

Сведения о результатах публичной защиты

Нилова Ирина Александровна

Диссертация «Устойчивость растений пшеницы к высокотемпературным воздействиям разной интенсивности: физиолого-биохимические и молекулярно-генетические аспекты»

Члены диссертационного совета Д 002.211.02, присутствовавшие на заседании по защите диссертации: д.б.н. Ярмишко В.Т., д.б.н. Лянгузова И.В., д.б.н. Андреев М.П., д.б.н. д.б.н. Буданцев А.Л., д.б.н. Горшков В.В., д.б.н. Казнина Н.М., д.б.н. Кислюк И.М., д.б.н. Медведев С.С., д.б.н. Новожилов Ю.К., д.б.н. Родионов А.В., д.б.н. Холод С.С., д.б.н. Шереметьев С.Н., д.б.н. Шишова М.Ф., д.б.н. Шнеер В.С., д.б.н. Юрковская Т.К.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 002.211.02, СОЗДАННОГО НА БАЗЕ Федерального государственного бюджетного учреждения науки Ботанического института им. В.Л. Комарова Российской академии наук ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 29 мая 2019 г. № 105

О присуждении Ниловой Ирине Александровне, гражданке Российской Федерации, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Устойчивость растений пшеницы к высокотемпературным воздействиям разной интенсивности: физиолого-биохимические и молекулярно-генетические аспекты» по специальности 03.01.05 – «Физиология и биохимия растений» принята к защите «21» марта 2019 года, протокол № 102 диссертационным советом Д 002.211.02 на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Ботанического института им. В.Л. Комарова Российской академии наук, 197376, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, дом 2, приказ

Рособрнадзора № 737-465 от 04.04.2008, № 426-214 от 15.03.2010, приказы Минобрнауки России № 194/нк от 22.04.2013, № 153/нк от 15.02.2016, № 403/нк от 10.05.2017; № 409/нк от 12.04.2018, приказ Министерства науки и высшего образования РФ № 175/нк от 02.10.18, приказ № 335/нк от 18.04.2019.

Соискатель Нилова Ирина Александровна, 1990 года рождения, в 2013 г. окончила Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Петрозаводский государственный университет». В 2017 г. окончила очную аспирантуру Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биологии Карельского научного центра Российской академии наук по направлению подготовки 06.06.01 – Биологические науки с присвоением квалификации «Исследователь. Преподаватель-исследователь».

Работает и.о. младшего научного сотрудника в Институте биологии – обособленном подразделении Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра «Карельский научный центр Российской академии наук».

Диссертация выполнена в лаборатории экологической физиологии растений Института биологии – обособленном подразделении Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра «Карельский научный центр Российской академии наук».

Научный руководитель – доктор биологических наук, член-корреспондент РАН, ТИТОВ Александр Федорович, Институт биологии – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра «Карельский научный центр Российской академии наук», лаборатория экологической физиологии растений, главный научный сотрудник.

Официальные оппоненты:

ВЕСЕЛОВ Александр Павлович, доктор биологических наук, профессор, Федеральное государственное автономное образовательное

учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет имени Н.И. Лобачевского», кафедра биохимии и биотехнологии, профессор;

ГОНЧАРОВА Эльза Андреевна, доктор биологических наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова», главный научный эксперт дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация: Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина», г. Екатеринбург, в своем положительном отзыве, подписанным Киселевой Ириной Сергеевной, кандидатом биологических наук, заведующей кафедрой экспериментальной биологии и биотехнологий Института естественных наук и математики, Борисовой Галиной Григорьевной, доктором географических наук, старшим научным сотрудником, профессором кафедры экспериментальной биологии и биотехнологий Института естественных наук и математики, Малевой Марией Георгиевной, кандидатом биологических наук, доцентом кафедры экспериментальной биологии и биотехнологий Института естественных наук и математики, указала, что диссертация И.А. Ниловой является цельной завершенной научно-квалификационной работой, основанной на большом объеме экспериментального материала, имеет научную и практическую значимость. Актуальность проведенных исследований не вызывает сомнений, новые результаты углубляют современные представления о механизмах устойчивости растений к действию высоких температур.

Соискатель имеет 11 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации опубликовано 11 работ, из них в рецензируемых научных изданиях опубликовано 6 работ.

Основные работы, опубликованные по теме диссертации:

1. **Нилова И.А.**, Титов А.Ф. Динамика теплоустойчивости проростков пшеницы в зависимости от интенсивности высокотемпературного воздействия // Труды КарНЦ РАН, сер. Экспериментальная биология. 2014. № 5. С. 214 – 217.

