

**МИНИСТЕРСТВО
СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**Департамент научно-
технологической политики и об-
разования**



Федеральное государственное бюд-
жетное образовательное учреждение
высшего профессионального образо-
вания

**ЯКУТСКАЯ
ГОСУДАРСТВЕННАЯ
СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННАЯ
АКАДЕМИЯ**

Красильникова ул., д.15, г. Якутск, Республика Саха (Якутия), 677007
тел.: (4112) 35-78-45, 35-78-96; факс (4112) 35-78-13. E-mail: prof@sakha.ru
<http://ysaa.ru>.
ОКОГУ-13159, ОКПО - 00497207, ОГРН - 1021401044367, ИНН/КПП - 1435047359/143501001

29.12.14 № 01-657450

«УТВЕРЖДАЮ»

**Ректор ФГБОУ ВПО «Якутская государственная
сельскохозяйственная академия»**

**Заслуженный деятель науки РФ, д.биол.н.,
профессор Л.Н. Владимиров Л.Н. Владимиров**

29 «декабря 2014

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕГО УЧРЕЖДЕНИЯ

на диссертацию Поскачиной Елены Рудольфовны

**«ЭКОЛОГО-ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ И БИОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ
ЩИРИЦЫ ЗАПРОКИНУТОЙ (*AMARANTHUS RETROFLEXUS L.*),
ПРОИЗРАСТАЮЩЕЙ В УСЛОВИЯХ ЦЕНТРАЛЬНОЙ ЯКУТИИ, И
ПЕРСПЕКТИВЫ ЕЁ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ»,**

представленной на соискание учёной степени кандидата биологических наук по
специальности 03.02.08. – Экология

В связи с изменением состояния окружающей среды, на фоне глобальных изменений климата в настоящее время повысилась значимость оценки надежности и устойчивости биоты, испытывающей на себе совокупное действие стресс-факторов разной природы (физические и химические) и их интенсивности (хроническое или острое воздействие).

Изучение механизмов адаптации растений и их устойчивости к меняющемуся химическому и биофизическому окружению как фактору естественного отбора в новых условиях особенно актуально в наше время. Современные условия диктуют освоение новых перспективных видов растений для удовлетворения потребностей человека. Изучение эколого-физиологических особенностей произрастания растительных организмов Центральной Якутии, их биохимического состава в отношении видов, перспективных в качестве сырья для разработки и получения препаратов лекарственного, пищевого и ветеринарного назначения, будет являться актуальным направлением науки на протяжении достаточного времени.

Известно, что растения рода Амарант широко исследуются. Накоплен достаточный материал по использованию и особенностям биохимического состава сортовых Амарантов. Однако исследований, посвященных изучению адаптационного потенциала дикорастущего вида и сортовых представителей рода Амарант, произрастающих в условиях криолитозоны на физиологическом и биохимическом уровнях и оценки радиочувствительности растений, действительно очень мало.

Представленная на защиту диссертация Поскачиной Е.Р. посвящена малоизученному дикорастущему виду щирицы запрокинутой (*Amaranthus retroflexus L.*), перспективам его использования в медицине, ветеринарии, в сельском хозяйстве и других сферах деятельности человека. Впервые показано, что щирица запрокинутая в сравнении с сортами амаранта, рекомендованных для возделывания в Сибири, произрастающих на территории Центральной Якутии, содержит комплекс биологически активных веществ и может быть рекомендована для выращивания в качестве новой культуры сельскохозяйственного, пищевого и медицинского направлений. Ранее также не изучен вопрос радиочувствительности семян дикорастущих и сортовых амарантов, произрастающих в условиях криолитозоны. Предпосевное острое облучение дает возможность оценить адаптационный потенциал исследуемых объектов.

