"УТВЕРЖДАЮ"
Врио директора
Федерального государственного
бюджетного учреждения науки
Центральный Сибирский ботанический сад
Сибирского отделения Российской академии наук
д.б.н. Е.В. Банаев
"19" 08 2020 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

на диссертацию Казанцевой Варвары Викторовны «Особенности образования фенольных соединений в растениях гречихи (*Fagopyrum esculentum*) в норме и в условиях стресса», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.05 – физиология и биохимия растений

Актуальность темы диссертационной работы

Фенольные соединения (ФС) относятся к числу важных метаболитов растений, функциональная роль которых чрезвычайно разнообразна. Известно их участие в регуляции роста и развития растений, энергетических процессов (фотосинтез, дыхание), а также защиты от действия различных стрессовых факторов. Кроме того, эти вторичные метаболиты успешно используются в медицине в качестве лекарственных препаратов широкого спектра действия, что в значительной степени обусловлено их антиоксидантной активностью.

Несмотря на значительные успехи в изучении структура ФС, их свойств и путей биосинтеза до сих пор знания об их накоплении на начальных этапах онтогенеза растений, в том числе в условиях действия неблагоприятных факторов внешней среды, вызывают много вопросов. Это обусловлено их структурным разнообразием, компартментацией и видоспецифичностью образования. В связи с этим выбор Казанцевой Варварой Викторовной в качестве объекта исследования растений гречихи посевной (Fagopyrum esculentum Moench) важен и актуален, поскольку эта культура широко востребована в не только в пищевой, но в и фармацевтической промышленности как продуцент ФС, в частности рутина - вещества с высокой антиоксидантной активностью.

Цель работы заключалась в изучении особенностей образования различных классов ФС на начальных этапах онтогенеза гречихи посевной в норме и при действии стрессовых (рост-ингибирующих) факторов (тяжелые металлы, низкие положительные температуры). Автором были поставлены задачи направленные на сравнение накопления этих метаболитов в надземных

органах проростков различных сортов гречихи; изучение динамики образования ФС и активности L-фенилаланинаммиаклиазы (ФАЛ) в надземных органах проростков двух генотипов гречихи с различным уровнем плоидности (2n и 4n), а также выяснении влияния кадмия (Cd) и низкой положительный температуры на рост, образование ФС и их состав. В этой связи тема диссертации «Особенности образования фенольных соединений в растениях гречихи (*Fagopyrum esculentum*) в норме и в условиях стресса» представляется актуальной и практически важной.

Структура и содержание диссертационной работы

Диссертационная работа написана по традиционному плану. Она состоит из введения, обзора литературы, разделов материалы и методы исследований, результаты исследований и их обсуждение, заключения, выводы. Материалы диссертации изложены на 179 страницах машинописного текста, содержат 52 рисунка и 13 таблиц. Список литературы включает 372 источника, в том числе 228 зарубежных.

Во введении определены цель и задачи исследования, отмечена его научная новизна и практическая значимость, приводятся сведения об апробации работы, структуре и объеме диссертации.

Обзор литературы представлен тремя разделами. В разделе 1.1 приводятся сведения о ФС и их роли в жизнедеятельности растений, включая их структуру, пути биосинтеза, распространение и функциональную роль. Следующий раздел (1.2) посвящен стрессу и его влиянию на растения, где представлены основные понятия о стрессе, роли антиоксидантной системы, стрессорах и их влиянии на растения. В разделе 1.3 уделено внимание объекту исследования – гречихе посевной, в том числе ее ботанической характеристике, этапам онтогенеза, продуктивности, влиянию экологических факторов и способности к образованию различных биологически активных веществ, включая ФС. В целом, обзор литературы написан хорошим языком и касается тех проблем, которые имеют непосредственное отношение к теме диссертационной работы. Литературные данные представлены в достаточном объеме, включая работы как отечественных, так и зарубежных исследователей.

В главе 2 «Материалы и методы исследования» приводится описание объектов исследования, условий проведения лабораторных опытов, методов исследования, которые весьма разнообразны. Это определение содержания различных классов ФС, включая фенилпропаноиды и флавоноиды, активности основного фермента фенольного метаболизма – ФАЛ, содержания малонового диальдегида и кадмия в надземных органах проростков. Приоритетом работы является использование метода высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) для сравнения состава и содержания основных соединений фенольного

комплекса надземных органов проростков двух генотипов гречихи, выращиваемых в стандартных условиях и при действии стрессовых факторов. Сообщается о методиках, использованных для оценки роста проростков. Все это свидетельствует о хорошей методической подготовке В.В. Казанцевой и владении ею разнообразными физиологическими и биохимическими методами.

