и физиологии растений Института фундаментальной медицины и биологии ФГАОУ ВО КФУ, указала, что диссертационная работа Корсуковой Анны Викторовны «Изменение холода- и морозоустойчивости проростков злаков под действием тебуконазол-содержащего протравителя семян» представляет законченное фундаментальное исследование, выполненное на актуальную тему и имеющее важное научное и практическое значение для физиологии и биохимии растений. Представленная диссертация соответствует требованиям п.9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденному постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 №842, предъявляемым ВАК Минобразования и науки РФ к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.05 – физиология и биохимия растений. Диссертационная работа Корсуковой А.В. обсуждена на заседании кафедры ботаники и физиологии растений Казанского (Приволжского) федерального университета (протокол № 5 от 24 мая 2016 г.), получила положительную оценку и рекомендацию к защите.

В диссертации содержаться достоверные сведения об опубликованных соискателем ученой степени работах, в которых изложены основные научные результаты диссертации.

При представлении к защите соискатель имел **по теме диссертации – 6 работ**, из которых **3 опубликованы в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК РФ для защиты кандидатских диссертаций**. На момент защиты вышла ещё одна публикация в журнале из Перечня ВАК РФ.

Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:

1. Роль активных форм кислорода и участие митохондрий в развитии программируемой клеточной гибели в колеоптилях озимой пшеницы / А.В. Корсукова, О.И. Грабельных, И.В. Любушкина, Т.П. Побежимова, Н.А. Королева, Н.С. Павловская, И.В. Федосеева, В.К. Войников // Известия Иркутского государственного университета. Серия «Биология. Экология». – 2013. – Т. 6, № 2. – С. 14–26.

2. The tebuconazole-based protectant of seeds “Bunker” induces the synthesis of dehydrins during cold hardening and increases the frost resistance of wheat seedlings / A.V. Korsukova, O.A. Borovik, O.I. Grabelnych, V.K. Voinikov // Journal of Stress Physiology and Biochemistry. – 2015. – V. 11, N 4. – P. 118–127.

3. Повышение холодостойкости проростков яровой пшеницы при обработке семян тебуконазолом / А.В. Корсукова, О.А. Боровик, О.И. Грабельных, Н.В. Дорофеев, Т.П. Побежимова, В.К. Войников // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. – 2015, № 4 (15). – С. 30–36.

4. Tebuconazole regulates fatty acid composition of etiolated winter wheat seedlings / A.V. Korsukova, T.G. Gornostai, O.I. Grabelnych, N.V. Dorofeev, T.P. Pobezhimova, N.A. Sokolova, L.V. Dudareva, V.K. Voinikov // Journal of Stress Physiology and Biochemistry. – 2016. – V. 12, N 2. – P. 72–79.

На диссертацию и автореферат поступили отзывы:

1. д.б.н., доц. Е.В. Алаудиновой, проф. кафедры химической технологии древесины и биотехнологии (ФГБОУ ВО «Сибирский государственный технологический университет»), г. Красноярск;

2. д.б.н., проф. А.Н. Ершовой, зав. кафедрой биологии растений и животных (ФГБОУ ВО «Воронежский государственный педагогический университет»), г. Воронеж;

3. д.б.н., доц. В.М. Ефимова, в.н.с. лаборатории молекулярно-генетических систем (ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр ИЦиГ СО РАН»), г. Новосибирск;

4. к.с.-х.н., доц. Н.Н. Клименко и д.б.н., проф. И.Э. Илли, кафедра агроэкологии, агрохимии, физиологии и защиты растений (ФГБОУ ВО «Иркутский государственный аграрный университет имени А.А. Ежевского»), г. Иркутск;

5. д.б.н., проф. Ю.Е. Колупаева, зав. кафедрой ботаники и физиологии растений (Харьковский национальный аграрный университет им. В.В. Докучаева), г. Харьков, Украина;

6. д.б.н. Ф.В. Минибаевой, зав. лабораторией окислительно-восстановительного метаболизма (ФГБУН Казанский институт биохимии и биофизики Казанского научного центра РАН), г. Казань;

7. к.б.н. Г.В. Новицкой, с.н.с. группы магнитобиологии растений (ФГБУН Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН), г. Москва;

8. к.х.н., с.н.с. В.Е. Софоновой и д.б.н., в.н.с. К.А. Петрова, лаборатория биогеохимических циклов мерзлотных экосистем (ФГБУН Институт биологических проблем криолитозоны СО РАН), г. Якутск;

9. к.б.н. В.Н. Попова, с.н.с. лаборатории зимостойкости (ФГБУН Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН), г. Москва;

10. д.б.н. В.В. Талановой, гл.н.с. лаборатории экологической физиологии растений (ФГБУН Институт биологии Карельского научного центра РАН), г. Петрозаводск;

