

Сведения о результатах публичной защиты

Игнатенко Анна Анатольевна

Диссертация «Участие антиоксидантной системы в регуляции холодоустойчивости растений пшеницы и огурца салициловой кислотой и метилжасмонатом»

Члены диссертационного совета Д 002.211.02, присутствовавшие на заседании по защите диссертации: д.б.н. Ярмишко В.Т., д.б.н. Слемнев Н.Н., д.б.н. Лянгузова И.В., д.б.н. Андреев М.П., д.б.н. Буданцев А.Л., д.б.н. Казнина Н.М., д.б.н. Кислюк И.М., д.б.н. Медведев С.С., д.б.н. Новожилов Ю.К., д.б.н. Потемкин А.Д., д.б.н. Сафронова И.Н., д.б.н. Тарасова В.Н., д.б.н. Холод С.С., д.б.н. Шереметьев С.Н., д.б.н. Шишова М.Ф., д.б.н. Шнеер В.С., д.б.н. Юрковская Т.К.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 002.211.02, СОЗДАННОГО НА БАЗЕ Федерального государственного бюджетного учреждения науки Ботанического института им. В.Л. Комарова Российской академии наук ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 22 мая 2019 г. № 104

О присуждении Игнатенко Анне Анатольевне, гражданину Российской Федерации, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Участие антиоксидантной системы в регуляции холодоустойчивости растений пшеницы и огурца салициловой кислотой и метилжасмонатом» по специальности 03.01.05 – «Физиология и биохимия растений» принята к защите «4» марта 2019 года, протокол № 99 диссертационным советом Д 002.211.02 на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Ботанического института им. В.Л. Комарова Российской академии наук, 197376, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, дом 2, приказы Рособрнадзора № 737-465 от 04.04.2008,

№ 426-214 от 15.03.2010, приказы Минобрнауки России № 194/нк от 22.04.2013, № 153/нк от 15.02.2016, № 403/нк от 10.05.2017; № 409/нк от 12.04.2018, приказ Министерства науки и высшего образования РФ № 175/нк от 02.10.18, приказ № 335/нк от 18.04.2019.

Соискатель Игнатенко Анна Анатольевна, 1992 года рождения, в 2014 г. окончила с отличием Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Петрозаводский государственный университет». В 2018 г. окончила очную аспирантуру Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра «Карельский научный центр Российской академии наук» по специальности 03.01.05 – «Физиология и биохимия растений».

Работает стажером-исследователем в Институте биологии – обособленном подразделении Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра «Карельский научный центр Российской академии наук».

Диссертация выполнена в лаборатории экологической физиологии растений Института биологии – обособленном подразделении Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра «Карельский научный центр Российской академии наук».

Научный руководитель: доктор биологических наук, ТАЛАНОВА Вера Викторовна, Институт биологии – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра «Карельский научный центр Российской академии наук», лаборатория экологической физиологии растений, главный научный сотрудник.

Официальные оппоненты:

ШАКИРОВА Фарида Миннихановна, доктор биологических наук, профессор, Институт биохимии и генетики – обособленное структурное

подразделение Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, заведующая лабораторией молекулярных механизмов устойчивости растений к стрессам;

ЛУКАТКИН Александр Степанович, доктор биологических наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н. П. Огарева», заведующий кафедрой ботаники, физиологии и экологии растений дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук, г. Иркутск, в своем положительном отзыве, подписанном Грабельных Ольгой Ивановной, доктором биологических наук, главным научным сотрудником лаборатории физиологической генетики, Дорофеевым Николаем Владимировичем, кандидатом биологических наук, заместителем директора по прикладной и инновационной работе, заведующим лабораторией физиолого-биохимической адаптации растений, Поморцевым Анатолием Владимировичем, кандидатом биологических наук, научным сотрудником лаборатории физиолого-биохимической адаптации растений, указала, что диссертация А. А. Игнатенко является оригинальной законченной научно-квалификационной работой. В целом, работу отличает актуальность проблемы, методический уровень, объем, достоверность и новизна полученных результатов, их теоретическая и практическая значимость, а также обоснованность сделанных выводов.

Соискатель имеет 25 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации опубликовано 25 работ, из них в рецензируемых научных изданиях опубликовано 7 работ.

Основные работы, опубликованные по теме диссертации:

1. **Фенько (Игнатенко) А.А.**, Репкина Н.С., Таланова В.В. Влияние салициловой кислоты на холодоустойчивость проростков огурца // Труды Карельского научного центра РАН. 2015. № 11. С. 26–34.

2. **Игнатенко А.А.**, Репкина Н.С., Титов А.Ф., Таланова В.В. Реакция растений огурца на низкотемпературные воздействия разной интенсивности // Труды Карельского научного центра РАН. 2016. №11. С. 57–67.

