

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Экспертной комиссией разового диссертационного совета 6D.KOA-038 при ТНУ в составе -председатель комиссии: д.б.н., профессор Джумаев Б.Б. и члены комиссии: д.б.н., профессор Гиясов Т. Дж. и д.х.н. профессор Раджабзода С., было утверждено на заседании разового диссертационного совета 6D.KOA-038 (протокол №1 от 22 апреля 2023г) по диссертационной работе Сайфудинова А.К., на тему: «Влияние кинетина на ферментативные активности свободного мультиферментного комплекса цикла Кальвина листьев высших растения», на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.01.05 – Физиология и биохимия растений.

Экспертная комиссия разового диссертационного совета при ТНУ рассмотрела диссертационную работу Сайфудинова А.К., на тему: «Влияние кинетина на ферментативные активности свободного мультиферментного комплекса цикла Кальвина листьев высших растения», на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.01.05 – Физиология и биохимия растений.

Предлагает следующее заключение:

Диссертационная работа соискателя Сайфудинова Ахлиддина Киёмовича на тему: «Влияние кинетина на ферментативные активности свободного мультиферментного комплекса цикла Кальвина листьев высших растения», для соискания ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.01.05 – Физиология и биохимия растений полностью соответствует требованиям ВАК при президенте РТ и рекомендуется к защите на разовом диссертационном совете 6D.KOA-038 по специальности 03.01.05 – Физиология и биохимия растений.

Тема диссертационной работы Сайфудинова А.К. актуальна, поскольку посвящена изучению влияния кинетина на активность мультиферментного комплекса ключевых ферментов темновой фазы фотосинтеза (цикла Кальвина) в онтогенезе растений. Особый акцент автором в работе сделан на использование современных биотехнологических методов и впервые проведены сравнительные кинетические исследования рибозофосфатизомеразной, фосфорибулокиназной и рибулозобисфосфаткарбоксилазной реакций мультиферментного комплекса цикла Кальвина в экстрактах из листьев арабидопсиса расы Энкхайм и хлопчатника сорта 108-Ф. Обнаружена зависимость от стадии развития растений скорости рибозофосфатизомеразной реакции мультиферментного комплекса цикла Кальвина в экстрактах из листьев арабидопсиса расы Энкхайм. Степень

активирующего действия кинетина на рибозофосфатизомеразную и фосфорибулокиназную активности в экстрактах из листьев арабидопсиса зависима от возраста растений. Автором доказано, что из трех ферментов мультиферментного комплекса цикла Кальвина наибольшее активирующее действие -300% (три раза) кинетин оказывал на рибулозобисфосфаткарбоксилазную активность в экстрактах из листьев арабидопсиса расы Энкхайм в фазе розеток.

Установлена зависимость от возраста растений активирующего влияние кинетина на скорость фосфорибулокиназной реакции мультиферментного комплекса цикла Кальвина в экстрактах из листьев хлопчатника.

Целью диссертационной работы были сравнительные кинетические исследования каждой в отдельности ферментативной активности мультиферментного комплекса цикла Кальвина в экстрактах из листьев арабидопсиса и хлопчатника и затем изучить влияние кинетина на каждую ферментативную активность мультиферментного комплекса из листьев обоих объектов.

Задачи исследования

- провести кинетические исследования рибозофосфатизомеразной, фосфорибулокиназной и рибулозобисфосфаткарбоксилазной активности мультиферментного комплекса в экстрактах из листьев арабидопсиса и хлопчатника при использовании различных субстратов;

- изучить в онтогенезе растений влияние различных концентраций и способов добавления кинетина на ферментативные активности мультиферментного комплекса в экстрактах из листьев арабидопсиса расы Энкхайм и его мутантов;

- определить действие экзогенного кинетина на ферментативные активности мультиферментного комплекса в препаратах различной степени очистки из листьев хлопчатника;

- изучить зависимость от фазы развития растений влияния различных концентраций кинетина *in vitro* на ферментативные активности мультиферментного комплекса в экстрактах из листьев хлопчатника при использовании различных субстратов;

- исследовать механизм действия кинетина на ферментативные активности мультиферментного комплекса цикла Кальвина.

Научная новизна диссертационной работы заключается в том, что

Впервые проведено сравнительное изучение зависимости от генотипа растений кинетического поведения ключевых ферментов фотосинтеза рибозофосфатизомеразы, фосфорибулокиназы и рибулозобисфосфат-карбоксилазы/оксигеназы мультиферментного

комплекса цикла Кальвина в экстрактах из листьев арабидопсиса и хлопчатника.

