

## ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу  
Корсуковой Анны Викторовны «Изменение холодо- и морозоустойчивости проростков злаков под действием тебуконазол-содержащего протравителя семян»,  
представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.05 – физиология и биохимия растений

### **Актуальность темы исследования**

Диссертационная работа Корсуковой А.В. посвящена изучению изменения холодо- и морозоустойчивости проростков злаков под действием тебуконазол-содержащего протравителя семян. Тебуконазол относится к производным 1,2,4-триазола. Имеются сведения о способности некоторых производных триазола, в частности ретардантов, повышать морозоустойчивость растений. Автором сделано предположение об эффективности подобных веществ в повышении морозоустойчивости растений и поддержания свойств морозоустойчивости в период раззакаливания.

Относительно механизмов повышения морозостойкости растений, их успешного выхода из закаленного состояния и роли в этом процессе ретардантов триазольной природы имеется недостаточно сведений. Тебуконазол, относящийся к производным 1,2,4-триазола, широко применяется в сельском хозяйстве в качестве системного фунгицида профилактического и лечебного действия, но относительно его участия в механизмах повышения холодо- и морозоустойчивости растений недостаточно известно.

Низкие температуры и связанные с ними разные типы повреждений ограничивают районы возделывания озимых зерновых культур, в частности в условиях резко-континентального климата Восточной Сибири. Одним из перспективных путей расширения ареала возделывания озимых злаков является получение новых сведений о механизмах повышения морозостойкости растений, их успешного выхода из закаленного состояния и роли в этом процессе ретардантов триазольной природы.

В связи с этим диссертация А.В. Корсуковой, несомненно, актуальна и важна для понимания роли тебуконазол-содержащего протравителя семян в изменении физиологических и биохимических параметров, определяющих холодо- и морозоустойчивость проростков злаков.

## **Общая характеристика диссертационной работы**

### **Структура и объем диссертации**

Диссертационная работа А.В. Корсуковой изложена на 181 странице машинописного текста и включает: список сокращений, введение, обзор литературы, описание материалов и методов, результаты исследования и их обсуждение, заключение, выводы и список литературы, из 346 работ, в том числе 157 отечественных. Экспериментальные данные отображены в 26 рисунках и 7 таблицах.

### **Введение**

Во введении автор обосновывает актуальность выбранной темы исследования и пути ее решения, формулирует цель и задачи исследований, основные положения, выносимые на защиту.

### **Обзор литературы (страницы 12-63)**

Обзор литературных источников по изучаемому вопросу отвечает цели исследования и поставленным задачам. В нем рассмотрено влияние низких температур на растения, проанализированы научные данные о механизмах низкотемпературного закаливания травянистых растений: ингибирование роста, изменение липидного и жирнокислотного состава, синтез стрессовых белков, накопление сахаров, изменение дыхательного метаболизма. Приведены сведения о процессах, протекающих в период раззакаливания травянистых растений, зависимость скорости раззакаливания от температуры и длительности ее воздействия, физиолого-биохимические изменения при раззакаливании. Также проведено обсуждение ростингибирующих соединений как модуляторов холодо- и морозоустойчивости растений: применение ретардантов в сельском хозяйстве, рассмотрены фунгициды триазольной природы как возможные регуляторы холодо- и морозоустойчивости злаков. По результатам проведенного анализа научных данных сделан вывод, что относительно механизмов повышения холодо- и морозоустойчивости растений, успешного выхода растений из закаленного состояния и роли в этом процессе ретардантов триазольной природы имеется недостаточно сведений. Тебуконазол, один из представителей триазолов, входит в состав препаратов широко применяемых в сельском хозяйстве как фунгициды. Однако механизм его действия на растения и его участие в механизмах повышения холодо- и

морозоустойчивости изучены мало. Это объясняет выбор диссертантом темы научного исследования.

### **Материалы и методы** (страницы 64-79)

В этой главе дана характеристика объектов и методов исследования. При выполнении экспериментов автором были использованы современные и классические методы исследований, современные приборы, оборудование и реактивы отечественного и импортного производства. Следует отметить, что получение диссертантом большого объема экспериментального материала стало возможным благодаря обоснованному выбору объектов исследований, широкого ряда методов исследований, соответствующих изучаемому вопросу, высокому научно-методологическому уровню. Основным объектом исследований явились этиолированные проростки злаков, которые, согласно схеме опыта, подвергались обработке ретардантами, холодovому закаливанию, раззакаливанию и затем служили материалом для изучения ростовых процессов, определения жизнеспособности клеток coleoptилей. Кроме того, в побегах этиолированных проростков злаков проводилось определение содержания водорастворимых углеводов спектрофотометрическим методом Дише, анализ метиловых эфиров жирных кислот – методом газожидкостной хроматографии. Из побегов трехсуточных этиолированных проростков злаков проведено выделение митохондрий. Полярографическим методом определяли окислительную и фосфорилирующую активность митохондрий, а также интенсивность дыхания побегов этиолированных проростков злаков. Количество белка определяли методом Лоури, предварительно проведя экстракцию суммарного клеточного, цитоплазматического и митохондриального белков, а также был использован вестерн-блоттинг для идентификации дегидринов.

