

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию Жмудь Елены Викторовны
**«АКТИВНОСТЬ ИНГИБИТОРОВ ТРИПСИНА
У ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ *ASTRAGALUS L.* И *HEDYSARUM L.*
(*FABACEAE LINDL.*) В ЮЖНОЙ СИБИРИ»,**
представленную на соискание ученой степени доктора биологических наук
по специальности 03.02.01 – ботаника

Актуальность темы диссертации

Актуальной проблемой кормопроизводства является поиск перспективных для селекционных целей видов и популяций растений. Для Сибири, как региона рискованного земледелия, особенно важен подбор материала для создания сортов кормовых культур из числа наиболее адаптированных к местным условиям видов и разновидностей. Многие высокобелковые кормовые растения являются представителями семейства *Fabaceae Lindl.* Актуальной задачей является поиск форм растений, обладающих устойчивостью к патогенам и вредителям, зимостойких и засухоустойчивых в сложных климатических условиях Сибири. Отбор перспективных форм в природных условиях должен базироваться на исследовании комплекса биометрических и физиологических признаков – индикаторов онтогенетической адаптации к условиям среды.

В диссертационной работе соискателем впервые предложены результаты исследования, раскрывающие особенности изменчивости ранее не изученного у высокобелковых бобовых растений признака – активности ингибиторов трипсина (АИТ). В обзорной части работы показано, что ингибиторы трипсина представляют собой группу веществ, относящихся к факторам иммунной системы. Это PR-6 белки, связанные с различными формами патогенеза, которые обеспечивают неспецифическую системную устойчивость растений. Активность этой группы веществ связана и с ответом на стрессовые воздействия биотической и абиотической природы. ИТ выполняют защитную функцию в растениях, вследствие чего являются антипитательными веществами при использовании в кормовых и пищевых

целях, так как препятствуют усвоению растительного белка, поступающего с пищей или кормами. Автором по литературным данным охарактеризованы результаты ранее проведенных исследований этой группы соединений и показано, что они, в основном, посвящены химической структуре и функциям этих белков в семенах у растений разных семейств покрытосеменных, преимущественно, в культуре.

Представители двух исследованных в работе родов, *Astragalus* и *Hedysarum* – перспективные высокобелковые кормовые и лекарственные растения с высоким содержанием биологически активных соединений. Актуальность представленной работы связана и с тем, что представители этих родов бобовых растений нуждаются в изучении изменчивости содержания ИТ как в природных условиях, ни в культуре.

Новизна проведенных исследований и полученных результатов

Новизна исследования заключается во всестороннем изучении трипсинингибирующей активности в надземной части у видов бобовых растений, которое не проводилось вплоть до настоящего времени. Соискателем в работе корректно реализована оригинальная схема сравнительной оценки изменчивости количественных признаков (морфологических и биохимических) не только по классической схеме сравнения их варьирования, но и путем проведения регрессионного анализа по градиенту высотного фактора. Это позволило впервые определить изменчивость и пластичность сравниваемых количественных характеристик у изученных видов – морфологических и биохимических, и оценить их адаптивные изменения в условиях высокогорий. В обзоре отмечено отсутствие подобных исследований биоморфологических характеристик изучаемых видов. Также впервые соискателем проведен дисперсионный анализ изменчивости биометрических признаков и показано влияние увеличения абсолютной высоты местонахождений популяций на изменчивость каждого из биометрических признаков. Проведенные исследования позволяют автору проиллюстрировать изменения средних

значений каждого из количественных признаков у растений в изученных природных популяциях, на основании чего можно отметить, что более высокое варьирование практически всех из них наблюдается в относительно благоприятных условиях, то есть в более теплых лесостепных районах, по сравнению с более суровыми местообитаниями высокогорий Южной Сибири. Новыми являются полученные автором данные относительно пластичности определенных биометрических признаков в условиях различных местонахождений у четырех видов бобовых растений.

Соискателем впервые показано различие по активности водорастворимых ингибиторов трипсина у растений двух родов и сделан вывод о более активном участии этой группы белков в формировании устойчивости у растений рода *Hedysarum*. Новым и вполне закономерным выводом соискателя стало утверждение о наличии динамики по активности ИТ у растений в зависимости от роста и развития. На основе проведенных в природных условиях и в культуре оригинальных экспериментов по искусственной дефолиации сделаны выводы об участии этой группы белков в антистрессовой реакции у растений рода *Hedysarum*. Утверждение автора об отсутствии антистрессового увеличения АИТ у изученных растений в фазе цветения растений согласуется с общепринятыми в физиологии растений представлениями об уязвимости иммунной системы у цветущих растений, вследствие которой отклика в ответ на стресс в экспериментах по искусственной дефолиации у цветущих растений не наблюдалось. Проведенное экспериментальное исследование показало, что каждое растение обладает индивидуальной реакцией на стресс. Автором отмечена тенденция к увеличению антистрессовой активности ИТ у растений в начале и при завершении сезонного развития побегов. Отсутствие тенденции повышения значений АИТ в фазе цветения наблюдается автором для большинства изученных растений, тем не менее отмечено, что во всех вариантах эксперимента присутствуют единичные растения с альтернативной

динамикой АИТ в ответ на стресс, что выражено в небольшой степени и не нарушает сложившейся в целом тенденции.