2. **Нилова И.А.**, Топчиева Л.В., Титов А.Ф. Экспрессия генов БТШ пшеницы при действии высоких температур // Труды КарНЦ РАН, сер. Экспериментальная биология. 2015. № 11. С. 55 – 65.

3. Топчиева Л.В., Таланова В.В., Титов А.Ф., **Нилова И.А.**, Репкина Н.С., Венжик Ю.В. Влияние низких и высоких закаливающих и повреждающих температур на уровень транскриптов генов VI-1 у пшеницы // Труды КарНЦ РАН, сер. Экспериментальная биология. 2015. № 11. С. 55 – 65.

4. Топчиева Л.В., **Нилова И.А.**, Титов А.Ф. Динамика содержания транскриптов генов проапоптотических белков в листьях растений пшеницы при действии высоких неблагоприятных температур // Доклады Академии наук. 2017. Т. 472, № 1. С. 102 – 105.

5. **Нилова И.А.**, Топчиева Л.В., Титов А.Ф. Основные этапы формирования клеточного ответа у растений на высокотемпературные воздействия // Труды КарНЦ РАН, сер. Экспериментальная биология. 2015. №12. С. 3 – 27.

6. **Нилова И.А.**, Титов А.Ф., Топчиева Л.В. Влияние высоких температур на некоторые физиологические показатели и содержание мРНК генов *HSP70*, *BiP*, *IRE1* в листьях пшеницы // Труды КарНЦ РАН, сер. Экспериментальная биология. 2018, №6. С. 40 – 50.

На диссертацию и автореферат поступили 13 отзывов от:

1. **Щеголева Сергея Юрьевича** – д.х.н., профессора, зав. лабораторией ФГБУН Института биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН (ИБФРМ РАН) и **Венжик Юлии Валерьевны** – к.б.н., н.с. иммунохимии ИБФРМ РАН.

2. **Розенцвет Ольги Анатольевны** – д.б.н., гл.н.с. лаб. экологической физиологии ФГБУН Института экологии Волжского бассейна РАН.
3. **Колупаева Юлия Евгеньевича** – д-ра биол. наук, профессора, заведующего кафедрой ботаники и физиологии растений Харьковского национального аграрного университета им. В.В. Докучаева.
4. **Ветчинниковой Лидии Васильевны** – д.б.н., доцента, гл.н.с. лаборатории лесных биотехнологий Института леса КарНЦ РАН ФИЦ «Карельский научный центр РАН».
5. **Марковской Евгении Федоровны** – д.б.н., профессора каф. ботаники и физиологии растений Института биологии, экологии и агротехнологии ФГБОУ ВО «Петрозаводский государственный университет».
6. **Кособрюхова Анатолия Александровича** – д.б.н., с.н.с., руководителя группы экологии и физиологии фототрофных организмов ФГБУН Института фундаментальных проблем биологии РАН.
7. **Фархутдинова Рашита Габдулхаевича** – д.б.н., доцента, зав. каф. биохимии и биотехнологии ФГБОУ ВО «Башкирский государственный университет».
8. **Любушкиной Ирины Викторовны** – к.б.н., доцента каф. физиологии растений, клеточной биологии и генетики ФГБОУ ВО «Иркутский государственный университет».
9. **Бухариной Ирины Леонидовны** – д.б.н., профессора, зав. каф. инженерной защиты окружающей среды ФГБОУ ВО «Удмурдский государственный университет».
10. **Ершовой Антонины Николаевны** – д.б.н., профессора, зав. каф. биологии растений и животных ФГБОУ ВО «Воронежский государственный педагогический университет».
11. **Мошкова Игоря Евгеньевича** – д.б.н., зав. лаб. зимостойкости ФГБУН Института физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН.
12. **Займль-Бухингер Виктории Витальевны** – к.б.н., н.с. Института биологии Свободного университета Берлина (Германия).

13. Жирова Владимира Константиновича – д.б.н., чл.-корр. РАН, научного руководителя Полярно-альпийского ботанического сада-института РАН.

Все отзывы положительные. В отзывах отмечено, что диссертационная работа является оригинальным, актуальным, законченным исследованием, в котором проведен комплексный анализ особенностей физиолого-биохимических и молекулярно-генетических реакций растений озимой пшеницы с. Московская 39 на высокотемпературные воздействия разной интенсивности и продолжительности.

В ряде отзывов есть замечания, вопросы и пожелания.

