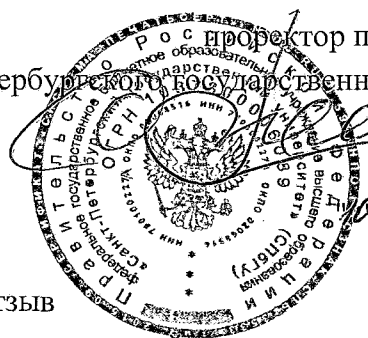


"Утверждаю"
профессор по научной работе
Санкт-Петербургского государственного университета



С.В. Аплонov
сентября 2018 г.

Отзыв

Ведущей организации о кандидатской диссертации

Ольги Евгеньевны Миргородской

«Развитие мужского гаметофита некоторых древесных покрытосеменных растений в условиях умеренного климата»,
представленной на соискание ученой степени
кандидата биологических наук
по специальности 03.02.01 - Ботаника

Диссертационная работа Ольги Евгеньевны Миргородской «Развитие мужского гаметофита некоторых древесных покрытосеменных растений в условиях умеренного климата» посвящена комплексному изучению структурных особенностей развития пыльников, микроспорогенеза и формирования пыльцевых зерен у 22 видов древесных покрытосеменных растений, естественно произрастающих и интродуцированных в умеренном климате.

Актуальность темы диссертационной работы определяется ее очевидным прикладным значением при интродукции древесных растений, а также вкладом в разработку фундаментальной проблемы изучения механизмов адаптации растений к сезонному климату, в частности – вопроса о том, является пониженная температура стрессовым фактором или необходимым условием нормального прохождения онтогенеза растениями умеренных широт.

Научная новизна диссертации О.Е. Миргородской в том, что полученные данные позволили аргументированно обосновать толерантность определенных стадий в развитии пыльников, микроспор и пыльцевых зерен к воздействию зимних холодов на уровне ультраструктурных адаптаций клеток спорогенной ткани и тапетума, а также показать необходимость вызванного понижением температуры покоя в деятельности белоксинтезирующего аппарата для нормального прохождения процессов микроспорогенеза и формирования пыльцевых зерен.

Практическая значимость работы. Практическое значение диссертации определяется возможностью использования её материалов при интродукции древесных растений в сезонном климате. В частности, выявленная взаимосвязь стадий микроспорогенеза и формирования пыльцевых зерен со сроками цветения может быть использована при ландшафтостроении. Материалы диссертации могут быть использованы в преподавании теоретических курсов по структурной ботанике, экологической анатомии и репродуктивной биологии растений в высших учебных заведениях.

Личный вклад соискателя. Диссертация является результатом многолетнего ежемесячного, а иногда и еженедельного мониторинга пыльников и содержащихся в них микроспор и пыльцевых зерен методами световой, трансмиссионной и сканирующей электронной микроскопии. Все стадии пробоподготовки, изготовления и анализа срезов были проведены соискателем лично. Аналитическое обобщение оригинальных данных и подготовка текста диссертации были проведены диссертантом не только лично, но и без научного руководителя.

Общая характеристика работы. Работа состоит из введения, четырех глав, заключения и выводов. Текст изложен на 168 страницах, содержит 32 рисунка и 10 таблиц. Список литературы включает 343 источника, в том числе 288 - на иностранных языках.

Глава 1. В обзоре литературы, посвященном развитию мужских репродуктивных структур, О.Е. Миргородская не только освещает состояние исследований по данному вопросу и дискуссионные моменты (например, отсутствие единого мнения о структурных и функциональных особенностях клеток тапетума, механизмах формирования спородермы), но и обсуждает роль генеративных органов в контексте общебиологической проблемы акклиматизации живых организмов. Анализ работ, посвященных механизмам холодной акклиматизации растений сезонного климата показывает понимание автором процессов, происходящих на структурном, биохимическом, гормональном и молекулярно-генетическом уровнях. Обсуждение данных о последствиях отсутствия холодового закаливания как растений, так и животных, в контексте концепции «общего адаптационного синдрома» физиолога Г. Селье свидетельствуют о широкой эрудиции диссертанта. Однако при общем хорошем впечатлении от обзора литературы, не представляется удачными название раздела 1.2. «Особенности развития мужского гаметофита растений умеренного климата», поскольку речь в нем идет главным образом об особенностях годового цикла спорофитов.