Этим определяется как теоретическая, так и практическая актуальность избранной темы. В работе Поскачиной Е.Р. показано фундаментальное значение физиологических и биохимических особенностей дикорастущего вида и сортовых представителей рода амарантовые в формировании адаптивных возможностей, отражающихся на радиочувствительности их семян. Результаты вносят существенный вклад в изучение экологических и физиологобиохимических особенностей представителей рода Амарант при адаптации к условиям криолитозоны Центральной Якутии. Полученные данные могут быть использованы в области биотехнологии и переработки биосырья. Автором раскрываются перспективы применения травяной муки из биомассы щирицы запрокинутой в качестве кормового продукта в животноводстве лечебно-профилактического, адаптогенного, противостressового действия, а также получение биоактивных комплексов радиопротекторного действия.

Диссертация Поскачиной Е.Р. представляет собой труд, изложенный на 139 страницах, иллюстрированный рисунками и таблицами, содержащий обширную библиографию, включающую 297 наименований литературных источников. Работа построена в традиционном плане и состоит из введения, обзора литературы, экспериментальной части и выводов.

Введение вполне конкретно формулирует цель и общую постановку задачи, а также защищаемое положение, научную новизну и практическую значимость работы.

В разделе «Литературный обзор» приведена характеристика природно-климатических условий Центральной Якутии, проанализированы экологофизиологические и биохимические особенности адаптации растений в Якутии и представителей рода Амарант (*Amaranthus*). Рассмотрено действие острого предпосевного γ -облучения на физиологические и биохимические показатели растительного организма. Проведен анализ данных, представленных в литературных источниках по применению в качестве биосырья представителей рода *Amaranthus* для получения биодобавок и препаратов медицинского и ветеринарного назначения.

Анализируя обзор литературы, необходимо отметить большой объем использованной литературы, тщательность составления обзора, хороший анализ использованных данных. Это подтверждает важность проблемы и серьезный подход автора к анализу литературы.

В целом, необходимо дать положительную оценку обзору литературы.

Раздел «Материал и методики» изложен на 20 страницах. В главе идет описание растительных объектов. Изложенные методы и статистическая обработка результатов позволяет не сомневаться в репрезентативности полученных данных.

Таким образом, можно говорить о высоком методическом подходе к выполнению исследований и о высокой методической подготовки автора диссертации. В качестве замечания стоит отметить слабую обоснованность выбора в качестве модельных объектов сорта амаранта «Чергинский» и «Янтарь».

Содержательная часть диссертации приводится в третьем основном разделе работы, состоящем из четырех глав. Анализ этого раздела диссертационного исследования позволяет сделать общий вывод о том, что полученные автором результаты отличаются необходимой степенью новизны.

В первой части этой главы рассмотрены эколого-физиологические особенности щирицы запрокинутой и двух сортов рода Амарант (*Amaranthus*). Впервые исследованы данные следующих параметрических и физиологических характеристик семян и проростков исследуемых растений, произрастающих в условиях Центральной Якутии: масса 1000 семян, энергия прорастания, всхожесть семян и выживаемость проростков. Полученные низкие показатели натуральных значений всхожести семян и выживаемости по сравнению с сортовыми амарантами, коэффициент выживаемости проростков щирицы запрокинутой имеет самое большое значение среди исследуемых сортовых растений, что, по-видимому, является одной из основных стратегий адаптации, позволяющей данному виду конкурировать за эдафическое пространство в начале периода вегетации.