11. д.б.н., проф. Е.К. Хлесткиной, зав. сектором функциональной генетики злаков (ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр ИЦиГ СО РАН»), г. Новосибирск;

12. д.б.н. В.Н. Хрянина, проф. кафедры «Общая биология и биохимия» (ФГБОУ ВПО «Пензенский государственный университет»), г. Пенза;

13. к.б.н., н.с. Д.Р. Масленниковой и д.б.н., проф. Ф.М. Шакировой, зав. лабораторией молекулярных механизмов устойчивости растений к стрессам (ФГБУН Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН), г. Уфа;

14. д.б.н. А.Г. Шугаева, зав. лабораторией дыхания растений и механизмов его регуляции (ФГБУН Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН), г. Москва.

В отзывах ведущей организации и официальных оппонентов в качестве замечаний указывается:

1. ведущей организации ФГАОУ ВО КФУ, г. Казань, 6 замечаний:

1) Не совсем четко описана методика по определению морозоустойчивости этиолированных проростков злаков. Не понятно, зачем промораживали проростки при -2 и -4 °C, если в работе эти данные не приведены. Тем не менее, появляются данные по выживаемости при температуре -7 °C, про которую в методике не указано. 2) В течение какого времени происходило промораживание? Сколько по времени продолжалось раззакаливание? Оно по времени (в сут) всегда было одинаково или зависело от температуры промораживания? 3) Почему, как считает автор, при закаливании озимой пшеницы уменьшалось отношение ННЖК/НЖК? 4) Несмотря на то, что автор довольно смело использует термины «закаливание» и «морозоустойчивость» применительно к яровой пшенице, в работе не приведены прямые доказательства того, что это закаливание к морозу происходило. В таблице 4 представлена выживаемость закаленных растений после промораживания, а выживаемости незакаленных – нет. 5) Не указана размерность дыхания в таблицах 8 и 9. 6) На мой взгляд, используемая концентрация 1 mM (10^{-3} M) слишком высока и не является физиологической для биологически активных соединений, как АБК и тебуконазол;

2. официального оппонента д.б.н. И.В. Жигачевой, ФГБУН ИБХФ РАН, г. Москва, 2 замечания: 1) В разделе 3.4.2. Окислительная и фосфорилирующая активность митохондрий при использовании препарата «Бункер» в таблицах 6 и 7 автор приводит значения скоростей окисления субстратов митохондриями проростков озимой пшеницы забыв указать их размерность (нг-моль / мг белка × мин или нг-атом / мг белка × мин). Тем не менее эта размерность, а именно: (нг-моль / мг белка × мин) представлена в автореферате. 2) В этом же разделе автор сопоставляет скорости окисления субстратов митохондриями проростков озимой пшеницы в контрольных условиях и при низкотемпературном закаливании (стр. 128). При этом читателю предлагается сравнить данные таблиц 6 и 7, которые находятся далеко друг от друга (на расстоянии 7 страниц), что затрудняет их восприятие. Однако, этот недостаток преодолен в автореферате, где на одном рисунке (рисунок 7) приведены эти данные;

3. официального оппонента к.б.н., доц. А.А. Разиной, ФГБНУ Иркутский НИИСХ, г. Иркутск, 1 замечание: 1) Отсутствует апробация результатов лабораторных исследований в полевом эксперименте. Данное замечание не влияет на результаты диссертации и не снижает ее ценность и

его можно рассматривать как пожелание автору для проведения дальнейших исследований.

В качестве замечаний в отзывах на автореферат указывается:

1. д.б.н., доц. Е.В. Алаудинова: 1) В списке сокращений приведены далеко не все используемые автором. 2) Непонятно для чего в автореферате имеется заключение, в котором автор повторно приводит результаты своей работы, сопровождая их пространными литературными ссылками. Такое заключение уместно в самой диссертации, но не в автореферате;

2. д.б.н., доц. В.М. Ефимов: 1) Статистическая обработка данных выполнена достаточно качественно, хотя здесь есть повод для замечаний. При таком числе сравнений, которые диссертант провела, используя только одномерный подход, вообще говоря, требуется вносить поправки на множественность критериев. А еще лучше использовать дискриминантный анализ того же Фишера и обрабатывать все выборки по всем признакам сразу. Я надеюсь, что диссертант учтет это замечание в будущих исследованиях;

3. д.б.н., проф. Ю.Е. Колупаев: 1) В большей части исследований, представленных в автореферате, использован тебуконазол-содержащий протравитель «Бункер». При исследовании механизмов действия препарата было бы желательно привести данные об эффектах действующего вещества тебуконазола, как это сделано автором при изучении функциональной активности митохондрий;