Глава 2 содержит подробную характеристику материала и методов исследования. Материалом для диссертационного исследования О.Е. Миргородской послужили 22 вида древесных цветковых растений из 11 семейств, произрастающие на территории парка Ботанического сада Петра Великого. Впечатляет объем проделанной диссертантом работы: цветочные почки и/или пыльники фиксировались на протяжении двух-пяти вегетационных сезонов в течение 7-10 (для разных видов) осенних, зимних и весенних месяцев дважды в месяц, а для некоторых видов – еженедельно; для трех модельных объектов проведено сравнительное изучение формирования стенки пыльника и ПЗ растений, произрастающих в открытом грунте и в ростовой камере с постоянной температурой около 20°C, а для одного из них – также и для растущих в оранжерее. Достоинством главы «Материалы и методы» является подробное описание поставленных экспериментов и методов пробоподготовки, изготовления и анализа срезов пыльников.

Все же к разделу «Материалы и методы» есть частные замечания. (1) Автор упоминает о том, что часть изученных растений являются естественными элементами флоры Ленинградской области, а часть – интродуцированы. К сожалению, в таблице 2.1 на стр. 40 нет никаких указаний, на то какие именно виды относятся к каждой из этих групп. Данные об ареалах изученных видов приводятся в табл. 3.2 (стр. 47), 3.3 (стр. 57) и 3.4 (стр. 75), но указание в качестве ареала «Россия» или «Средняя полоса России» не позволяют читателям, не являющимися специалистами в области флористики, однозначно решить входят ли

данные виды растений в состав флоры Ленинградской области. (2) В разделе, посвященном описанию материала исследования было бы желательно объяснить, чем обоснован выбор именно этих 22 видов из гораздо большего числа древесных растений, произрастающих на территории парка. В главе “Результаты” (стр. 99) упоминается, что некоторые из изученных видов являются феномаркерами различных феноэтапов. Возможно, это и определило выбор данных объектов, о чем было бы информативно упомянуть при характеристике объектов исследования. (4) Восприятие результатов исследования затрудняет использование автором в этой и последующих главах словосочетания “группа растений” в двух разных значениях. Первое – для определения растений, находящихся зимой в разных условиях: растения, произрастающие в открытом грунте, ростовой камере и оранжерее называются растениями “первой”, “второй” и “третьей” групп соответственно (стр. 40-41). Те же словосочетания используются автором при разделении изученных растений на три группы в зависимости от стадий микроспорогенеза и развития пыльцевых зерен в зимний период: “растения первой, второй и третьей групп”. В некоторых случаях по контексту действительно ясно, о какой именно из трех групп говорит автор в тексте, но иногда это не очевидно.

Глава 3. Большую часть работы (70 страниц) занимает глава “Результаты”, проиллюстрированная почти полтора сотнями качественных фотографий пыльников, микроспор и пыльцевых зерен, выполненных при помощи светового, трансмиссионного и сканирующего электронного микроскопов и сведенных в 32 фототаблицы. Для каждого из изученных видов приведены описания строения стенки пыльника, особенностей микроспорогенеза и развития мужского гаметофита на светооптическом уровне. Для пяти модельных видов эти описания дополнены характеристикой процессов, происходящих в течение осенне-зимнего сезона на клеточном уровне по данным изучения динамики ультраструктуры клеток стенки пыльника, микроспор и пыльцевых зерен методами трансмиссионной электронной микроскопии.

Проведенное О.Е. Миргородской комплексное изучение пыльников в течение осенне-зимнего периода позволило установить, что изученные виды древесных растений различаются по времени прохождения микроспорогенеза и развития пыльцевых зерен: у 10 видов растений в период пониженных температур в пыльниках имеется только спорогенная ткань, пыльники 7 видов зимой содержат микроспоры, а 5 видов – пыльцевые зерна. Мониторинг микроспорогенеза и развития мужских гаметофитов на протяжении нескольких лет позволил автору точно определить сроки мейоза, формирования зрелых микроспор, митотического деления, приводящего к образованию вегетативной и генеративной клеток, формирования оболочки пыльцевого зерна для каждого из изученных видов. Для некоторых видов оказалось возможным соотнести определенные стадии в развитии мужского гаметофита со стадиями развития цветка.