Во второй части главы представлены ранее неизученные результаты исследований по содержанию в семенах щирицы запрокинутой и двух сортах амаранта масла и сквалена, общего белка и аминокислот, а также содержание амарантина и аминокислот в листьях генеративных растений, которые представляют большой интерес. Установлено, что количество масла в 100 г семян и сквалена в масле щирицы запрокинутой по показателям общего количества масла статистически достоверно не отличалось от культурных сортов. По результатам ВЭЖХ анализа определено, что концентрация сквалена в масле семян щирицы запрокинутой статистически не отличалась от сорта «Янтарь» ($6,6 \pm 0,01$ мг/г_{сух.тк.}), у сорта «Чергинский» отмечено снижение 1,4 раза концентрации сквалена. Проведенные исследования по содержанию общего белка в семенных исследуемых растениях показали, что в семенах щирицы запрокинутой содержание белка составляло 210 мг/г, у сорта «Янтарь» - 192 мг/г, для сорта «Чергинский» этот показатель составил 157 мг/г. Представители амарантовых как высоко белковые культуры представляют значительный интерес. Автором представлены сравнительные данные по содержанию 14 аминокислот в семенах и листьях исследуемых растений. Установлено, что у двух сортов амаранта и щирицы запрокинутой содержание исследуемых аминокислот в семенах и листьях статистически достоверно не отличается. Следует отметить, что семена и листья наиболее богаты такими аминокислотами как аргинин, серин, лейцин и изолейцин. Проведенные автором исследования по изучению содержания амарантинна в листьях показали, что наибольшее количество амарантинна - 0,74 мг/г_{сух. тк.} отмечено в листьях сорта «Чергинский» и щирицы запрокинутой, для сорта «Янтарь» этот показатель был ниже в 1,5 раза и составил 0,48 мг/г_{сух. тк.}

Проведенные исследования выполнены на высоком методическом уровне с использованием наиболее оптимальных методов определения.

Хотелось бы получить ответ у соискателя диссертации в этом разделе, в чем же преимущество щирицы запрокинутой по биохимическому составу относительно других сортовых амарантов?

В третьей части главы представлено исследование адаптивного потенциала щирицы запрокинутой и двух сортов рода Амарант (*Amaranthus*), выросших из γ -облученных семян. Рассмотрены особенности влияния предпосевного острого провокационного облучения γ -квантами ^{60}Co (в диапазоне 0.5÷1000 Гр) семян амаранта сортов «Чергинский», «Янтарь» и щирицы запрокинутой на радиочувствительность, физиологические и биохимические характеристики их семенного потомства. Установлено, что по значению пороговой дозы, рассчитанной по показателям всхожести семян, наиболее чувствительной к облучению является щирица запрокинутая ($D_q=225$ Гр), устойчивым к облучению - сорт «Чергинский» ($D_q=800$ Гр), среднее положение занимает сорт «Янтарь» ($D_q=300$ Гр). Показано, что предпосевное острое γ -облучение исходных семян щирицы запрокинутой не вызвало существенных колебаний в работе систем про- и антиоксидантной защиты клеток проростков у F1 и F2, что свидетельствует о высоком адаптивном потенциале.

Проведенные исследования выполнены на высоком методическом уровне.

В четвертой части главы проведены результаты исследований по адаптации поросят к технологическому стрессу - отъёму в зимний период. Рассмотрено одно из перспективных направлений использования травяной муки из щирицы запрокинутой, произрастающей в условиях Центральной Якутии, в области ветеринарии, в частности, в свиноводстве.

Проведенные органолептические, химико-токсикологические и биохимические исследования растительной муки мелкого помола из биомассы щирицы запрокинутой выявили соответствие всем нормам безопасности. В частности, обнаружены следовые количества токсических элементов (ртуть, свинец, кадмий и мышьяк), что согласно нормативным документам позволяет использовать полученную растительную муку в пищевых целях. Хлорорганические вещества и пестициды не обнаружены.

В результате полученных данных, по эффективности действия травяной муки из биомассы щирицы запрокинутой на адаптацию поросят к технологиче-

скому стрессу-отъёму показал, что через 30 дней после начала эксперимента среднесуточные привесы у опытной группы, получавших травяную муку, составляли $157,0 \pm 16,0$ г, у контрольной группы – $56,0 \pm 6,0$ г. Прирост массы показал истинную скорость роста по сравнению с контролем и составил 24,2%. Следует отметить, что на 30 день эксперимента в контрольной группе у поросят, по-видимому, наблюдалась третья стадия стресса - «истощение», т.к. у животных прослеживалась диарея в течение всего эксперимента, незначительный набор веса и 20 % падеж поголовья, тогда как в опытной группе была зафиксирована 100% сохранность поголовья, обусловленная использованием в рационе поросят травяной муки из щирицы запрокинутой, которая способствовала повышению устойчивости животных организмов к технологическим стрессовым воздействиям, связанных с отъемом (стадия резистентности).