Розенцвет Ольга Анатольевна просит разъяснить противоречие: на стр. 8 автор пишет, что при температуре 43°C возростала теплоустойчивость и, в то же время, на стр. 9, резюмируя приведенные сведения, автор отмечает «температура 43°C не только приводит к снижению теплоустойчивости клеток листьев, но и к повреждению растений...»). Рецензент также спрашивает, насколько актуально/целесообразно исследовать действие высоких температур на растения озимой пшеницы?

Колупаев Юрий Евгеньевич указывает, что к дискуссионным моментам следует отнести оценку динамики теплоустойчивости растений пшеницы в процессе действия повышенных температур по температуре гибели 50% палисадных клеток листа после 5-минутного прогрева высечек. Юрий Евгеньевич считает, что такой подход позволяет оценивать так называемую первичную теплоустойчивость, без учета способности клеток и растения в целом к репарации и подчеркивает, что в автореферате автор не отмечает, что показатели первичной и общей теплоустойчивости могут отличаться.

Ветчинникова Лидия Васильевна просит уточнить возможность практического использования полученных диссертантом результатов для разработки методов адресной защиты отдельных органоидов (например, эндоплазматического ретикулума) от неблагоприятного воздействия абиотических факторов.

Марковская Евгения Федоровна спрашивает, верно ли то, что гены *ВАН.2* и *МСАII* в клетке находятся в активном состоянии и их усиление экспрессии связано с силой воздействия негативного фактора? Также рецензент отмечает, что введение терминов качественные и количественные ответные реакции в контексте этой работы не всегда проясняют понимание выявленных закономерностей, особенно на уровне текста автореферата. В положениях, выносимых на защиту: первое положение ни о чем не говорит; в научной новизне – первый абзац не совсем корректен, так как описываемые автором закономерности физиологических реакции на действие повышающейся температуры хорошо описаны в литературе. Выводы очень пространные, и они описывают основные полученные результаты, а не выводы по работе.

Любушкина Ирина Викторовна считает неудачным представление полученных данных в таб. 2 на стр. 11 автореферата, а именно: автор указал прирост в длину 1-го листа растений озимой пшеницы по сравнению с исходным уровнем, при этом полученные результаты выглядят как величины больше 100%. Ирина Викторовна отмечает, что это усложняет восприятие, поскольку для вычисления прироста надо при чтении таблицы отнимать исходные 100%, которые по существу не влияют на полученный результат, и считает, что более удачно автор представил те же данные в описании в предпоследнем абзаце на стр. 10, где проценты указывают конкретный прирост 1-го листа.

Мошков Игорь Евгеньевич спрашивает, чем можно объяснить рост активности СОД при 43°C, когда повреждение листьев составляет более 80%? Поскольку кроме СОД у растений имеются и другие ферменты антиоксидантной системы: каталаза и пероксидазы, как можно оценить их вклад в инактивацию АФК? Каковы возможные причины наблюдаемого Вами снижения уровня транскриптов *ВiP* и *IRE1* при 33°C? Игорь Евгеньевич также дает рекомендации и пожелания: в автореферате приведены результаты определения общей активности СОД, но не указывается, активность, каких именно типов/изоформ СОД изменялась.

Получить такие данные довольно просто при помощи определения активности СОД после электрофореза в нативных условиях. Затем, применив ингибиторы (цианид и пероксид водорода), можно идентифицировать типы/изоформы СОД, а, оцифровав интенсивность окрашенных полипептидов, можно выявить изменения в том или ином типе/изоформе СОД.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается тем, что Веселов Александр Павлович является специалистом в области физиологии и биохимии растений, имеющим публикации в области устойчивости растений к абиотическим факторам среды.; Гончарова Эльза Андреевна является специалистом физиологом растений, имеющим публикации в области исследования механизмов устойчивости сельскохозяйственных культур к действию неблагоприятных факторов. Ведущая организация Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина» известна своими достижениями в области физиологии устойчивости растений, что позволяет организации определить научную и практическую значимость диссертации.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований: внесен значительный вклад в теорию устойчивости растений к высоким температурам; предложена научная гипотеза, согласно которой теплоустойчивости растений пшеницы (*Triticum aestivum* L.) обеспечивается разными механизмами, доминирующий вклад которых меняется в зависимости от действующей на растения температуры; доказано наличие связей между уровнем транскрипции генов, продукты которых участвуют в устранении белков с нарушенной структурой (*BiP* и *IRE1*), и устойчивостью при температуре, вызывающей «средний» стресс у растений пшеницы; доказано индуцирование высокими температурами процессов программируемой клеточной гибели у растений пшеницы.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что: доказаны положения, вносящие значительный вклад в расширение представлений о механизмах высокотемпературной адаптации растений; применительно к проблематике диссертации результативно (эффективно, то есть с получением обладающих новизной результатов) использован комплекс физиолого-биохимических и молекулярно-генетических и статистических методов, позволивший впервые определить количественный и качественные различия в динамике формирования устойчивости листьев растений пшеницы, испытывающих воздействие высоких температур; впервые представлены доказательства существования у озимой пшеницы множества механизмов теплоустойчивости, которые попеременно включаются и отключаются в зависимости от интенсивности высокотемпературного воздействия; впервые выявлены особенности динамики накопления в листьях пшеницы транскриптов генов *HSP70*, *HSP90*, *HSP19*, *BiP*, *IRE1*, *BI-1*, *MCAII*, *BAH.2* в зависимости от интенсивности и продолжительности высокотемпературного воздействия; раскрыта новая проблема, связанная с вкладом в теплоустойчивость растений отдельных органоидов клетки; раскрыты причины снижения теплоустойчивости растений пшеницы с увеличением интенсивности и продолжительности теплового воздействия; изучена связь повышения теплоустойчивости растений с изменением экспрессии генов, кодирующих стрессовые белки, в условиях действия высоких температур; проведена модернизация оценки влияния высоких температур на растения в зависимости от их интенсивности, в результате чего особенности изменений биохимических систем клеток при их воздействии характеризуются как «мягкий», «средний» или «жесткий» стресс.