Диссертантом также получены сравнительные данные об ультраструктурных особенностях клеток спорогенной ткани растений микроспорогенез которых происходит до и после наступления зимнего периода. Для тех видов, у которых формирование микроспор и пыльцевых зерен происходят весной, характерно чередование состояний осенней и весенней “активности” белоксинтезирующего аппарата и зимнего покоя, выявленное путем анализа соотношения гранулярного и фибриллярного компонентов ядрышка. Для растений, микроспорогенез которых происходит осенью, выявлены циклические изменения в

секреторной активности тапетума, выделены два периода его гиперактивной секреции – осенний и весенний и охарактеризованы их ультраструктурные признаки: поляризация клеток, гиперразвитие гранулярного эндоплазматического ретикула, увеличение количества диктиосом, инвагинации плазмалеммы. Установлены черты, характеризующие клетки тапетума в период зимнего покоя: везикуляция цитозоля, так называемый “пакетный ретикулум”, уменьшение количества митохондрий и цистерн аппарата Гольджи. Сделано предположение о том, что эти изменения свидетельствуют о подготовке к предстоящему биосинтезу.

Наблюдение за растениями, перенесенными на зиму в ростовую камеру (Раздел 3.2) показало, что в отсутствие воздействия отрицательных температур у всех модельных видов, независимо от сроков микроспорогенеза и формирования пыльцевых зерен, погибала значительная часть цветочных почек. Для того, чтобы установить причины этого явления, О.Е. Миргородской изучены процессы, происходящие в пыльниках сохранившихся цветочных почек. Мониторинг ультраструктуры клеток тапетума у растений в норме находящихся зимой на стадии спорогенной ткани, а в эксперименте зимовавших при 20°C показал, что в них не происходит смены стадий активного биосинтеза и покоя: отсутствует стадия везикуляции, не формируется “пакетный ретикулум”. Эти данные позволили диссертанту предположить, что промораживание необходимо для нормального микроспорогенеза и развития полноценных пыльцевых зерен у всех изученных растений, тогда как его отсутствие ведет к выпадению стадий зимнего покоя, а в результате – к “истощению” и последующей гибели клеток.

В целом данная глава производит очень хорошее впечатление: описания четкие и подробные, иллюстративный материал в достаточном для документации описываемых процессов объеме и отличного качества. Однако, к ней есть ряд замечаний и пожеланий.

Так же, как и в обзоре литературы, представляются не удачными названия разделов данной главы. Например, параграфы раздела 3.1 “Развитие мужского гаметофита некоторых покрытосеменных растений в условиях открытого грунта” названы “Результаты мониторинга стадий микроспорогенеза” (3.1.1) и “Фенологические особенности исследованных видов” (3.1.2), что не раскрывает вынесенной в название темы данного раздела. Повторяющееся в названии каждой из фототаблиц словосочетание “растения первой/второй/третьей группы” представляется излишним, так как речь в каждом из разделов идет только о растениях одной группы. Сложно согласиться с О.Е. Миргородской, когда относя к I группе 10 из 22 исследованных растений (правда не ясно 47%, как указано на стр. 44 или 45%, как говорится на стр. 115), она определяет их как “большинство исследованных видов”. Описывая использованные в работе методы (стр. 43) О.Е. Миргородская указывает, что для смородины ею был выполнен морфометрический анализ спорозитов с последующим однофакторным дисперсионным анализом, но в работе приведены морфометрические данные не для всех клеточных органелл, а только для гранулярного и фибриллярного компонентов ядрышка (стр. 49-52, стр. 105).

Общее замечание к главе “Результаты” заключается в том, что при хорошем качестве фотографий на них крайне мало условных обозначений (букв или символов для обозначения структур, о которых говорится в описаниях). Например, со ссылкой на рисунки 3.2 Д (стр. 48) и 3.4, В (стр. 52) в тексте описываются митохондрии, пластиды, АГ, редкие, или,