4. д.б.н. Ф.В. Минибаева: 1) К сожалению, в автореферате отсутствуют данные о содержании стеринов. Данные об ингибировании синтеза эргостерина в грибах, высказанное автором в Заключении предположение о переключении изопренOIDного пути на синтез АБК и литературные данные об увеличении текучести плазмалеммы при действии этого триазола, на мой взгляд, свидетельствуют о том, что, наряду с универсальными стрессовыми параметрами (дегидрины, ПНЖК, растворимые сахара), «стерииновая» специфичность данного соединения при стрессе может работать не только в грибах, но и растениях. Данные о содержании различных молекулярных видов стеринов могли бы дать более детальную информацию о специфических механизмах действия данного фунгицида;

5. к.б.н. Д.Р. Масленникова и д.б.н., проф. Ф.М. Шакирова: 1) В качестве некоторого недостатка автореферата можно отметить излишне, на наш взгляд, большой по объему раздел «ЗАКЛЮЧЕНИЕ», который было бы более уместно привести в диссертации, однако это ни в коей мере не умаляет объективных достоинств диссертационной работы;

6. д.б.н. А.Г. Шугаев: 1) В качестве замечания можно отметить, что при окислении ТМФД (стр. 17, и рис. 8б) определение вклада альтернативного пути (АП), катализируемого альтернативной оксидазой (АО), по-видимому, некорректно, поскольку этот субстрат донирует восстановительные эквиваленты прямо на цитохромоксидазу, т.е. терминальную оксидазу цитохромного пути (ЦП), поэтому они вряд ли могут транспортироваться к АО.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается их широкой известностью своими достижениями в данной отрасли науки по специальности защищаемой диссертации. В ведущей организации – ФГАОУ ВО КФУ работают специалисты, занимающиеся вопросами формирования механизмов устойчивости растений к неблагоприятным температурам и другим стрессовым факторам и роли в этих процессах регуляторов роста. Официальные оппоненты д.б.н. И.В. Жигачева является специалистом в области дыхания растений и животных, функционирования и состояния электрон-транспортной цепи, жирнокислотного состава липидов мембран митохондрий при действии стрессовых факторов и адаптогенов, в том числе регуляторов роста, а к.б.н., доц. А.А. Разина занимается изучением современных средств защиты растений, таких как пестициды-протравители, от фитопатогенных грибов и применения регуляторы роста при севообороте, возделывании пшеницы в Иркутской области.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

разработаны положения, вносящие значительный вклад в понимание механизмов формирования и поддержания устойчивости растений к действию низких температур и расширяющие современные представления о роли производных 1,2,4-триазола (с использованием тебуконазол-содержащего протравителя семян) в адаптации яровых и озимых злаков к низким температурам;

предложена оригинальная научная гипотеза участия ретардантов – производных 1,2,4-триазола в повышении холода- и морозоустойчивости злаков;

доказана роль производных 1,2,4-триазола (с использованием тебуконазол-содержащего протравителя семян) в повышении холода- и морозоустойчивости этиолированных проростков злаков; доказана способность 1,2,4-триазола (с использованием тебуконазола) ингибировать активность комплекса I дыхательной цепи митохондрий озимой пшеницы.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

доказано участие тебуконазол-содержащего протравителя семян, проявляющего ретардантный эффект, в повышении степени ненасыщенности жирных кислот, синтезе низкомолекулярных дегидринов и накоплении водорастворимых углеводов в этиолированных проростках злаков, что приводит к увеличению холода- и морозоустойчивости растений; доказано влияние тебуконазола на дыхательный метаболизм злаков, которое выражается в снижении скорости окисления субстратов дыхания на уровне комплекса I дыхательной цепи митохондрий;

применительно к проблематике диссертации результативно (эффективно, то есть с получением обладающих новизной результатов) использован комплекс современных подходов, включающий полярографический, спектрофотометрические, электрофоретические и иммунологические методы анализа;

изложены данные, указывающие на то, что после обработки семян тебуконазол-содержащим препаратом в клетках злаков происходят метаболические изменения, характерные для низкотемпературной адаптации растений – увеличение содержания водорастворимых углеводов и ненасыщенных жирных кислот;

раскрыты общие механизмы и особенности формирования холода- и морозоустойчивости этиолированных проростков яровой и озимой пшеницы, озимой ржи; раскрыта роль производных 1,2,4-триазола (с использованием тебуконазол-содержащего протравителя семян) в повышении холода- и морозоустойчивости этиолированных проростков злаков;

изучена связь между увеличением содержания сахаров, синтезом дегидринов, увеличением степени ненасыщенности жирных кислот, снижением интенсивности дыхания у холодозакаленных этиолированных проростков злаков, выращенных из семян, обработанных тебуконазол-содержащим протравителем, и повышением их холода- и морозоустойчивости; изучено влияние производных 1,2,4-триазола (с использованием тебуконазола и тебуконазол-содержащего протравителя семян) на функционирование электрон-транспортной цепи растительных митохондрий в нормальных температурных условиях и при холодовом закаливании;