Результаты исследований статистически обработаны с использованием современных методов (программный пакет SigmaPlot 12.5, ГОСТ Р ИСО 5479-2002 и др.).

### **Результаты исследования и обсуждение** (страницы 80-132)

Проведенные эксперименты по изучению роста coleoptилей побегов злаков под влиянием протравителя семян «Бункер», тебуконазола и экзогенной абсцизовой кислоты доказали, что тебуконазол-содержащий протравитель семян «Бункер» (1,5 мкл препарата на 1 г семян) эффективно ингибирует ростовые процессы проростков

злаков, но не оказывает фитотоксичного действия на клетки растений. Также было установлено, что тебуконазол-содержащий протравитель оказывает более сильное ингибирующее действие по сравнению с тебуконазолом, и автором было сделано справедливое предположение, что это связано с наличием в промышленном водно-суспензионном концентрате «Бункер» дополнительных веществ, обеспечивающих лучшее проникновение действующего вещества протравителя в клетки растений.

С целью определения безопасности использования протравителя семян «Бункер» для злаковых культур в концентрации выше рекомендованной производителем, которые даются только для достижения фунгицидного эффекта препарата, было проведено исследование жизнеспособности клеток coleoptилей злаков при помощи метода восстановления 2,3,5-трифенилтетразолия хлорида (ТТХ). Было показано, что обработка семян протравителем «Бункер» с увеличением концентрации не приводит к гибели клеток проростков, но даже способствует увеличению числа жизнеспособных клеток coleoptилей. Полученные результаты соответствуют данным, имеющимся в литературе о том, что производные триазола как ретарданты обладают низкой фитотоксичностью. Диссертантом сделано предположение, что увеличение жизнеспособности клеток coleoptилей происходит благодаря ретардантным свойствам тебуконазола – ретарданты не только замедляют процессы роста, но и отодвигают процессы старения. В связи с этим было изучено изменение жизнеспособности клеток coleoptилей (определяемое по восстановлению ТТХ) и изменение функционирования митохондрий в клетках coleoptилей этиолированных проростков озимой пшеницы в естественных условиях старения. Было установлено, что гибель клеток этиолированных проростков озимой пшеницы по типу ПКГ происходит на 5-6 сутки роста проростков и сопровождается нарушением интактности митохондрий и снижением степени сопряжения процессов окисления и фосфорилирования митохондрий, а также выходом цитохрома *c* из митохондрий в цитоплазму. Эти экспериментальные данные позволили объяснить причину более низкой жизнеспособности клеток coleoptилей пятисуточных злаков из необработанных семян по сравнению с жизнеспособностью клеток coleoptилей злаков этого же календарного возраста, выращенных из семян, обработанных тебуконазол-содержащим препаратом «Бункер».

При изучении влияния тебуконазол-содержащего протравителя семян «Бункер» на физиолого-биохимические параметры низкотемпературного закаливания злаков был исследован жирнокислотный состав, синтез дегидринов в тканях побегов злаков при холодовом закаливании, также содержание сахаров и изменение интенсивности дыхания тканей злаков при холодовом закаливании и раззакаливании. Установлено, что физиолого-биохимические изменения в побегах: увеличение содержания ненасыщенных жирных кислот в побегах, индукция низкомолекулярных дегидринов, увеличение содержания сахаров и более медленное их расходование, более медленная активация дыхания (у озимой пшеницы), вызванные обработкой семян злаков тебуконазол-содержащим препаратом «Бункер», важны для повышения устойчивости растений к действию неблагоприятных низких температур. Это подтвердилось при изучении влияния тебуконазол-содержащего протравителя «Бункер» (1,5 мкл/г семян) на холодо- и морозоустойчивость холодозакаленных и раззакаленных проростков злаков.

Для установления влияния ростиингибирующих соединений на функционирование митохондрий пшеницы проведены исследования окислительной и фосфорилирующей активности митохондрий при использовании препарата «Бункер» и тебуконазола в контрольных условиях и при холодовом закаливании. В контрольных условиях получены экспериментальные данные доказывающие, что тебуконазол-содержащий препарат «Бункер» и тебуконазол ингибируют скорости окисления субстратов митохондриями, что может объяснять более медленное расходование сахаров в процессе роста побегов злаков, и может быть одним из факторов повышения холодо- и морозоустойчивости злаков. При закаливании у проростков, выращенных из обработанных тебуконазолом семян озимой пшеницы, наблюдается активация альтернативной оксидазы, что может предотвращать развитие окислительного стресса в условиях действия низких температур и способствовать выживаемости растений.

В данном разделе обсуждаются полученные результаты, анализируются в сравнении с данными других исследователей, подчеркивается оригинальность собственных результатов. При обсуждении в полной мере привлечены отечественные и зарубежные классические и современные научные источники. В каждом подразделе

имеются предварительные заключения, на основании которых сделано заключение по диссертационной работе в целом.

