

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу Ахтямовой Зарины Асхатовны «Влияние ризосферных бактерий на содержание гормонов, рост и водный обмен растений пшеницы и ячменя в оптимальных условиях и на фоне засоления», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических по специальности 1.5.21. Физиология и биохимия растений.

Актуальность избранной темы.

Взаимодействие высших растений и микроорганизмов в настоящее время является одной из наиболее активно изучаемых областей в физиологии растений. С одной стороны, это обусловлено очевидной значимостью исследований для фундаментальной науки, поскольку такие взаимодействия играют важную роль в росте и развитии растений, с другой – имеют место постоянно возрастающие запросы сельского хозяйства в прикладных исследованиях и разработках, направленных на повышение урожайности и качества возделываемых культур, а также снижения потерь от действия неблагоприятных абиотических и биотических факторов. Это определяет несомненную актуальность темы диссертационного исследования Ахтямовой Зарины Асхатовны, посвященного изучению эффектов различных ризосферных бактерий на рост важнейших сельскохозяйственных культур – пшеницы и ячменя – в благоприятных условиях, а также на фоне засоления. Несмотря на большое число работ, направленных на изучение эффектов ризосферных бактерий на рост и развитие растений в оптимальных и стрессовых условиях, целый ряд вопросов остаются неизученными. В диссертационной работе Ахтямовой З.А. большое внимание уделяется исследованию изменения гормонального статуса растений – ключевого направления исследований научной школы, из которой вышла данная работа. Наличие надежной базы позволило соискателю в рамках диссертационного исследования глубоко погрузиться в изучение ответов растений на комбинацию действующих абиотических и биотических факторов, что гораздо ближе к естественным условиям произрастания в сравнении с действием какого-либо одиночного фактора. Также необходимо отметить, что в рамках диссертационной работы исследованы эффекты комбинации действующих факторов не только на гормональный статус растений, но также и на другие важнейшие физиологические показатели, в частности, показатели водного обмена. Последнее в настоящее время является крайне слабо исследованным вопросом. В целом, не вызывает сомнений высокая актуальность темы диссертационной работы Ахтямовой З.А., направленной на изучение гормонального статуса и водного обмена у растений пшеницы и ячменя при произрастании в присутствии различных ризосферных бактерий в благоприятных условиях и на фоне засоления.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации.

Основные положения диссертации отражены в автореферате. Выявлен эффект бактерий, способных продуцировать тот или иной фитогормон, на гормональный статус растений. Ахтямовой З.А. показано, что бактерии штамма *B. subtilis* IB-22, синтезирующие цитокинины, значительно повышают уровень цитокининов в растениях пшеницы, а бактерии штамма *P. mandelii* IB-Ki14, синтезирующие ауксины, - уровень ауксинов. Проанализировано влияние вызванного бактериями изменения гормонального статуса растений на рост и устойчивость растений к засолению. Проведенное диссертантом сравнение уровня АБК у обработанных и необработанных бактериями растений на фоне засоления позволило сделать вывод о снижении стресс-индуцированного накопления АБК в побегах растений под влиянием бактерий. Вместе с тем, в корнях обнаружено повышение уровня АБК. Сделано предположение, о том, что это может являться одним из механизмов противодействия осмотической компоненте солевого стресса. Измерение уровня АБК в культуральной жидкости и экспрессии генов, ответственных за метаболизм АБК, позволили обосновать положение о том, что бактерии *B. subtilis* IB-22 повышают уровень АБК в растениях ячменя, благодаря их способности синтезировать АБК и влиять на метаболизм этого гормона в самом растении. С помощью флуоресцентной микроскопии в сочетании с специфичными красителями Ахтямовой З.А. обоснован вывод о вызванном бактериями повышении лигнификации и суберинизации в корнях. Выполненный наряду с этим анализ содержания важнейших элементов минерального питания в растениях позволил выдвинуть обоснованное предположение об изменении соотношения симпластного и апопластного путей перемещения минеральных элементов, способствующем поддержанию ионного гомеостаза в условиях засоления.

Достоверность и новизна исследования, полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации.

Надежность результатов подтверждает применение современных, адекватных решаемым задачам методов анализа. Достоверность полученных результатов и сделанных на их основе выводов опирается на грамотное применение методов биологической статистики и демонстрации воспроизводимости результатов измерений в достаточном количестве независимых биологических повторностей. Можно выделить несколько основных аспектов новизны диссертационного исследования. Во-первых, впервые показано влияние ризосферных бактерий на формирование апопластных барьеров на фоне засоления и предположена роль этого эффекта в поддержании ионного гомеостаза растений. Предшествующие работы были направлены только на изучение формирования апопластных барьеров в связи с защитой растений от патогенов. Во-вторых, впервые проанализировано влияние ростстимулирующих бактерий на содержание АБК в корнях растений. Подавляющее большинство исследований ограничивались исследованием АБК в листьях обработанных бактериями растений. Также необходимо отметить, что в данной работе впервые объектом исследования выступил дефицитный по АБК мутант

однодольного растения – ячменя. До сих пор подобные работы проводили лишь с двудольными растениями, дефицитный по АБК мутант томата. В отличие от дефицитного по АБК мутанта томатов, для которых не удалось зарегистрировать стимулирующее рост действие бактерий *Bacillus megaterium*, у мутанта ячменя был обнаружен рост стимулирующий эффект *B. subtilis* IB-22.