Выявлены кинетические параметры каждой из ферментативных реакций, катализируемых мультиферментным комплексом из листьев хлопчатника и арабидопсиса. Максимальная скорость реакции V_{max} ферментов из листьев хлопчатника имеет более высокие значения в сравнении с комплексом из листьев арабидопсиса. Это обусловлено тем, что для мультиферментного комплекса из листьев хлопчатника характерны более сложные и быстрые положительные кооперативные взаимодействия между активными центрами субъединиц ферментов. В результате этого за более короткое время достигаются высокие каталитические активности, значительно превышающие максимальные скорости реакций мультиферментного комплекса из листьев арабидопсиса.

Установлено, что из трех испытанных способов добавления экзогенного кинетина: в процессе гомогенизации листьев, в реакционную среду или и в процессе гомогенизации листьев, и в реакционную среду, оптимальным для активации ферментативных активностей мультиферментного комплекса в экстрактах из листьев арабидопсиса независимо от возраста растений оказалось добавление его в реакционную среду.

Изучена зависимость от концентрации кинетина в реакционной среде ферментативных активностей мультиферментного комплекса в экстрактах из листьев исходной расы Энкхайм и его низкопродуктивного мутанта 58/15. Наибольшее активирующее действие на ферментативные активности независимо от объекта, кинетин оказывал в концентрации 2 мкмоль/мл реакционной среды. Наибольшее активирующее действие - 300% или в три раза кинетин оказал на рибулозобисфосфаткарбоксилазную активность мультиферментного комплекса в экстрактах из листьев арабидопсиса расы Энкхайм.

Обнаружена онтогенетическая зависимость активирующего действия кинетина на ферментативные активности мультиферментного комплекса в экстрактах из листьев арабидопсиса исходной расы Энкхайм и его мутантов – высокопродуктивного - триплекс и низкопродуктивного - 58/15. Наибольшая степень активирующего действия кинетина проявлялась или у очень молодых – шестнадцатидневных растений, или у очень старых – тридцативосьмидневных. Это связано, по-видимому, с недостаточным содержанием эндогенных цитокининов как в листьях очень молодых растений, так и в листьях старых растений.

Установлено, что при очистке экстрактов из листьев хлопчатника на стадии гель-хроматографии на колонке с Сефадекс G-200 способность ферментов мультиферментного комплекса активироваться кинетином полностью терялась. Полученные результаты свидетельствуют о том, что при гель-хроматографии на Сефадексе G-200 происходит застревание (задержка) или (и) рецептора кинетина, или (и) «вторичного» мессенджера (усилителя сигнала), имеющих белковую природу, молекулярная масса которых намного меньше 500 кДа.

Полученные результаты дают основание полагать, что кинетин выполнял в данном случае роль аллостерического эффектора, вызывающего координированные конформационные изменения в мультиферментном комплексе, ведущие к возрастанию максимальной скорости рибозофосфатизомеразной, фосфорибулокиназной и рибулозобисфосфаткарбоксилазной реакции. Механизм действия других фитогормонов может быть иным, чем у кинетина. В будущем необходимо провести дальнейшие специальные исследования.

Практическая значимость работы заключается в том, что полученные результаты проведенных экспериментальных исследований Сайфудинова А.К. имеют важное значение для фитотехники при разработке методов обработки растений экзогенными цитокининами или их аналогами в те фазы развития растений, когда им недостаточно содержания собственных эндогенных фитогормонов, вследствие чего они становятся стресс-чувствительными или стресс-неустойчивыми при неблагоприятных экологических факторах (засуха, засоленность, затопление и т.д.). У хлопчатника сорта 108-Ф установлено что наиболее чувствительными для действия кинетина являются экстракты из растений в фазах бутанизации и особенно цветения. Также это важно для биотехнологических и селекционных работ по созданию растений с направленными изменениями систем гормональной регуляции и хорошей защитной реакцией, для понимания и дальнейшего изучения механизмов регуляции цитокининами функционирования фотосинтетического аппарата высших растений.

Полученные данные можно рекомендовать для чтения лекций по общим курсам биохимии, физиологии и биотехнологии растений, спецкурсов по фотосинтезу, фитогормонам, энзимологии на биологических факультетах ВУЗ-ов.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Функционирование мультиферментных комплексов цикла Кальвина зависит от вида растений, т.е. видоспецифично – это

обусловлено различным характером кинетического поведения ферментов в мультиферментном комплексе;

2. Кинетическое поведение ферментов мультиферментного комплекса цикла Кальвина листьев арабидопсиса значительно отличается от поведения ферментов мультиферментного комплекса листьев хлопчатника. Для мультиферментного комплекса листьев хлопчатника характерны более сложные и быстрые положительные кооперативные взаимодействия между активными центрами субъединиц ферментов, в результате этого за более короткое время достигаются и более высокое сродство к субстрату, и более высокие каталитические активности, значительно превышающие максимальные скорости реакций мультиферментного комплекса листьев арабидопсиса;