### **Заключение**

В «Заключении» диссертант обобщает и обсуждает полученные результаты исследований, сравнивает их с имеющимися в литературе научными данными по изучаемому вопросу и делает предположение о цепи событий, происходящих в клетках злаков при обработке тебуконазолом, приводит схему участия триазолов в повышении морозоустойчивости злаков. Все рассмотренные автором механизмы направлены на повышение устойчивости растительной клетки и растения в целом к отрицательной температуре. Повышенное содержание водорастворимых углеводов, дегидринов, ненасыщенных жирных кислот, более поздняя активация дыхания позволяет дольше сохранять свойства морозоустойчивости, в том числе при временном повышении температуры с последующим заморозком.

В завершении работы диссертантом аргументировано сформулированы выводы, соответствующие цели и задачам исследования, отражающие полученные экспериментальные данные и доказывающие научные положения, выносимые на защиту.

Основные результаты диссертации опубликованы в 6 научных работах, в том числе в 3 статьях в журналах из Перечня ВАК РФ, и обсуждались на всероссийских конференциях и всероссийской конференции с международным участием.

Автореферат соответствует содержанию диссертации, отражает основные результаты и выводы диссертационной работы, показывает вклад автора в проведенном исследовании, новизну и практическую значимость результатов исследований.

### ***Достоинства и недостатки по содержанию и оформлению работы***

Диссертация является законченной научно-исследовательской работой, выполненной автором на высоком научном уровне. Основывается на достаточном количестве экспериментов и анализов. Диссертантом проработан большой объем отечественных и зарубежных литературных источников.

Достоверность полученных экспериментальных данных обеспечивается тем, что А.В. Корсукова провела необходимый объем наблюдений и исследований с использованием современных физиолого-биохимических методик и средств.

Работа написана грамотно, научным языком, аккуратно оформлена и хорошо иллюстрирована.

Необходимо отметить научную и практическую значимость проведенного исследования.

*Научная новизна.* Впервые показано, что обработка семян злаков тебуконазол-содержащим препаратом приводит к метаболическим изменениям, характерным для низкотемпературной адаптации – увеличению содержания водорастворимых углеводов и ненасыщенных жирных кислот. Выявлено, что закаленные к холоду проростки яровой и озимой пшеницы из обработанных семян характеризуются повышенным содержанием водорастворимых углеводов, синтезом низкомолекулярных дегидринов и ростом холодо- и морозоустойчивости. Более высокое содержание сахаров, дегидринов и ненасыщенных жирных кислот у проростков из обработанных семян способствует сохранению морозоустойчивости озимой пшеницы в период раззакаливания и снижает гибель растений при последующем действии отрицательной температуры.

Впервые на изолированных митохондриях озимой пшеницы установлено, что тебуконазол оказывает влияние на дыхательный метаболизм злаков, действуя на комплекс I дыхательной цепи митохондрий.

*Теоретическая и практическая значимость.* Полученные в работе данные расширяют теоретические представления о механизмах устойчивости растений к неблагоприятным низким температурам и свидетельствуют о возможности повышения холодо- и морозоустойчивости злаков под действием обработки семян тебуконазол-содержащими препаратами. Сформированы предпосылки для повышения устойчивости озимых злаков к отрицательным температурам в зимний и ранневесенний периоды с применением фунгицидов триазольной природы. Полученные диссертантом научные данные расширяют перспективы для выращивания озимой пшеницы в регионах с нестабильным температурным режимом в позднезимний и ранневесенний периоды.

*Рекомендации по использованию полученных результатов.* Материалы исследований могут быть использованы в образовательных и научно-исследовательских учреждениях по профилю рассматриваемой диссертации, а также сельскохозяйственного направления.

### *Замечание*

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.

Таким образом, по актуальности темы, обоснованности научного положения, достоверности полученных результатов и выводов, сформулированных в представленной диссертации, объему, новизне, теоретической и практической значимости исследований диссертационная работа Корсуковой Анны Викторовны «Изменение холодо- и морозоустойчивости проростков злаков под действием тебуконазол-содержащего протравителя семян» соответствует требованиям п. 9 «О порядке присуждения ученых степеней», утвержденному постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842, предъявляемым ВАК Минобрнауки России к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, а ее автор Анна Викторовна Корсукова заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.05 – физиология и биохимия растений.

Старший научный сотрудник  
лаборатории агрохимии и защиты растений  
Федерального государственного бюджетного  
научного учреждения «Иркутский  
научно-исследовательский институт  
сельского хозяйства» (ФГБНУ «Иркутский НИИСХ»)  
кандидат биологических наук (03.00.05 – ботаника (биологические науки)), доцент

664511, Иркутская область, Иркутский район, с. Пивовариха, ул. Дачная, 14  
Телефон/факс 8 (3952) 698-436  
e-mail: [gnu\\_iniish\\_nauka@mail.ru](mailto:gnu_iniish_nauka@mail.ru)

02.06.2016 г.

Подпись Разиной А.А. заверяю:

Ведущий специалист по кадрам  
ФГБНУ «Иркутский НИИСХ»



Разина Альфия Агламзановна

Е.А. Вродзинская