Значимость для науки и практики полученных автором результатов. Конкретные рекомендации по использованию результатов и выводов диссертации.

Результаты, полученные при выполнении данной диссертационной работы, углубляют представление о механизмах роста стимулирующего действия бактерий в отношении растений, произрастающих в благоприятных условиях и в условиях солевого стресса. Полученные автором результаты могут быть использованы при разработке методов направленного повышения устойчивости сельскохозяйственных культур к действию неблагоприятных факторов, в частности, к засолению. Полученные в работе результаты могут найти применение при разработке и модернизации учебных дисциплин для студентов, обучающихся в вузах по биологическим специальностям.

Содержание диссертации в целом, ее завершенность.

Анализируя структуру диссертации, важно отметить, что в обзоре литературы достаточно полно и четко суммирован большой массив имеющихся на сегодняшний день сведений о влиянии бактерий на рост и устойчивость растений. В методическом разделе достаточно детально описаны методы измерения содержания гормонов, окрашивания образцов на лигнин и суберин, ПЦР анализ в реальном времени. Далее следует подробное описание экспериментов, результаты которых коротко описаны выше. Заключение и выводы демонстрируют тот факт, что цель работы достигнута, что подтверждает завершенность работы. В целом диссертация является достойным продолжением многолетних успешных исследований механизмов действия роста стимулирующих бактерий на растения, которые проводятся в лаборатории физиологии растений Уфимского института биологии. О высоком уровне данной работы свидетельствуют публикация полученных результатов в высокорейтинговых журналах.

Вопросы и замечания.

1. В работе исследуется влияние различных бактерий (*Bacillus subtilis*, штамм IB-22 и *Pseudomonas mandelii*, штамм IB-K114) на содержание ауксинов и цитокининов в растениях пшеницы. Обсуждается вызванное бактериями изменение гормонального статуса как механизм, обуславливающий изменение роста растений. Почему для обоснования связи наблюдаемых эффектов не был выполнен корреляционный анализ концентрации гормонов и биомассы/площади листьев растений? Такой анализ позволил бы достаточно четко выделить связь ростовых показателей с изменением уровня цитокининов, но не ауксинов.

2. Как можно объяснить тот факт, что засоление вызывает повышение уровня цитокининов в побегах одновременно со снижением роста (накопления биомассы), а обработка бактериями *B. subtilis* в условиях засоления вызывает повышение концентрации цитокининов и усиление роста растений?
3. В тексте диссертации говорится об отсутствии влияния засоления на эффективность фотосинтеза растений пшеницы (стр. 83), однако результаты не приведены.
4. Как можно объяснить разнонаправленный эффект бактериальной обработки на фоне засоления на транспирацию и устьичную проводимость для мутанта Az34, если измерения проводились при равной влажности воздуха и примерно равной влажности почвы?
5. Не всегда достаточно полно описаны условия измерений. В частности, не указано, через какое время после включения актиничного света измеряли уровень NPQ. NPQ имеет сложную светоиндуцированную динамику с достаточно долгим выходом на плато. Не указано в какое время суток измеряли транспирацию, было ли это время единым для всех изучаемых групп растений. Суточные изменения уровня транспирации достаточно велики.
6. Имеются отдельные недочеты в оформлении работы:
 - список сокращений содержит далеко не все сокращения, использованные в тексте диссертации (отсутствуют PGPR, ROS, CDPK, AAO и др.);
 - в качестве разделителя целой и дробной части числа где-то используется точка, где-то запятая;
 - в оглавлении диссертации, глава 2, часть разделов именована как «Определение ...», «Выявление...», «Анализ...» а другие просто – «Транспирация», «Площадь листьев» и т.д. Желательно использовать единообразный подход при именовании разделов;
 - на рис. 1 автореферата не введены обозначения ZN, ZR, Z (Z- зеатин, ZR – зеатин рибозид, ZN – зеатин нуклеотид). Обозначения введены только в тексте диссертации.

Высказанные вопросы и замечания не снижают общую высокую оценку диссертационной работы. В целом, можно заключить, что диссертационная работа Ахтямовой Зарины Асхатовны «Влияние ризосферных бактерий на содержание гормонов, рост и водный обмен растений пшеницы и ячменя в оптимальных условиях и на фоне засоления» является оригинальной, законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение актуальной научной задачи – выявление механизмов действия ростстимулирующих бактерий на содержание гормонов и водный обмен растений – имеющей значение для развития физиологии и биохимии растений. Диссертация полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке

присуждения учёных степеней», утверждённого постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 г. (в действующей редакции), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а её автор, Ахтямова Зарина Асхатовна, заслуживает присвоения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.21. Физиология и биохимия растений.

Воденеев Владимир Анатольевич
д.б.н., доцент, заведующий кафедрой
биофизики ИББМ федерального
государственного автономного
образовательного учреждения высшего
образования «Национальный
исследовательский Нижегородский
государственный университет им. Н.И.
Лобачевского (ННГУ)

/ Воденеев В.А.

Россия, 603022, Нижний Новгород,
пр-т Гагарина, 23, корп. 1, каб. 415
Телефон: +7 (831) 462 32 15
E-mail: v.vodeneev@mail.ru

09.01.2023 г.

