

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу Боровик Ольги Андреевны «Функционирование альтернативной оксидазы и НАД(Ф)-Н-дегидрогеназ II типа в митохондриях из этиолированных и зеленых побегов озимой пшеницы при холодовом закаливании», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.05 – физиология и биохимия растений

В отличие от одноклеточных царству многоклеточных организмов свойственно понятие «продолжительность жизни», которое начинается от возникновения зиготы и завершается естественной смертью. В процессе онтогенеза многоклеточные организмы проходят последовательно четыре этапа развития: эмбриональный, ювенильный (молодость), репродуктивный (зрелость) и старости, который завершается естественной смертью. Растения пшеницы по продолжительности жизни относят к таксономической группе однолетников по той причине, что у них в течении одного года после плодоношения наступает естественная гибель материнского организма. Между тем у них все четыре этапа развития не укладываются в один сезон активной вегетации. Этот процесс разображен на два сезона. В частности, у растений видов озимой формы пшеницы сезон активной вегетации прекращается на этапе завершения ювенильного периода развития (фаза кущения) и лишь, преодолев барьер зимнего низкотемпературного воздействия, в последующий сезон активной вегетации проходят третий и четвертый этапы развития. Отсюда следует, что стрессовое холодовое воздействие на растения озимой формы пшеницы генетически детерминировано на всех уровнях организации живой системы клеток, начиная от молекулярной и завершая морфологической.

Исходя из изложенного автор диссертационной работы высказал предположение о том, что функционирование в митохондриях альтернативной оксидазы и ротенон-нечувствительных НАД(Ф)-Н-дегидрогеназ, вероятно, направлено на сохранение ростовых процессов у озимой формы пшеницы в условиях зимнего низкотемпературного воздействия. На основе серии оригинальных исследований автору впервые удалось показать, что функционирование альтернативной оксидазы и ротенон-нечувствительных

дегидрогеназ – это неотъемлемые представляющие в эволюции адаптации растений к неблагоприятной среде обитания. В этом несомненно новизна и актуальность обсуждаемой работы.

В качестве объекта исследования автором был избран озимый сорт пшеницы Иркутская, полученный в Сибирском институте физиологии и биохимии растений СО РАН, так как он обладает свойствами высокой морозоустойчивости и зимостойкости.

Трехсуточные проростки, выращенные при оптимальной температуре, автор подвергал низкотемпературной обработке и обработке сахарозой, доводя их до семисуточного возраста.

Известно, что на этапе трехсуточных проростков активность ферментов гидролиза крахмала и белка эндосперма, а также гидролиза липидов в запасающей ткани щитка, выходят на оптимальный уровень, обеспечивая высокий поток метаболитов в ткани проростка. Отсюда важно обеспечить методически оправданный подход экспериментатора в плане использования трехсуточных проростков в качестве исходного ростового старта для дальнейших исследований.

В серии экспериментов по холодовому закаливанию автору удалось показать, что закаленные проростки выдерживали температуру -10-14 °С, в то время как контрольные проростки полностью погибали при температуре -6 °С.

Показано, что холодовое закаливание индуцирует синтез дегидринов и достоверно увеличивает активность альтернативной оксидазы, повышая тем самым вклад в альтернативный путь дыхания.

Выращивание растений на растворе сахарозы в контрольных условиях увеличивало скорость окисления митохондриями сукцината в 1,5 раза. Показано, что этот эффект был обусловлен увеличением вклада в дыхание альтернативного пути дыхания, связанного с функционированием альтернативной оксидазы.

Используя метод иммуноблоттинга, автор определил влияние холодового закаливания и сахарозы на содержание в митохондриях белков альтернативной

оксидазы (АО), а также «внутренних» (NDA) и «внешних» (NDB) НАД(Ф)-Н-дегидрогеназ II типа.

Все эксперименты выполнены с использованием индукторов, ингибиторов и разобщителей пути дыхания. Реактивы были изготовлены в передовых фирмах США, Германии, Франции и Японии. Они обладали высокой степенью очистки и их применение не вызывает методического сомнения. Все результаты исследования статистически обработаны и их достоверность также не вызывает сомнения.

Диссертационная работа состоит из списка сокращений, введения, обзора литературы, описания объектов и методов исследования, результатов исследования, их обсуждения, выводов и списка литературы, включающего 232 наименования, в том числе 178 на иностранном языке. Она изложена на 178 страницах машинописного текста, содержит 37 рисунков и 4 таблицы.

Результаты исследований были автором представлены и обсуждены на российских и международных конференциях. Количество публикаций соответствует требованиям ВАК РФ для кандидатских диссертаций. Текст автореферата соответствует тексту диссертации.

В целом работа представляет собой завершенный цикл исследований, на основе которого впервые показана роль альтернативной оксидазы и ротенон-нечувствительных НАД(Ф)-Н-дегидрогеназ в молекулярных механизмах повышения морозоустойчивости озимой пшеницы. Эти данные существенно расширяют современные представления о механизмах функционирования и регуляции нефосфорилирующих путей транспорта электронов в дыхательной цепи митохондрий растений. Материалы диссертации могут быть использованы в образовательных и научно-исследовательских учреждениях по профилю рассматриваемой диссертации.

Замечания.

1. На странице 54 и далее по тексту указано, что для обогащения сахарами экспериментальных растений использовали раствор 12%-ой сахарозы. Но ведь сахароза не метаболит, а транспортная форма растворимых углеводов

для перемещения их по флоэме. По-видимому, следовало бы дать обоснование этому выбору.

2. На странице 53 и далее по тексту указано, что для получения зеленых растений их освещали непрерывно либо 16 ч, либо 24 ч. Этот прием автором работы назван фотопериодом. По нашему мнению это не фотопериод, а всего лишь продолжительность освещения растений, что вполне правомочно в данном эксперименте. Фотопериод участвует в регуляции цветения растений.

Объем научных исследований, выполненных диссертантом, соответствует требованиям ВАК РФ к кандидатским диссертациям и автор работы, Ольга Андреевна Боровик, заслуживает присуждения ей ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.05 – физиология и биохимия растений.

Официальный оппонент
 доктор биологических наук, профессор
 кафедры агроэкологии, агрохимии,
 физиологии и защиты растений
 Федерального государственного бюджетного
 образовательного учреждения высшего
 образования Иркутского государственного аграрного
 университета имени А.А. Ежевского
 (бывшее Федеральное государственное бюджетное
 образовательное учреждение высшего
 профессионального образования
 Иркутская государственная
 сельскохозяйственная академия)



664038, Иркутская обл., Иркутский р-он,
 п. Молодежный, Молодежный пер., 1/1.
 тел. (3952) 42-75-07; e-mail: sh-a-ff@mail.ru
 02.06.2015 г.

Иван Экидиусович Илли

Подпись	<i>Иван И. Илли</i>
Заверяю:	
начальник отдела кадров	
ФГБОУ ВО ИРКУТСКИЙ ГАУ	
В. Пальчикова	<i>В. Пальчикова</i>