3. Репкина Н.С., **Игнатенко А.А.**, Панфилова К.М., Титов А.Ф., Таланова В.В. Динамика активности супероксиддисмутазы и экспрессия кодирующих ее генов в листьях пшеницы при холодной адаптации // Труды Карельского научного центра РАН. 2017. №5. С. 89–98.

4. Таланова В.В., Титов А.Ф., Репкина Н.С., **Игнатенко А.А.** Влияние абсцизовой кислоты на экспрессию генов про- и антиапоптотического белков у растений огурца при низких температурах // Доклады РАН. 2017. Т. 477, №.2. С. 249–252.

5. **Игнатенко А.А.**, Репкина Н.С., Таланова В.В. Участие каталазы и пероксидазы в повышении устойчивости пшеницы к низкой температуре // Труды Карельского научного центра РАН. 2018. № 4. С.74–83.

6. Таланова В.В., Титов А.Ф., Репкина Н.С., **Игнатенко А.А.** Влияние метилжасмоната на экспрессию генов *WCS* и активность антиоксидантных ферментов при холодной адаптации пшеницы // Доклады РАН. 2018. Т. 482, №1. С. 101–104.

7. Repkina N., Talanova V., **Ignatenko A.**, Titov A. Involvement of proline and non-protein thiols in response to low temperature and cadmium stresses in wheat // *Biologia Plantarum*. 2019. Vol. 63, №1. P. 70–77.

На диссертацию и автореферат поступили 14 отзывов от:

1. **Абиловой Гуляры Абуталибовны** – к.б.н., доцента кафедры физиологии растений и теории эволюции Дагестанского государственного университета.

2. **Дыкмана Лева Абрамовича** – д.б.н., в.н.с. лаборатории иммунохимии и **Венжик Юлии Валерьевны** – к.б.н., н.с. лаборатории иммунохимии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН.
3. **Яруллиной Любови Георгиевны** – д.б.н., в.н.с. Института биохимии и генетики – обособленного структурного подразделения Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра РАН.
4. **Розенцвет Ольги Анатольевны** – д.б.н., г.н.с. лаборатории экологической биохимии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института экологии Волжского бассейна РАН.
5. **Колупаева Юрия Евгеньевича** – д.б.н., профессор, зав. кафедрой ботаники и физиологии растений Харьковского национального аграрного университета им. В.В. Докучаева.
6. **Ветчинниковой Лидии Васильевны** – д.б.н., г.н.с. лаборатории лесных биотехнологий Института леса Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра «Карельский научный центр РАН».
7. **Марковской Евгении Федоровны** – д.б.н., профессора кафедры ботаники и физиологии растений Института биологии, экологии и агротехнологий Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Петрозаводский государственный университет».
8. **Абдрахимовой Йолдыз Раисовны** – к.б.н., доцента кафедры биохимии, биотехнологии и фармакологии Института фундаментальной медицины и биологии Казанского (Приволжского) федерального университета.
9. **Высоцкой Лидии Борисовны** – д.б.н., в.н.с. Уфимского института биологии – обособленного структурного подразделения Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра РАН.

10. **Кособрюхова Анатолия Александровича** – д.б.н., руководителя группы экологии и физиологии фототрофных организмов Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт фундаментальных проблем биологии РАН.
11. **Веселова Александра Павловича** – д.б.н., профессора кафедры биохимии и биотехнологии Института биологии и биомедицины ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского» Министерства науки и высшего образования РФ.
12. **Головко Тамары Константиновны** – д.б.н., г.н.с. Института биологии Коми НЦ УрО РАН Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра «Коми научный центр УрО РАН».
13. **Фархутдинова Рашита Габдулхаевича** – д.б.н., заведующего кафедрой биохимии и биотехнологии биологического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Башкирский государственный университет» Министерства образования и науки РФ.
14. **Мошкова Игоря Евгеньевича** – д.б.н., заведующего лабораторией зимостойкости Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН.

Все отзывы положительные. В отзывах отмечено, что диссертационная работа является актуальным, оригинальным и законченным исследованием. Представленное диссертационное исследование выполнено на высоком научном уровне с использованием современных физиолого-биохимических и молекулярно-генетических методов. Полученные диссертантом результаты отличаются новизной, научно-практической значимостью и могут быть использованы при решении задач, связанных с повышением устойчивости растений к неблагоприятным условиям (пониженным температурам)

окружающей среды. Выводы диссертации логично вытекают из обсуждения полученных результатов, аргументированы, убедительны, соответствуют поставленным задачам и базируются на оригинальном материале.

В некоторых отзывах содержатся замечания, предложения, пожелания.