Степень обоснованности и достоверности научных положений, выводов, рекомендаций и заключений

Достоверность полученных результатов основана на изучении и статистической обработке большого объема данных, полученных за 13 лет у 16 видов бобовых растений, входящих в состав 144 популяций, произрастающих на территориях Алтайского и Забайкальского края, Республик Алтай, Хакасия, Бурятия, Иркутской области, ботанических садов СибБС (Томск) и ЦСБС СО РАН (Новосибирск). Материалы диссертации статистически обработаны, основные положения и выводы достоверно обоснованы полученными результатами.

Соискателем проведен дисперсионный, корреляционный и регрессионный анализы. По данным дисперсионного анализа показано, что изменчивость биометрических признаков у растений в природных популяциях зависит от их приуроченности к определенной высоте над уровнем моря. Путем применения регрессионного анализа для некоторых морфометрических признаков установлена линейная зависимость изменчивости значений в высокогорьях, которую автор считает проявлением пластичности. Для этих признаков в условиях высокогорий отмечено уменьшение морфоструктурных параметров побега. Автором сделан справедливый вывод, который согласуется с литературными данными, о том, что сокращение числа и размеров некоторых органов у изученных растений способствует ускорению развития побегов и быстрому созреванию семян, и тем самым позволяет сохранить генеративную функцию в суровых условиях высокогорий.

Для активности водорастворимых ИТ линейной зависимости изменчивости АИТ по градиенту высоты установлено не было. Отсутствие уменьшения значений АИТ у изученных видов бобовых растений по градиенту высоты в горах является статистически достоверным. Автор

полагает, что эта особенность способствует сохранению устойчивости растений в сложных высокогорных условиях, а средние для популяции значения АИТ формируются у растений в зависимости от влияния местных условий независимо от высотного градиента. Воздействие погодных условий на АИТ было показано на примере *H. theinum* в культуре, когда из-за аномально резких перепадов температуры в начале периода вегетации у растений этого вида в течение всего вегетационного сезона сохранялись наиболее высокие за весь период наблюдений значения АИТ.

Теоретическая и практическая значимость результатов работы

Теоретическая значимость работы состоит в получении большого объёма новой информации об изменчивости количественных признаков у ряда представителей родов *Astragalus L.* и *Hedysarum L.*, при сравнительном анализе параметров растений в различных дикорастущих и культивируемых популяциях. Установлены закономерности и тенденции изменчивости признаков в зависимости от местообитания, эколого-географических и погодных условий, возраста растений. Характеристика изменений, происходящих при увеличении высоты произрастания популяций изученных видов, пополнит теоретические сведения об адаптивных возможностях растений в высокогорных условиях. Определены основные стратегические направления использования показателя активности ингибиторов трипсина в селекции кормовых и лекарственных растений. Помимо значительного вклада в ботаническую науку России, диссертация является ценным методологическим основанием для подобного рода исследований.

Полученные автором результаты могут быть применены в практических целях для отбора форм растений из природных популяций, так как известно, что он наиболее эффективен в популяциях с высоким варьированием значений количественных признаков. Результаты исследований могут быть использованы на практике с целью получения устойчивых форм под ежегодным контролем значений АИТ в определенном местонахождении с учетом фазы сезонного и онтогенетического развития.

Структура и содержание диссертационной работы

Диссертация изложена на 406 страницах. Данные наблюдений и экспериментов представлены в 26 таблицах и 12 приложениях, иллюстрированы 60 рисунками. Работа содержит 5 глав, из которых 3 посвящены непосредственному описанию результатов анализа экспериментальных и статистических данных, полученных автором и другими исследователями, и включают биологическую интерпретацию результатов. Завершают диссертацию общие выводы, библиографический список из 482 наименований, в том числе 248 на иностранных языках.

Первая глава представляет собой подробный литературный обзор по проблеме активности ингибиторов протеиназ и морфологической изменчивости растений в связи с адаптацией.

Во второй главе содержится характеристика изучаемых видов, подробная методика исследований, описание климатические особенностей Алтая, Западной и Восточной Сибири с учётом вертикальной зональности.

Третья глава посвящена исследованию межвидовой и внутривидовой изменчивости АИТ у бобовых, её динамике по годам, в течение сезона и онтогенеза. Приводятся результаты экспериментов по влиянию дефолиации на АИТ и различных способов термической обработки с целью инактивации ИТ в растительном материале.

Четвёртая глава содержит подробные результаты наблюдений по изменчивости морфометрических признаков и АИТ у *Hedysarum gmelinii* и *H. austrosibiricus* в условиях равнин и гор Южной Сибири.

В пятой главе приведены результаты изучения изменчивости морфометрических признаков и АИТ у *Astragalus austrosibiricus* и *A. mongholicus* в разных эколого-географических условиях.