В главе 3 излагаются собственные экспериментальные данные. Приводятся сведения о содержании различных классов ФС, в том числе фенилпропаноидов и флавоноидов, у проростков 10 различных сортов гречихи посевной, внесенных в Госреестр России. Показано, что на ранних этапах онтогенеза они достаточно близки по их накоплению, за исключением сорта Башкирская красностебельная, характеризующегося более высокой биосинтетической способностью. Результатом этого этапа работы был выбор двух сортов гречихи (Девятка и Большевик 4) диплоидного и тетраплоидного генотипов (ДГГ и ТГГ, соответственно). Изучение начальных этапов их онтогенеза показало, что по мере развития проростков содержание основных компонентов фенольного комплекса в гипокотилях ДГГ в основном уменьшалось, тогда как у ТГГ – увеличивалось, а в семядольных листьях - возрастало, что в болеьшей степени проявлялось у ДГГ. Высказывается тезис о том, что на ранних этапах онтогенеза у растений гречихи с различных уровнем плоидности (2n и 4n) проявляются отличия в биосинтезе этих вторичных метаболитов.

Следующим этапом работы было изучения влияния двух стрессовых факторов - Cd и гипотермии на рост и накопление ФС в проростках двух генотипов гречихи. Поступление металла вызывало снижение содержания всех исследованных классов ФС в надземных органах ДГГ, тогда как у проростков ТГГ их уровень не изменялся в гипокотилях, а в семядольных листьях возрастал, что коррелировало с активностью основного фермента фенольного метаболизма – ФАЛ. Иная тенденция проявлялась при кратковременном и длительном воздействии гипотермии (5°С). В большинстве случаев оно не вызывало изменений в накоплении ФС в надземных органах проростков гречихи, за исключением гипокотилей, у которых количество фенилпропаноидов снижалось, а антоцианов - увеличивалось и этот эффект зависел от длительности температурного воздействия и генотипа гречихи.

Интересным и важным аспектом работы было изучение состава и содержания основных компонентов фенольного комплекса надземных органов проростков двух генотипов гречихи и его изменений при действии стрессовых факторов с использованием метода ВЭЖХ. Он позволил установить наличие в них фенилпропаноидов (хлорогеновая кислота), флавонов (ориентин, изоориентин, витексин, изовитексин) и флавонолов (рутин) уровень которых в большинстве случаев был выше у ТГГ. Показано, что в гипокотилях доминировали фенилпропаноиды и флавонолы, а в семядольных листьях – флавоны и флавонолы, что является

свидетельством отличий в биосинтезе ФС в различных органах растений. Приводятся сведения об изменениях в количестве отдельных представителей фенольного метаболизма в надземных органах проростков гречихи при действии стрессовых факторов.

В разделе «Заключение» Варвара Викторовна Казанцева обобщила полученные экспериментальные данные, обосновала основные положения работы, отметила возможность практического использования полученных результатов.

Выводы, представленные в диссертации, обоснованы и соответствуют целям и задачам работы.

Оценка оформления диссертационной работы

Диссертационная работа В.В. Казанцевой, написана хорошим профессиональным языком, все экспериментальные данные статистически обработаны и представлены на 52 рисунках и в 13таблицах.

Степень новизны результатов научных исследований

Впервые проведено сравнение содержания основных классов ФС гречихи посевной (*F. Esculentum* Moench), в том числе фенилпропаноидов и флавоноидов, у проростков 10 разных сортов, внесенных в Госреестр России. Показан достаточно близкий их уровень в надземных органах, за исключением сорта Башкирская красностебельная, обладающего более высокой биосинтетической способностью. Выявлены схожие тенденции в накоплении ФС на начальных этапах онтогенеза диплоидного (ДГГ) и тетраплоидного (ТГГ) генотипов гречихи. Показано снижение роста проростков в присутствии Cd, который преимущественно накапливался в корнях, а также отличия в содержании полифенолов в надземных органах ДГГ и ТГГ. Впервые установлено, что проростки контрастные по плоидности имеют отличающийся ответ растительных клеток на действие гипотермии, что выражалось в различиях характера изменений активности ФАЛ, а также в преимущественном снижении содержания изучаемых вторичных метаболитов у ДГГ и отсутствии изменений в накоплении ФС у ТГГ. Использование метода ВЭЖХ позволило изучить состав и содержание основных соединений фенольного комплекса надземных органов проростков двух контрастных по плоидности генотипов гречихи, выращиваемых в стандартных условиях и при действии стрессовых факторов.

Научная и практическая значимость результатов

Диссертационная работа Варвары Викторовны Казанцевой совмещает в себе фундаментальность исследований и их практическую значимость. Полученные соискателем результаты важны для развития фундаментальных представлений о физиолого-биохимических аспектах роста и развития растений, а также их устойчивости к стрессовым воздействиям, что особенно ценно для используемой в промышленных масштабах фенол-продуцирующей культуры гречихи посевной, в том числе с различным уровнем плоидности (2n и 4n). Они

важны для понимания процессов регуляции фенольного метаболизма растений. Результаты работы по влиянию стрессовых факторов на начальные этапы онтогенеза двух генотипов гречихи, важны при разработке технологий выращивания этой культуры в регионах с неблагоприятными природно-климатическими условиями.

Материалы диссертации могут быть использованы при чтении курсов лекций для студентов биологических, экологических и сельскохозяйственных специальностей.