Розенцвет Ольга Анатольевна отмечает, что в автореферате отсутствуют обсуждаемые в заключении данные о содержании пероксида водорода и на рисунке 4 а,б нет данных о контрольных значениях для растений, выращенных при 22°C. Также Розенцвет О.А. спрашивает зачем перенесена «обойма» ссылок на литературные источники из актуальности исследования в отдельные разделы и заключение.

Колупаев Юрий Евгеньевич обращает внимание на то, что в автореферате не хватает данных по влиянию экспозиции растений огурца при 12°C на их устойчивость к низким повреждающим температурам, а также отмечает, что не совсем правомочно в заглавии подраздела говорить об «участи» салициловой кислоты и метилжасмоната в реакциях пшеницы и огурца на низкотемпературные воздействия, если не исследовалось эндогенное содержание этих фитогормонов. В этом случае корректнее говорить об индуцировании устойчивости и защитных механизмов при действии на растения экзогенных салициловой кислоты и метилжасмоната.

Ветчинникова Лидия Васильевна спрашивает о возможности использования полученных результатов для разработки состава питательной среды при длительном выращивании растений *in vitro* в условиях низких положительных температур.

Абдрахимова Йолдыз Раисовна указывает, что не совсем корректно сравнивать разные виды (пшеница и огурец) по устойчивости к низким температурам по разным показателям ЛТ₅₀ и экзосмосу электролитов и отмечает, что «слабым звеном» рецензируемой работы представляется ограниченный набор низкомолекулярных антиоксидантов, представленный в виде пролина, между содержанием которого и жизнеспособностью проростков огурца отсутствует прямая корреляция. Также у Абдрахимовой

Й.Р. во время знакомства с авторефератом возникло несколько вопросов: 1) почему не был выбран более эффективный режим закаливания проростков огурца при 9°C? 2) какой возможный механизм «сдерживания» окислительного стресса в течение 3х суток действия повреждающей температуры на растения огурца? 3) можно ли говорить, что салициловая кислота не является ингибитором каталазы у изученных объектов при гипотермии? 4) что можно сказать о взаимоотношениях сигнальных путей салициловой кислоты и метилжамоната у изученных объектов?

Марковская Евгения Федоровна отмечает, что 1) рабочую гипотезу в цели работы можно было бы сформулировать по-другому, чтобы учесть вариант ее неподтверждения; 2) в научной новизне первый абзац не является новизной с точки зрения имеющейся по этой проблеме литературы; 3) первое положение, выносимое на защиту, имеет низкий уровень новизны; 4) первый вывод по работе был показан работами предыдущих исследователей.

Веселов Александр Павлович предлагает рассматривать установленное в работе снижение уровня пероксида водорода и малонового диальдегида за счет активизации работы антиоксидантной системы под влиянием фитогормонов не как снижение интенсивности окислительного стресса, а как устранение дисбаланса в про- и антиоксидантом равновесии.

Головко Тамара Константиновна спрашивает 1) почему в таблице 1 и на рисунке 2 обработка данных по пшенице и огурцу проводилась по-разному; 2) в чем состоит главное отличие реакции теплолюбивого огурца и холодоустойчивой пшеницы на температуру 4°C?

Мошков Игорь Евгеньевич в качестве рекомендации для дальнейших исследований предлагает изучить динамику изменения эндогенного содержания салициловой кислоты и метилжасмоната при закаливании.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается тем, что Шакирова Фарида Миннихановна является специалистом-физиологом растений, имеет публикации в области изучения

гормональной регуляции устойчивости растений к стрессовым факторам среды; Лукаткин Александр Степанович является специалистом-физиологом растений, имеет публикации в области изучения механизмов холодоустойчивости и ее повышения путем применения регуляторов роста гормональной природы. Ведущая организация Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Сибирский институт физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук известна своими достижениями в области изучения физиолого-биохимических и молекулярно-генетических механизмов низкотемпературной адаптации растений, что позволяет организации определить научную и практическую значимость диссертации.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований: изучена ответная реакция контрастных по холодоустойчивости растений (пшеница и огурец) на низкотемпературные воздействия, различающиеся по интенсивности (закаливающее или повреждающее) и продолжительности (кратковременное или длительное); доказано, что закаливающие температуры вызывают формирование холодоустойчивости пшеницы и огурца, тогда как продолжительное повреждающее воздействие вызывает снижение устойчивости растений огурца; выявлено, что активизация работы антиоксидантной системы является общей реакцией пшеницы и огурца на длительное действие низких закаливающих и кратковременное действие повреждающей температур; доказано наличие связи между активностью антиоксидантных ферментов (супероксиддисмутазы, каталазы и гваякол-специфичной пероксидазы) и формированием холодоустойчивости растений пшеницы и огурца; установлено, что у растений пшеницы и огурца салициловая кислота и метилжасмонат в низкотемпературных условиях вызывают повышение активности антиоксидантных ферментов (супероксиддисмутазы, каталазы и гваякол-специфичной пероксидазы) и экспрессии кодирующих их генов

(*Cu/ZnSOD*, *FeSOD*, *MnSOD* и *CAT*), усиливают накопление пролина и мРНК генов *WP5CS* и *WP5CR*, кодирующих ферменты его синтеза, а также индуцируют увеличение содержания транскриптов гена дегидрина (*WCS120*).