Значение полученных соискателем результатов для практики подтверждается тем, что: определены перспективы использования полученных данных по экспрессии стрессовых генов у растений при выборе стратегии селекционно-генетических работ, направленных на поиск генотипов дикорастущих видов и выведение сортов культурных злаков, обладающих высокой теплоустойчивостью; показана зависимость

физиолого-биохимических реакций растений пшеницы от интенсивности и продолжительности высокотемпературных воздействий; представлены данные о влиянии высоких температур на теплоустойчивость пшеницы, которые могут быть использованы при выборе оптимальных для закаливания температур с целью повышения устойчивости растений; основные научные результаты и выводы диссертационной работы могут быть использованы при чтении курсов лекций для студентов биологических, экологических и сельскохозяйственных специальностей.

Оценка достоверности результатов исследования выявила: для экспериментальных работ использовалось сертифицированное оборудование, подтверждена воспроизводимость результатов исследования в различных условиях; теория построена с учетом известных данных и фактов о влиянии высоких температур на растения и согласуется с опубликованными экспериментальными данными по теме диссертации; основная научная идея базируется на анализе имеющихся в литературе сведений и авторского оригинального материала; использованы авторские оригинальные данные о механизмах теплоустойчивости озимой пшеницы; установлено качественное и/или количественное соответствие авторских результатов с результатами, представленными в независимых источниках по данной тематике, в тех случаях, когда сравнение является обоснованным; использованы современные физиолого-биохимические и молекулярно-генетические методы исследований, в том числе метод полимеразной цепной реакции в режиме реального времени, анализ результатов проведен с использованием стандартных статистических методов.

Личный вклад соискателя состоит в планировании и проведении экспериментальной работы, в статистической обработке, анализе, обобщении и интерпретации полученных данных, а также в написании статей, опубликованных по результатам работы и представлении результатов на научных конференциях. Диссертация написана автором самостоятельно.

Диссертация охватывает основные вопросы поставленной научной задачи и соответствует критерию внутреннего единства, что подтверждается

наличием последовательного плана исследований, непротиворечивой методологической платформы, следованием основной идейной линии, концептуальностью и взаимосвязью выводов.

Диссертационным советом сделан вывод о том, что диссертация «Устойчивость растений пшеницы к высокотемпературным воздействиям разной интенсивности: физиолого-биохимические и молекулярно-генетические аспекты» представляет собой научно-квалификационную работу, соответствует критериям, установленным Положением п. 9 «О порядке присуждения ученых степеней», утвержденным постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842.

На заседании 29 мая 2019 г. диссертационный совет принял решение присудить Ниловой И. А. ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 15 человек, из них 8 докторов биологических наук по специальности 03.01.05 – «Физиология и биохимия растений», участвовавших в заседании, из 21 человека, входящих в состав совета, дополнительно введены на разовую защиту 0 человек, проголосовали: за 15, против 0, недействительных бюллетеней 0.

Председатель

диссертационного совета

Ярмишко Василий Трофимович

Ученый секретарь

диссертационного совета

Лянгузова Ирина Владимировна

29 мая 2019 г.