наоборот, многочисленные, плазмодесмы; со ссылкой на рис. 3.5Б (стр. 54) – части эктэксинны: тектум, колумелла и подстилающий слой, но эти структуры сложно идентифицировать на небольших (хотя и качественных) “слепых” фотографиях. В отсутствие обозначений читателю не очевидно где на электроннограммах находятся, например, спорцит или тапетальная клетка (рис. 3.2 Д, стр. 48); на рис 3.1 (стр. 46) не обозначены тапетум, эндотеций, эпидерма, о которых идет речь в тексте; описания особенностей микроспорогенеза на стр. 60 также проиллюстрированы “слепыми” фотографиями (рис. 3.10). Возможно, автору стоило включить в фототаблицы фрагменты клеток с описываемыми органеллами при большем увеличении, поскольку на приведенных электроннограммах ряд из них увидеть невозможно. Вот отдельные примеры: “Несколько расширяется просвет плазмодесм, при этом мембраны десмотрубочки не просматриваются” (в описании рис 3.4 Б на стр. 51); “Количество рибосом меньше, чем в недифференцированных спорцитах, и они часто собраны в полисомы” (рис 3.4,В на стр. 51), “...На электроннограммах она выглядит как осмиофильный материал, узким ободком опоясывающий свободную микроспору и истончающийся в области апертур” (рис. 3.4Е на стр. 53). Не всегда на фотографиях можно увидеть структуры, описываемые в тексте. Например на стр. 49 говорится, что на рис. 3.3 А можно увидеть липидные включения, но они видны лишь на рис 3.3Е; в подписи к рис 3.6 Б (стр. 56) значится “фрагмент пыльника с двуклеточными ПЗ”, однако на фотографии двух клеток под оболочкой микроспоры увидеть не удастся. На стр. 57 диссертант пишет “...клетки тапетума сохраняют свою структурную целостность на уровне световой микроскопии, однако ультраструктурные данные свидетельствуют о деградации цитоплазмы, ядер и клеточной стенки со стороны полости пыльника”, не приводя фотодокументации последнего утверждения. На рис 3.5 (стр. 54) есть обозначение “сс”, расшифровки которого нет в подрисуночной подписи. Описания особенностей в строении пластид и митохондрий, каллозной оболочки на стр. 62, сложно воспринимать в отсутствие обозначений на рисунках 3.10 и 3.11.

В главе 4 “Обсуждение полученных результатов” автор интерпретирует тот факт, что в период зимних холодов пыльники изученных растений находились в одном из трех возможных состояний, тем, что в процессах созревания пыльцы существуют “критические периоды” более чувствительные к воздействию пониженных температур и “периоды стабилизации”, к которым и относятся стадии спорогенной ткани, микроспор и пыльцевых зерен. Сделанное по оригинальным и литературным данным заключение о том, что большая часть древесных покрытосеменных растений зимует на стадии спорогенной ткани, диссертант обоснованно объясняет тем, что по своим цитологическим особенностям эта ткань сходна с меристематической, которая благодаря низкой степени вакуолизации клеток обладает наиболее высокой морозостойкостью. На примере трех видов рода *Rhododendron*, зимующих на разных стадиях микроспорогенеза или развития мужского гаметофита О.Е. Миргородская приходит к заключению о том, что данная особенность не является таксоноспецифической, не связана с адаптационной стратегией вегетативной сферы (листопадность или вечнозеленость), но сопряжена со сроками цветения: чем раньше цветет растение, тем раньше формируются пыльцевые зерна, а также усматривает связь между ранним созреванием пыльцы и потенциальной способностью к осеннему цветению. Выявленные абортирование цветочных почек и нарушения в развитии мужской

генеративной сферы у растений не испытывавших воздействия зимних температур позволили автору прийти к выводу о том, что сезонная динамика температур необходима для микроспорогенеза и формирования пыльцевых зерен растений умеренного климата.

По глубине анализа собственных данных и полноте сопоставления полученных результатов с данными других исследователей глава “Обсуждение” (26 страниц) производит очень хорошее впечатление. Однако есть ряд замечаний и к этой главе. Так, на стр. 116 рассказывая о типификации микроспорогенеза хвойных, О.Е. Миргородская пишет, что в I группе мейоз начинается и заканчивается осенью, что соответствует выделенной ею I группе (зимующей на стадии спорогенной ткани), хотя из приведенных здесь же данных следует, что выделяемый в диссертации для покрытосеменных тип I соответствует типу III хвойных (что верно отражено в таблице 4.1). В одном абзаце (стр. 116) диссертант называет тип, где мейоз начинается и заканчивается осенью первым, а в следующем абзаце – последним. В третьем абзаце на стр. 128 автор пишет, что «у растений, зимующих на стадии 2-клеточных пыльцевых зерен тапетум к осенне-зимнему периоду постепенно дегенерирует», а через 2 предложения – что «у 3 видов вересковых, зимующих на стадии 2-клеточных пыльцевых зерен тапетум к осенне-зимнему периоду достигает высокой степени дифференцировки». Что же верно?