Завершая общий анализ диссертационной работы Е.В. Жмудь, следует еще раз подчеркнуть большой объём и трудоёмкость проделанной работы: с помощью различных методов исследования и обобщения огромной массы данных на обширной территории Южной Сибири выявлены закономерности

формирования архитектоники астрагалов и копеечников и дана характеристика разнообразия по признаку активности ингибиторов трипсина в надземных частях.

Вопросы и замечания по диссертации

1. Для удобства читателей следовало дать список сокращений и терминов перед текстом, а не после.

2. В диссертации по ботанике желательно давать более полное ботаническое описание изученных видов, тем более со спорной систематикой и дизъюнктивным ареалом. Например, не упоминаются такие важные таксономические признаки бобовых, как окраска венчика, число листочков в сложном листе. Есть ли вариации по таким признакам в разных популяциях?

3. Обоснование защитной функции ингибиторов трипсина против поедания животными не слишком убедительно. Имеется ли информация о массовой гибели насекомых – вредителей бобовых? Или о формировании негативного условного рефлекса у коров, объевшихся люцерной? Возможно, антипитательное действие ИТ на животных – это всего лишь побочный эффект?

4. Стр. 31, абз. 1, 2. Нельзя согласиться с перспективностью производства трансгенных растений с высокой АИТ для повышения урожайности и устойчивости к вредителям. Если пыльца ГМ растений с ингибиторами трипсина сои вредоносна для пчёл, то эти растения губят также всех диких опылителей и опасны в плане экологии. Безусловно, фитомасса таких ГМ растений не полезна для скота и людей, а желанная выгода от повышения продуктивности с избытком перекрывается затратами на инактивацию ИТ в кормовой массе и зерне.

5. Стр. 34, абз. 1. Кажется сомнительной возможность адекватного терапевтического использования ингибиторов протеаз, регулирующих оплодотворение, дифференцировку тканей и органов, регенерацию и апоптоз. Имеется информация о регуляции этих процессов на уровне целостного

организма, поэтому вмешательство извне в ход процессов морфогенеза может принести вред.

6. Стр. 41, абз. 2. «Мы считаем, что пластичность признаков – это частный случай их изменчивости» – заявляет автор, чтобы четырьмя строками ниже согласиться с Ю.А. Злобиным, по мнению которого «...изменчивость и пластичность морфогенетических признаков у растений – два разных их свойства». Что соискатель понимает под изменчивостью и пластичностью?

7. Стр. 78, абз. 1. Указано, что определяли АИТ в семенах четырёх сортов сои, но в тексте приведены названия только двух сортов: СибНИИСХоз-6 и СибНИИК-315. Сорт «ООО Викор» мне не известен, возможно, это название компании, предоставившей семена?

8. Стр. 119, абз. 2. Повышение АИТ в фазе цветения у копеечника чайного в Ботаническом саду ТГУ в 2009 г. объясняется холодовым стрессом. Пониженный уровень АИТ в фазе цветения того же вида в 2010 г. объясняется той же причиной и теми же словами (стр. 122, абз 1 снизу).

9. Судя по формулировкам актуальности темы исследований, проводился отбор генотипов с низким или высоким уровнем АИТ. Следовало бы дать описание перспективных форм, и после выводов – рекомендации для практического использования в селекции новых сортов кормовых и лекарственных растений.

Общая характеристика диссертационной работы

Выводы и утверждения соискателя представляются обоснованными. Диссертация является законченным научным исследованием, которое открывает широкие перспективы для дальнейшего развития темы. Автореферат соответствует предъявляемым требованиям и основному содержанию диссертации, замечания по его тексту отсутствуют, выводы соответствуют содержанию. Текст написан хорошим литературным языком, логично и последовательно. Достоинством работы является наличие выводов по каждой главе. Результаты диссертационной работы, выносимые на

защиту, прошли достаточную апробацию на 19 научных конференциях и отражены в 34 публикациях, 17 из которых опубликованы в журналах, рекомендованных ВАК РФ.

Таким образом, диссертация Елены Викторовны Жмудь на соискание ученой степени доктора биологических наук является научно-квалификационной работой, в которой на основании проведенных автором исследований разработаны теоретические положения, совокупность которых можно квалифицировать как научное достижение.

Диссертационная работа Елены Викторовны Жмудь соответствует требованиям пункта 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842, и полностью соответствует требованиям ВАК, предъявляемым к докторским диссертациям, а автор – присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.02.01 – ботаника.

Официальный оппонент

Доктор биологических наук,
(06.01.05 – «Селекция и семеноводство»),
главный научный сотрудник

Рожанская Ольга Александровна

Лаборатория генетики и биотехнологии
кормовых культур Сибирского НИИ кормов
СФНЦА РАН
630501 п. Краснообск Новосибирского р-на
Новосибирской обл., а/я 276, СибНИИ кормов;
Тел. +7.913.633.9331; (383)348-62-01;
e-mail olgarozhanska@yandex.ru
<http://www.sibkorma.ru>

Отзыв О.А. Рожанской заверяю:

Главный ученый секретарь СФНЦА РАН,
доктор сельскохозяйственных наук _____

Горобей Ирина Михайловна

30.09.2016