

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

на диссертацию Никеровой Ксении Михайловны: «АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ ПРИ ИЗМЕНЕНИИ СЦЕНАРИЕВ КСИЛОГЕНЕЗА У *BETULA PENDULA* ROTH И *PINUS SYLVESTRIS* L.», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.05 – «Физиология и биохимия растений»

Ключевую роль в повышении продуктивности лесов играет ксилогенез – процесс формирования древесины, включающий в себя образование структурных элементов ксилемы. В основе ксилогенеза лежит фиксация углерода в составе полимеров углеводной и фенольной природы клеточных стенок одревесневающих тканей растений. По активности основных ферментов углеводного и фенольного обмена можно судить о преобладании тех или иных метаболических путей и, как следствие, о возможном сценарии ксилогенеза. Карельская береза представляет собой уникальный объект исследования, поскольку для древесины характерен широкий спектр разнообразия структурных элементов. В этой связи, поиск цитологических, биохимических и молекулярных маркеров, которые могли бы определять тот или иной путь ксилогенеза, представляется важным и актуальность данного диссертационного исследования не вызывает сомнения.

Целью диссертационной работы явилось изучение роли ферментов антиоксидантной системы (АОС) в формировании узорчатой древесины у *B. pendula* var. *carelica* и косослойной древесины у *P. Sylvestris*.

Работа написана и оформлена согласно требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям и состоит из введения, обзора литературы, описания объектов и методов исследования, результатов экспериментальной работы и их обсуждения, заключения, выводов, списка цитируемой литературы и приложения. Список литературы включает 604 наименования, из них 501 на иностранном языке. Диссертация изложена на 201 странице машинописного текста, содержит 6 таблиц и 46 рисунков.

Обзор литературы. Автором с использованием большого числа отечественных и иностранных публикаций, рассмотрены типы структурных аномалий у древесных растений, описаны известные на данный момент механизмы формирования узорчатой древесины у *B. pendula* var. *carelica* и косослойной древесины у *P. sylvestris*. Обсуждается строение и функции ферментов АОС – СОД, КАТ, ПО и ПФО и активных форм кислорода (АФК) в растительном организме, показаны возможные пути их взаимодействия. Рассмотрены взаимосвязи АОС с фенольным и углеводным обменом. В результате автор

подходит к постановке вопроса о важности поиска биохимических маркеров различных сценариев ксилогенеза, одними из которых могут быть ферменты АОС.

Вторая глава посвящена описанию объектов и методов исследований. Следует отметить проведение исследований на растениях двух форм березы повислой: *B. pendula* var. *pendula* и *B. pendula* var. *carelica* разного возраста, а также на взрослых растениях *P. sylvestris* с прямослойной и косослойной древесиной ствола. В работе приведены подробное описание методов определения активности ферментов АОС, содержания целлюлозы и лигнина в органах растений. Следует здесь отметить большую работу по модификации методов определения активности ферментов, применительно к объектам исследования. Полученные результаты обработаны статистически, оценена значимость различий средних величин по t-критерию Стьюдента. Проведен корреляционный анализ, показывающий взаимосвязь активности ферментов между собой.

В **третьей главе** детально рассматривается годовая динамика активности пероксидазы и каталазы в тканях ствола у двух форм *B. pendula*, различающихся по структуре древесины. Выявленная в течение сезона взаимосвязь активностей КАТ, ПО и АпИнв может свидетельствовать о тесной связи между изменениями, происходящими в углеводном обмене у *B. pendula* var. *Carelica*. Период камбиального роста является наиболее информативным с точки зрения рассмотрения участия данных ферментов в формировании узорчатой древесины у *B. pendula* var. *carelica*. На основании полученных данных автор делает вывод, что по изменению активности КАТ и ПО можно судить о возможном сценарии ксилогенеза у *B. pendula* var. *carelica*.

Для выяснения причины изменения активности КАТ и ПО в сезонном цикле и онтогенезе растений было проведено определение активности других ферментов АОС: СОД – фермента, участвующего в образовании перекиси водорода, и ПФО – фермента, который может перехватывать кислород и, с его участием, окислять фенольные соединения совместно с ПО. В ксилеме активность СОД находилась примерно на одном уровне у всех исследуемых растений, различающихся по структуре древесины. Различия между активностью КАТ у растений *B. pendula* var. *pendula* и *B. pendula* var. *carelica* не были значимы. Во флоэме наблюдалась тенденция к увеличению активности СОД в ряду: *B. pendula* var. *pendula*, безузорчатые и узорчатые участки ствола *B. pendula* var. *carelica*. Высокую активность ПО и ПФО в ксилеме узорчатых частей ствола и во флоэме узорчатых и безузорчатых частей ствола растений *B. pendula* var. *carelica* автор объясняет высокой активностью АпИнв, работа которой приводит к интенсивному образованию гексоз, что коррелирует с накоплением в паренхимных клетках узорчатых растений большего количества липидов, веществ фенольной природы.

Такое взаимодействие углеводного и фенольного обмена является частью взаимосвязанной окислительно-восстановительной системы, улавливающей АФК и повышение в стволе узорчатых растений активности ПФО, наряду с ПО, можно рассматривать как биохимический индикатор образования структурных аномалий.

Важной частью работы являются исследования по участию ферментов АОС в формировании древесины *B. pendula* var. *carelica* с разной степенью развития структурных аномалий. В ответе на вопрос в чем же причина увеличения АФК, а следом и активности АОС при формировании узорчатой древесины, на основании своих полученных данных и анализа литературы автор показывает, что формирование узорчатости тесно сопряжено с процессами вторичного метаболизма у древесного растения. На основании данных исследований был предложен способ количественной экспресс-диагностики «узорчатости» древесины *B. pendula* var. *carelica* по определению активности гваякол-пероксидазы в ксилеме.