В целом диссертацию характеризует четкий и грамотный стиль изложения, но все же с лингвистической точки зрения она не безупречна: имеются опечатки (например, на стр. 28, 37, 42, 55, 132), стилистические неточности (стр. 27, 28), несогласованные предложения (например, стр. 4, 129), случайно перемещенные при компьютерной верстке фрагменты текста (стр. 99); не точно указан производитель микроскопа (ZEISS, а не ZEISSE, стр. 43). Порой диссертант использует словосочетания которые можно определить как научный жаргон: “изучен на травянистых и древесных (или покрытосеменных) видах” (стр. 26, 40), (стр. 40), “образцы проводили по серии этиловых спиртов” (стр. 42), “генеративные стратегии адаптации” (стр. 117). Вызывают недоумение такие термины и высказывания как “камбий сосудов” (стр. 29); “на растение подействует сумма низких положительных температур” (стр. 31) (как сумма действует на растение?), “стадия одноядерной микроспоры” (табл. 3.1 стр. 45); термины “паракарпный или ценокарпный”, используемые как синонимы, но не являющиеся таковыми (стр. 47); используемые как альтернативные состояния “двухклеточное” и “зрелое” пыльцевые зерна; (там же), “ареал происхождения” (стр. 140). Иногда создается впечатление, что термины “микроспорогенез” и “развитие мужского гаметофита” автор использует как синонимы: например “на стадии двухклеточных ПЗ – самой длительной стадии микроспорогенеза” (стр. 132); хотя автором не изучались формирование мужских гамет, в “заключении” используется термин “гаметогенез” (стр. 141).

Выводы и положения, выносимые на защиту. Выводы, заключающие диссертацию, соответствуют поставленным задачам, достоверно отражают полученные результаты. Они четко сформулированы и обоснованы. Положения, выносимые на защиту логично подводят итог проделанной работы. К этому разделу есть два терминологических замечания. Первое касается формулировки “положения” 4 – поскольку в работе нет сведений о происхождении изученных видов (это и не входило в задачи работы), корректнее было бы вместо словосочетания “происхождение видов” говорить о его ареале, как сформулировано в выводе

4. Второе замечание – по формулировке выводов 2 и 3 можно понять что микроспорогенез представляет собой стадию развития мужского гаметофита, что неверно.

Общее впечатление о работе. Диссертация О.Е. Миргородской представляет собой законченное исследование, выполненное с использованием всего спектра трудоемких анатомических методов, содержит много новых, оригинальных данных, имеет научное и практическое значение. Основные результаты диссертации, основанные на тщательном и аккуратном изучении большого фактического материала, достоверны; выводы обоснованы. Несмотря на то, что в отзыве был высказан ряд замечаний, все они носят частный характер и не могут повлиять на общую высокую оценку диссертации.

Автореферат, публикации, апробация. Автореферат полностью соответствует содержанию диссертации, её основные положения опубликованы в 10 работах, из которых 4 представлены статьями в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК, а одна - в изданий, включенном в базу Web of Science. Результаты диссертационной работы О.Е. Миргородской известны научной общественности благодаря многократным докладам на конференциях.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертация Ольги Евгеньевны Миргородской «Развитие мужского гаметофита некоторых древесных покрытосеменных растений в условиях умеренного климата», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук, является завершённой научно-исследовательской работой, основанной на богатом оригинальном фактическом материале. Она вносит существенный вклад в разработку проблемы изучения механизмов адаптации растений к сезонному климату. По актуальности, новизне, теоретической и прикладной значимости, достоверности полученных результатов диссертация соответствует всем критериям, установленным в пунктах 9-11, 13, 14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24 сентября 2013 г., а ее автор Ольга Евгеньевна Миргородская заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.01 - Ботаника.

Отзыв утверждён на заседании кафедры ботаники биолого-почвенного факультете Санкт-Петербургского государственного университета (протокол № 1 от 03.09.2018 г.).

Отзыв составлен профессором кафедры ботаники Паутовым Анатолием Александровичем и доцентом кафедры ботаники Мариной Андреевной Романовой.

Заведующий кафедрой ботаники СПбГУ,
Профессор, доктор биологических наук

А. А. Паутов

Доцент кафедры ботаники,
кандидат биологических наук

Личную подпись
А. А. Паутова

Завещаю

и М. А. Романовой



Начальника
Кадров СПбГУ
Н. К. Корельская

М.А. Романова