Полнота опубликованности положений и результатов диссертации

Основные положения и результаты исследований по диссертации В.В. Казанцевой опубликованы в 19 печатных работах (в том числе 2 - в журналах, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России). Результаты исследований апробированы на российских и международных конференциях. Рукопись автореферата соответствует содержанию диссертации, результатам и положениям, выносимым на защиту.

Вопросы, замечания и комментарии к диссертационной работе

К работе имеются некоторые замечания:

1. В названии диссертации «Особенности образования фенольных соединений в растениях гречихи (*Fagopyrum esculentum*) в норме и в условиях стресса», а также в цели и в задачах 3 и 4 вместо слова «образование» было бы точнее по смыслу работы использовать слова «содержание и состав» или «накопление» фенольных соединений, так как слово «образование» подразумевает процесс синтеза вещества из составляющих компонентов, а в работе поскольку это не планировалось, таких результатов нет.
2. В литературном обзоре целесообразно было бы на основании проанализированных источников сделать вывод о необходимости проведения исследований изложенных в данной работе.
3. В первом защищаемом положении необходимо подкорректировать фразы «Содержание фенольных соединений» ……«имело близкие значения» …….т. к. содержание чего-либо не может само по себе что-то иметь.
4. В подписях к рисункам 24, 25, 26, 27, 32 слово «изменения» в содержании лучше убрать и использовать его в разделах Результаты или Обсуждение или при необходимости лучше использовать слово «динамика».
5. В тексте, как диссертации, так и автореферата встречаются стилистические ошибки и неточности.

Кроме того,

При аналитическом рассмотрении представленных в диссертационной работе материалов возникают следующие вопросы:

6. Чем обусловлен выбор двух генотипов гречихи для изучения влияния стрессоров на образование ФС?

7. Почему в работе приводятся сведения о распределении Cd во всех органах проростков гречихи, а исследования по накоплению ФС проведены только в надземных органах?

8. Несмотря на отличия в содержании ФС в надземных органах проростков гречихи крайне редко они коррелируют с изменениями в активности ФАЛ, как это можно объяснить?

Высказанные замечания не носят принципиального характера, не затрагивают сути научных выводов, сделанных диссертантом, и не умаляют значения представленной работы, выполненной, в целом, на хорошем научном и методическом уровне.

Соответствие научной квалификации соискателя ученой степени, на которую он претендует

Результаты представленной к защите диссертации свидетельствуют о хорошей квалификации ее автора – Варвары Викторовны Казанцевой. Возвращаясь к несомненным достоинствам диссертации, следует подчеркнуть, что автором проделана большая работа. Составные части исследования осуществлены и изложены в последовательности, отражающей логику реализации конечной цели всей работы – изучить физиолого-биохимические ответы проростков гречихи, включая два их генотипа с различным уровнем плоидности, на действие стрессовых факторов. Диссертантом использованы для исследований как классические, так и современные методы физиологии и биохимии растений. Казанцева В.В. хорошо знакома с литературой по теме диссертации. Следует отметить правильность выбранной стратегии исследования и хорошую квалификацию исполнения, что положительно характеризует самого исследователя. Все вышеизложенное свидетельствует о соответствии В.В. Казанцевой ученой степени, на которую она претендует.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационная работа Казанцевой Варвары Викторовны на тему «Особенности образования фенольных соединений в растениях гречихи (*Fagopyrum esculentum*) в норме и в условиях стресса», является законченной научно-исследовательской работой, имеющей научно-практическое значение для решения вопросов в области физиологии и биохимии растений. По актуальности темы, новизне результатов, их теоретической и практической значимости диссертационная работа соответствует всем критериям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, установленным в «Положении о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842 с дополнениями от 21 апреля 2016 г. № 335. Считаем, что автор Казанцева Варвара Викторовна заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.05 – Физиология и биохимия растений.

Отзыв ведущей организации обсужден и одобрен на расширенном заседании двух лабораторий Федерального государственного бюджетного учреждения науки Центральный Сибирский ботанический сад Сибирского отделения Российской академии наук – лаборатории интродукции редких и исчезающих видов растений и лаборатории фитохимии (Протокол № 3 от 17 августа 2020 г.) и рекомендован к утверждению.

Доктор биологических наук, профессор
заведующий лабораторией интродукции редких и исчезающих видов растений,
главный научный сотрудник
Дорогина Ольга Викторовна
17.08.2020 г.
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Центральный Сибирский ботанический сад Сибирского отделения Российской академии наук,
ЦСБС СО РАН
630090, г. Новосибирск, ул. Золотодолинская, д. 101
Тел. 8(383)3399783
Факс: 8(383)3444433
e-mail: olga-dorogina@yandex.ru
Адрес официального сайта в сети Интернет: https://csbg-nsk.ru/

Подпись Дорогиной О.В.
ЗАВЕРЯЮ
Руководитель канцелярии ЦСБС СО РАН
Сухарева А.Ю.
«19» августа 2020.