проведена модернизация существующих представлений о роли и возможных механизмах участия ретардантов – производных 1,2,4-триазола (тебуконазола) в повышении устойчивости растений к низким температурам.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:

определенны происходящие метаболические изменения при использовании тебуконазол-содержащего протравителя семян, которые приводят к повышению низкотемпературной устойчивости такой важной сельскохозяйственной культуры, как озимая пшеница, а также к сохранению морозоустойчивости данного злака в период раззакаливания, что снижает гибель растений при последующем действии отрицательной температуры;

созданы предпосылки использования фунгицидов триазольной природы для повышения устойчивости озимых злаков к отрицательным температурам в зимний и ранневесенний периоды;

представлены данные, которые могут быть использованы для чтения курсов лекций по физиологии и биохимии растений для студентов биологических и агрономических специальностей университетов и сельскохозяйственных ВУЗов, а также оригинальные экспериментальные подходы, которые могут быть использованы в ведущих научно-исследовательских учреждениях РАН и РАСХН, занимающихся изучением вопросов холода-, морозоустойчивости, биоэнергетики и защиты ценных сельскохозяйственных культур.

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

для экспериментальных работ результаты получены с применением оборудования Федерального государственного бюджетного учреждения науки Сибирского института физиологии и биохимии растений Сибирского

отделения РАН, оборудования ЦКП СИФИБР СО РАН «Фитотрон» и ЦКП ИНЦ СО РАН «Байкальский аналитический центр» с использованием стандартных и апробированных методик. Показана воспроизводимость результатов в различных экспериментах. Объем проведенных исследований достаточен для получения достоверных выводов. Значимость установленных в работе различий подтверждена статистической обработкой данных. Статистическая обработка выполнена на базе программного обеспечения Microsoft Office Excel 2013 и SigmaPlot 12.5;

теория основана на представленных в литературе данных об участии ростингирующих соединений, в том числе ретардантов – производных 1,2,4-триазола, в повышении холода- и морозоустойчивости растений, а также на данных, подтверждающих способность производных 1,2,4-триазола влиять на изменение баланса фитогормонов в сторону уменьшения содержания стимуляторов роста, за счет подавления биосинтеза гиббереллинов, и увеличения содержания ингибиторов роста, а именно абсцизовой кислоты;

идея базируется на сведениях о роли ростингирующих соединений (как природных, так и синтетических) в формировании и поддержании низкотемпературной адаптации растений посредством влияния на ингибирование ростовых процессов, увеличение продолжительности покоя;

использовано сравнение результатов, полученных автором, с данными литературы о возможности использования ретардантов для повышения устойчивости растений к низким температурам, а также с исследованиями, изучающими отличные от фунгицидных свойств производных 1,2,4-триазола;

установлено, что полученные результаты по влиянию тебуконазола на энергетическую активность митохондрий и повышение низкотемпературной устойчивости растений не противоречат данным, представленным в независимых источниках по данной тематике при изучении других фунгицидов – представителей триазолиевого ряда. Данный факт может служить доказательством целесообразности дальнейшего изучения возможности применения тебуконазол-содержащего протравителя семян не только в качестве фунгицида, но и как препарата, повышающего холдо- и морозоустойчивость;

использованы современные методики сбора и обработки электронной информации, такие как PubMed (<http://www.ncbi.nlm.gov/pubmed/>), Google Академия (<http://scholar.google.ru/>), Microsoft Academic search (<http://academic.research.microsoft.com/>), Научная электронная библиотека eLIBRARY.RU (<http://elibrary.ru/>). Систематизация полученной информации проводилась с использованием компьютерной техники.

Личный вклад соискателя состоит в: планировании и проведении экспериментов, в статистической обработке и интерпретации полученных результатов, в написании статей, опубликованных по результатам работы, а также в апробации результатов исследования в ходе выступления на конференциях различного уровня.

На заседании 24 июня 2016 г. диссертационный совет принял решение присудить **Корсуковой Анне Викторовне** ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 14 человек, из них 13 докторов наук, участвовавших в заседании, из 19 человек, входящих в состав совета, дополнительно введены на разовую защиту 0 человек, проголосовали: за – 13, против – нет, недействительных бюллетеней – 1.

Председатель
диссертационного совета Д 003.047.01,
чл.-корр. РАН



Саляев Рюрик Константинович

Ученый секретарь
диссертационного совета Д 003.047.01,
кандидат биологических наук

Акимова Галина Петровна

24 июня 2016 г.