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что: доказаны положения, вносящие вклад в расширение представлений о механизмах низкотемпературной адаптации контрастных по холодоустойчивости растений; применительно к проблематике диссертации результативно (эффективно, то есть с получением обладающих новизной результатов) использован комплекс физиолого-биохимических, молекулярно-генетических и статистических методов; показано, что ответная реакция контрастных по холодоустойчивости растений пшеницы и огурца зависит от интенсивности и продолжительности низкотемпературного воздействия; выявлено участие антиоксидантной системы в ответной реакции растений пшеницы и огурца на действие низких положительных температур; предложена научная гипотеза, согласно которой формирование повышенной холодоустойчивости особей пшеницы и огурца при действии низких закалывающих температур и снижение негативного действия на растения повреждающей температуры, индуцируемое салициловой кислотой и метилжасмонатом, обусловлено тем, что они вызывают активизацию работы антиоксидантной системы; раскрыта возможная причина активизации антиоксидантной системы у изученных растений в низкотемпературных условиях под влиянием салициловой кислоты и метилжасмоната, заключающаяся в усилении окислительного стресса.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что: определена возможность использования салициловой кислоты и метилжасмоната для повышения стрессоустойчивости (холодоустойчивости) растений, в частности, при разработке технологий выращивания растений в регионах с неблагоприятными природно-климатическими условиями; создана (представлена) схема о влиянии салициловой кислоты и метилжасмоната на

реакцию растений при оптимальной и низкой температурах; представлены данные о влиянии салициловой кислоты и метилжасмоната в разных концентрациях на холодоустойчивость пшеницы и огурца, которые могут быть использованы при выборе оптимальных концентраций фитогормонов для повышения стрессоустойчивости растений; основные научные результаты и выводы диссертационной работы могут быть использованы при чтении курсов лекций для студентов биологических, экологических и сельскохозяйственных специальностей.

Оценка достоверности результатов исследования выявила: для экспериментальных работ использовалось сертифицированное оборудование, подтверждена воспроизводимость результатов исследования в различных условиях; теория построена с учетом известных данных и фактов по влиянию низких температур на растения и согласуется с опубликованными экспериментальными данными по теме диссертации; основная научная идея базируется на анализе имеющихся в литературе сведений и авторского оригинального материала; использованы авторские оригинальные данные о механизмах устойчивости контрастных по холодоустойчивости растений к низким положительным температурам; установлено качественное и/или количественное совпадение авторских результатов с результатами, представленными в независимых источниках по данной тематике, в тех случаях, когда сравнение является обоснованным; использованы современные физиолого-биохимические и молекулярно-генетические методы исследований, в том числе спектрофотометрический метод, метод полимеразной цепной реакции в режиме реального времени, анализ результатов проведен с использованием стандартных статистических методов.

Личный вклад соискателя состоит в планировании и проведении экспериментальной работы, в статистической обработке, анализе, обобщении и интерпретации полученных данных, а также в написании статей,

опубликованных по результатам работы и представлении результатов на научных конференциях. Диссертация написана автором самостоятельно.

Диссертация охватывает основные вопросы поставленной научной задачи и соответствует критерию внутреннего единства, что подтверждается наличием последовательного плана исследований, непротиворечивой методологической платформы, следованием основной идейной линии, концептуальностью и взаимосвязью выводов.

Диссертационным советом сделан вывод о том, что диссертация «Участие антиоксидантной системы в регуляции холодоустойчивости растений пшеницы и огурца салициловой кислотой и метилжасмонатом» представляет собой научно-квалификационную работу, соответствует критериям, установленным Положением п. 9 «О порядке присуждения ученых степеней», утвержденным постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842.

На заседании 22 мая 2019 г. диссертационный совет принял решение присудить Игнатенко А. А. ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 17 человек, из них 8 докторов биологических наук по специальности 03.01.05 – «Физиология и биохимия растений», участвовавших в заседании, из 21 человека, входящих в состав совета, дополнительно введены на разовую защиту 0 человек, проголосовали: за 16, против 0, недействительных бюллетеней 1.

Председатель

диссертационного совета

Ярмишко Василий Трофимович

Ученый секретарь

диссертационного совета

Лянгузова Ирина Владимировна

22 мая 2019 г.