3. Влияние экзогенного *in vitro* кинетина на ферментативные активности мультиферментного комплекса цикла Кальвина листьев арабидопсиса и хлопчатника зависит от его концентрации в реакционной среде и возраста растений, что обусловлено, по-видимому, различным содержанием эндогенных цитокининов в разные фазы развития растений. Наиболее чувствительной к добавлению кинетина оказалась фаза цветения растений;

4. В последовательности реакций, катализируемых тремя ферментами мультиферментного комплекса цикла Кальвина – рибозофосфатизомеразой – E_1 , фосфорибулокиназой – E_2 и рибулозобисфосфаткарбоксилазой/ оксигеназой – E_3 , субстраты фермента E_1 – рибозо-5-фосфат и кинетин выполняют роль эффекторов для всех трёх ферментов. Вызванные рибозо-5-фосфатом положительные кооперативные взаимодействия между активными центрами субъединиц рибозофосфатизомеразы усиливаются кинетином и передаются на фосфорибулокиназу и рибулозобисфосфаткарбоксилазу/оксигеназу. Результатом этих взаимодействий между активными центрами ферментов является значительное возрастание каждой ферментативной активности мультиферментного комплекса.

Личное участие автора состоит в постановке цели и задач исследования; планировании и участии в выполнении экспериментальных работ; написании статей и их опубликовании, а также в формулировании выводов и обобщении результатов на всех этапах работы.

Полнота изложения материалов диссертации отражена в 30 работах, включая 14 статей в рецензируемых журналах из перечня Высшей аттестационной комиссии при Президенте РТ, 16 работ, опубликованных в материалах республиканских и международных

конференций, а также, одной монографии, одной методической разработке и 1 авторском свидетельстве. Имеются Акты внедрения результатов НИР в учебном процессе.

Экспертная комиссия считает, что есть некоторые недостатки:

- некоторые литературная обзора посвящены вопросами исторического характера исследования, фитогормонами и к теме диссертации не имеют посредственного отношения;

- выбор оптимального варианта эксперимента с использованием экзогенного кинетина, проводился только для одного из объектов;

- говорит об онтогенезе растений хлопчатника без фаз плодообразования и созревания не корректно. Может быть при этих фазах картина была другая.

Сделанные замечания ни в коей мере не уменьшают достоинство и ценность диссертационного исследования Сайфудинова Ахлиддина .

Экспертная комиссия по разовому диссертационному совету просить принять диссертационную работу Сайфудинова Ахлиддина Киёмовича на тему: «Влияние кинетина на ферментативные активности свободного мультиферментного комплекса цикла Кальвина листьев высших растения» на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.01.05 – Физиология и биохимия растений для защиты на разовом диссертационном совете 6D.KOA – 038.

Комиссия рекомендует:

1. Принять к защите на разовом диссертационном совете 6D.KOA - 038 диссертацию Сайфудинова Ахлиддина Киёмовича на тему: «Влияние кинетина на ферментативные активности свободного мультиферментного комплекса цикла Кальвина листьев высших растения», на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.01.05 – Физиология и биохимия растений.

2. В качестве **официальных оппонентов** экспертная комиссия диссертационного совета предлагает назначить следующих учёных:

1. Ниязмухамедова Мукадам Бабаджановна, доктор биологических наук, профессор главный научный сотрудник лаборатории

генетики и селекции растений Института ботаники, физиологии и генетики растений НАНТ;

2. Усмонов Рустам Махмудович, доктор биологических наук, профессор Института генетики и экспериментальной биологии растений АН Руз;

3. Адурахмонов Нуритдин Атакузиевич, доктор биологических наук, заведующий кафедрой Медицинская биология с основами генетики Медико – социальный институт Таджикистана.

В качестве **оппонирующей организации** предлагаем Таджикский аграрный университет им. Ш. Шотемура.

Председатель комиссии

чл-корр.НАНТ., д.б.н., профессор

Джумаев Б.Б.

Члены комиссии:

д.б.н., профессор

Гиясов Т.Дж.

д.х.н., профессор

Раджабзода С.

Подписи верны:

Ученый секретарь совета 6D.KOA-038

к.б.н., доцент

Иброгимова С.И.

Подпись к.б.н., доцента

Иброгимовой С.И., заверяю

Начальник управления кадров и

Спецчасти ТНУ

Дата: «8» 05 2023



Тавкиев Э.Ш.