Изучение ферментов АОС на начальных этапах онтогенеза выявило отличия в распределении их активности между сеянцами разного возраста. *B. pendula* var. *pendula* и *B. pendula* var. *carelica* на начальных стадиях онтогенеза различались по активности ферментов АОС (ПО и ПФО в стебле, КАТ в листе), что может лечь в основу ферментативной диагностики признака узорчатости древесины у *B. pendula* в раннем онтогенезе, когда внешние признаки отсутствуют.

Не ограничиваясь изучением активности ферментов АОС в тканях *B. pendula* var. *pendula* и *B. pendula* var. *carelica* для объяснения различных сценариев ксилогенеза было проведено исследование активности комплекса ферментов АОС при формировании косослойной древесины у *P. sylvestris*. Показано, что в ксилеме активность СОД значимо не отличалась у прямослойных и косослойных растений *P. sylvestris*. Активность основных ферментов фенольного метаболизма (ПО и ПФО) была выше у растений, проявляющих признаки косослойной древесины. У растений с признаками косослоя в ксилеме активность СС была ниже по сравнению с таковой у растений с прямослойной древесиной, что говорит об уменьшении роли СС в утилизации сахарозы. При этом у косослойных растений наблюдалась более высокая метаболизация сахарозы в апопласте. Метаболические закономерности, обнаруженные при исследовании комплекса ферментов АОС при формировании косослойной древесины, не противоречат тем, что были обнаружены при формировании структурных аномалий у *B. pendula* var. *carelica*. Повышение активности КАТ, ПО и ПФО в ксилеме и ПФО во флоэме при образовании косослойной древесины может служить биохимическим маркером развития данного вида структурных аномалий.

Научная новизна и практическая значимость работы. Проведенное комплексное изучение активности ферментов АОС в проводящих тканях ствола у двух форм *B. pendula* при разных сценариях ксилогенеза показало возможность такого подхода для выявления нарушения ксилогенеза у *B. pendula* var. *carelica*, в том числе, и на начальных этапах онтогенеза. Впервые у семян двух форм *B. pendula* изучено изменение активности ферментов АОС в зависимости от размеров листа. Впервые выявлены различия в активности ферментов АОС у *P. sylvestris* при формировании прямослойной и косослойной древесины.

Автор делает вывод, что выявленные закономерности могут лечь в основу диагностики качества древесины *B. pendula* var. *carelica* и *P. sylvestris* на лесосеменных плантациях и в местах их естественного произрастания, что необходимо как для целей фундаментальной науки, так и в различных областях промышленности при заготовке высококачественного материала, обладающего наибольшей ценностью.

Общие замечания

Несмотря на общий список сокращений (стр. 5) в самом тексте диссертации в ряде случаев можно было бы использовать полные названия соединений, ферментов.

В методической части работы (стр. 74), при определении активности каталазы, автор для регистрации реакции каталазного окисления в исследуемых образцах выбирает время 4 мин, обуславливая это линейной зависимостью скорости реакции в диапазоне 3-6 мин. Вместе с тем, как правило, активности ферментов даются в расчете на 1 минуту. Выбранные временные характеристики, по-видимому, обусловлены сравнительным характером оценки активности КАТ в разных тканях, а также самим объектом исследования.

Автором в заключении дано, что результаты, полученные в ходе изучения *B. pendula* var. *Carelica*, использованы в качестве фундаментальной основы для выявления механизмов развития структурных аномалий осевых органов у *P. sylvestris* и возрастание активности ПО и ПФО, на фоне увеличения метаболизации сахарозы в апопласте, схоже с таковым при формировании узорчатой древесины *B. pendula* var. *carelica*. В этой связи представляется логичным в первом выводе показать наличие общей закономерности взаимосвязи функциональных изменений при развитии структурных аномалий разных видов древесных растений.

Сделанные замечания, тем не менее, не влияют на общую положительную оценку рассматриваемой работы.

Заключение

Диссертационная работа написана хорошим языком, представляет собой законченное, актуальное исследование, выполненное с использованием современных подходов и на высоком методическом уровне. Заключение и выводы, сделанные диссертантом, обоснованы и достоверны, и имеют как теоретическую, так и практическую значимость. Основные положения диссертации опубликованы в журналах перечня ВАК, публикациях в сборниках трудов конференций. Основные результаты обсуждены на отечественных и международных конференциях. Автореферат отражает содержание диссертационной работы. В диссертации представлены новые научные результаты, она четко структурирована, ее оформление соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук.

В целом, по актуальности проблемы, новизне и объему экспериментальных исследований, теоретической и практической значимости полученных результатов работа Никеровой Ксении Михайловны соответствует всем требованиям, предъявляемым ВАК к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук (п. № 9 «Положения о присуждении ученых степеней» ВАК РФ, утвержденного постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013г. (с изменениями от 01.10.2018 г.)) а её автор – Никерова Ксения Михайловна заслуживает присуждения ей искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.05 – «Физиология и биохимия растений».

Кособрюхов Анатолий Александрович
доктор биологических наук (03.00.12) - физиология и биохимия растений,
старший научный сотрудник,
руководитель группы экологии и физиологии фототрофных организмов
Института фундаментальных проблем
биологии Российской академии наук,
ФИЦ НЦБИ РАН
142290 г. Пушкино, Московская обл.,
ул. Институтская, дом 2
Тел.: 8(4967)73-36-01 E-mail: ifpb@issp.serpukhov.su
21.09.2020