На биохимическом уровне адаптивный ответ на стрессовые условия оценивался по показателям состояния антиоксидантной системы крови животных: интенсивность перекисного окисления липидов, активность СОД и содержание НМАО. На 30 день после отъема в контрольной группе животных на фоне низкого содержания НМАО ($0,2 \pm 0,1$ мг-экв_{кверцетина}/мл_{эритр.} массы) количество МДА достигло максимума ($7,7 \pm 1,0$ нмоль/мл_{эритр.массы}), что свидетельствовало о развитии оксидативного стресса в эритроцитах, что, вероятно, связано с чрезмерным образованием инициаторов свободнорадикального окисления. В опытной группе животных на 30 день эксперимента отмечен рост общей резистентности организма поросят, выразившийся в достоверном снижении уровня ПОЛ в эритроцитах крови животных.

В следующей главе приведены результаты эксперимента по влиянию лиофилизированного экстракта из вегетативных частей щирицы запрокинутой, произрастающей в условиях Центральной Якутии, на формирование радиорезистентности организма мышей при однократном рентгеновском облучении летальной дозой 900 Р (7,83 Гр). Установлено, что водный раствор лиофилизированного экстракта щирицы запрокинутой проявил радиозащитные свойства, выразившиеся в увеличении выживаемости опытной группы животных, кото-

рая составила 80% на 30 день эксперимента при гибели на 15 день эксперимента всех животных из облученной группы. Фактор изменения дозы (ФИД) лиофилизированного экстракта по критерию выживаемости мышей при введении дозы 50 мг на кг массы тела мышей составил 1,5. К моменту гибели 30% лабораторных мышей в группе контроль облучения (на 5-ый день) ФИД лиофилизированного экстракта щирицы запрокинутой по показателю массы тела составил 1,2. Можно предположить, что животные из опытной группы, в которой применялся лиофилизат экстракта щирицы запрокинутой, перенесли лучевое поражение в более легкой форме, выражаяющейся в сохранении аппетита и лучшем усвоением питательных веществ.

Исследования выполнены на репрезентативном материале с использованием современных и наиболее оптимальных методов исследования поставленных задач. Полученные результаты экспериментальной работы имеют большую теоретическую значимость и практическую ценность.

Проведенные гематологические исследования показали изменение количества лейкоцитов, лимфоцитов и нейтрофилов в периферической крови мышей, получивших летальную дозу рентгеновского облучения. В течение эксперимента у животных контрольной группы, получивших облучение, развивался классический ответ на облучение. Так, на 1 сутки наблюдения отмечено резкое снижение лейкоцитов ($1,38 \pm 0,1 \cdot 10^9 / \text{л}$) в крови мышей, в отличие от показателя количественного содержания лейкоцитов в крови мышей из группы биологического контроля ($5,73 \pm 0,3 \cdot 10^9 / \text{л}$). На 5 сутки число лейкоцитов в крови составляло $0,70 \pm 0,1 \cdot 10^9 / \text{л}$. К 5-му дню эксперимента число лимфоцитов и нейтрофилов в крови облученных животных также значительно снизилось на 96,5% и 72,5% соответственно по сравнению с аналогичными показателями у мышей из группы биологического контроля.

В группе мышей, подвергшихся облучению летальной дозой (7,83 Гр), на фоне введения лиофилизированного экстракта щирицы запрокинутой в первые сутки также наблюдалось снижение числа лейкоцитов ($2,39 \pm 0,1 \cdot 10^9 / \text{л}$) по сравнению с показателями крови животных из группы биологического контроля

($5,73\pm0,3\cdot10^9/\text{л}$). В этот период число лейкоцитов снизилось на 58,3%. Минимальное значение отмечено на 15 сутки ($0,59\pm0,1\cdot10^9/\text{л}$), на 20 сутки прослеживается восстановительный период и к моменту завершения опыта (на 30 сутки) количество лейкоцитов выровнялись с аналогичными показателями биологического контроля.

Отмечено, что число лимфоцитов и нейтрофилов в крови мышей этой группы снижалось не столь интенсивно по сравнению с животными из группы контрольного облучения (рис. 4. б, в). Минимальное значение лимфоцитов наблюдалось на 5 сутки эксперимента ($0,72\pm0,1\cdot10^9/\text{л}$), на 15 сутки отмечается повышение уровня лимфоцитов ($1,18\pm0,1\cdot10^9/\text{л}$), а к 20-30 суткам число лимфоцитов восстанавливается и приходит к исходному уровню, то есть к физиологической норме ($3,91\pm0,2\cdot10^9/\text{л}$). Минимальное значение числа нейтрофилов наблюдалось на 15 сутки эксперимента ($0,15\pm0,1\cdot10^9/\text{л}$). С 20 суток отмечается повышение числа нейтрофилов, к концу эксперимента (на 30 день) их количество достоверно не отличалось от аналогичного показателя у животных из биологической контрольной группы.

Установлено, что введение в течение 30 дней лиофилизированного экстракта щирицы запрокинутой облученным летальной дозой мышам позволило ускорить сроки восстановления форменных элементов крови животных и нормализовать количество лейкоцитов, нейтрофилов и лимфоцитов до уровня в биологическом контроле.

Таким образом, применение лиофилизированного экстракта надземной фитомассы щирицы запрокинутой, произрастающей в условиях Центральной Якутии, в ранние сроки после острого однократного облучения летальной дозой способно предотвратить проявление последствий лучевой болезни, выраженное в снижении общего числа лейкоцитов, нейтрофилов и лимфоцитов в периферической крови у подопытных мышей и ускорении темпов их восстановления до нормальных физиологических значений.

Однако, оценивая положительно проведенную работу, следует отметить, что автор диссертации недостаточно обосновала выбор объекта в качестве веществ, проявляющих радиозащитное действие.

Завершают работу 6 выводов, вполне отражающих суть проделанных исследований, и список цитируемой литературы.

В целом, можно отметить, что работа выполнена на достаточно высоком методическом, информативном и научном уровнях, имеет четко выраженные фундаментальные и прикладные аспекты, перспективы развития в обоих указанных направлениях.

Все вышеизложенное позволяет сделать аргументированный вывод о том, что диссертационная работа Е.Р. Поскачиной, представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.08 - "Экология", отвечает требованиям, предъявляемым ВАК России к кандидатским диссертациям, а соискателю может быть присуждена искомая ученая степень.

Отзыв составлен доктором биологических наук, профессором Нюккановым Аяном Николаевичем и кандидатом сельскохозяйственных наук, доцентом Черноградской Натальей Матвеевной и обсужден на заседании кафедры внутренних незаразных болезней, фармакологии и акушерства факультета ветеринарной медицины ФГБОУ ВПО «Якутская государственная сельскохозяйственная академия» протокол № 9 от 17 декабря 2014 года.

Доктор биологических наук, профессор
кафедры внутренних незаразных болезней, фармакологии и акушерства
факультета ветеринарной медицины

ФГБОУ ВПО «Якутская государственная
сельскохозяйственная академия»  Нюкканов Аян Николаевич.

Заведующая кафедрой общей зоотехнии
агротехнологического факультета ФГБОУ ВПО
«Якутская государственная сельскохозяйственная академия»

к. с.-х. н., доцент  Черноградская Наталья Матвеевна.

