

**Заключение диссертационного совета МГУ.015.6
по диссертации на соискание ученой степени доктора наук**

Решение диссертационного совета № 81 от «24» мая 2024 г. о присуждении **Брейгиной Марии Александровне**, гражданке Российской Федерации, ученой степени доктора биологических наук.

Диссертация «Активные формы кислорода как регуляторы взаимодействия между мужским гаметофитом и спорофитом семенных растений» по специальности 1.5.21 – «Физиология и биохимия растений» принята к защите диссертационным советом МГУ.015.6, протокол № 72 от «15» марта 2024 г.

Соискатель **Брейгина Мария Александровна**, 1985 года рождения, в 2007 году окончила биологический факультет ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова» по направлению «Биология».

В 2009 г. Брейгина М.А. в качестве соискателя на кафедре физиологии растений биологического защитила диссертацию на соискание ученой степени кандидата биологических наук на тему «Роль трансмембранного транспорта анионов в регуляции прорастания пыльцевого зерна покрытосеменных растений» по специальности 03.00.12 – «Ботаника» в диссертационном совете Д 501.001.46 ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова».

На момент защиты диссертации соискатель работает на биологическом факультете МГУ на кафедре физиологии растений в должности старшего научного сотрудника. Диссертация выполнена на кафедре физиологии растений биологического факультета ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова».

Научный консультант отсутствует.

Официальные оппоненты:

Попова Лариса Геннадьевна – доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории транспорта ионов и солеустойчивости, ФГБУН «Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН»,

Ремизова Маргарита Васильевна – доктор биологических наук, старший преподаватель кафедры высших растений биологического факультета ФГБОУ ВО «МГУ имени М.В.Ломоносова»;

Медведев Сергей Семёнович – доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой физиологии и биохимии растений биологического факультета ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет»

дали положительные отзывы на диссертацию.

Соискатель имеет по теме диссертации **24** работы, опубликованные в рецензируемых научных изданиях, из них **24** статьи, опубликованные в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных для защиты в диссертационном совете МГУ по специальности 1.5.21. Физиология и биохимия растений. В работах, опубликованных в соавторстве, основополагающий вклад принадлежит соискателю.

Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:

1. **Брейгина М.А.**, Матвеева Н.П., Ермаков И.П. Роль Cl^- в прорастании пыльцевого зерна и росте пыльцевой трубки // Онтогенез – 2009 – т. 40 №3 с. 199-207. // Breygina M.A., Matveeva N.P., Ermakov I.P. The role of Cl^- in pollen germination and tube growth. // Russian Journal of Developmental Biology – 2009 – Vol. 39 №3. p. 157-164. DOI: 10.1134/S1062360409030047 (RSCI IF=0,658; 0,5/0,4)
2. **Брейгина М.А.**, Смирнова А.В., Матвеева Н.П., Ермаков И.П. Изменения мембранного потенциала в процессе прорастания пыльцевого зерна и роста пыльцевой трубки. // Цитология – 2009 – т. 51 №10 с. 815-823. // Breygina M.A., Smirnova A.V., Matveeva N.P., Yermakov I.P. Membrane potential changes during pollen germination and tube growth. // Cell and Tissue Biology – 2009 – Vol. 3 № 6 p. 573-582. DOI: 10.1134/S1990519X0906011X (RSCI IF=0,660; 0,5/0,4)
3. **Брейгина М.А.**, Смирнова А.В., Масленников М.В., Матвеева Н.П., Ермаков И.П. Действие ингибиторов анионных каналов NPPB и DIDS на состояние митохондрий и рост пыльцевой трубки табака. // Цитология – 2010 – т. 52 №4 с. 334-341. // Breygina M.A., Maslennikov M.V., Matveeva N.P., Yermakov I.P. Effects of anion channel blockers NPPB and DIDS on tobacco pollen tube growth and its mitochondria state. // Cell and Tissue Biology – 2010 – Vol. 4 № 3 p. 289-296. DOI: 10.1134/S1990519X10030119 (RSCI IF=0,660; 0,5/0,4)
4. **Брейгина М.А.**, Матвеева Н.П., Андреюк Д.С., Ермаков И.П. Трансмембранный перенос K^+ и Cl^- в процессе активации пыльцевого зерна *in vivo* и *in vitro*. // Онтогенез – 2012 – т. 43 №2 с. 103-112. // Breygina M.A., Matveyeva N.P., Andreyuk D.S., Yermakov I.P. Transmembrane transport of K^+ and Cl^- during pollen grain activation *in vivo* and *in vitro*. // Russian Journal of Developmental Biology – 2012 – Vol. 43 № 2 p. 85-93. DOI: 10.1134/S1062360412020038 (RSCI IF=0,658; 0,6/0,5)
5. **Брейгина М.А.**, Смирнова А.В., Матвеева Н.П., Ермаков И.П. Еще раз об изменениях мембранного потенциала в растущей пыльцевой трубке. // Цитология – 2012 – т. 54 № 1 с. 85-88 (RSCI IF=0,660; 0,3/0,2)
6. Смирнова А.В., Тимофеев К.Н., **Брейгина М.А.**, Матвеева Н.П., Ермаков И.П. Антиоксидантные свойства полимерного матрикса экзины пыльцевых зерен. // Биофизика – 2012 – т. 57 № 2 с. 258-263. // Smirnova A.V., Timofeyev K.N., Breygina M.A., Matveyeva N.P., Yermakov I.P. Antioxidant properties of the pollen exine polymer matrix. // Biophysics – 2012 – Vol. 57 № 2 p. 174-178. DOI: 10.1134/S0006350912020224 (RSCI IF=1,179; 0,4/0,15)

7. **Breygina M.A.**, Matveyeva N.P., Polevova S.V., Meychik N.R, Nikolaeva Y. I., Mamaeva A.S, Yermakov I.P. Ni²⁺ effects on *Nicotiana tabacum* L. pollen germination and pollen tube growth. // BioMetals. – 2012. – Vol. 25. – № 6. – P. 1221 – 1233. DOI: 10.1007/s10534-012-9584-0. (WoS JIF=3,5; 0,8/0,6).
8. Polevova S.V, **Breygina M.A.**, Matveyeva N.P., Yermakov I.P. Periplasmic multilamellar membranous structures in *Nicotiana tabacum* L. pollen grains treated with Ni²⁺ or Cu²⁺. // Protoplasma. – 2014.– Vol. 251. – № 6. – P. 1521 – 1525. DOI: 10.1007/s00709-014-0651-y. (WoS JIF=2,9; 0,5/0,3)
9. Максимов Н.М., **Брейгина М.А.**, Ермаков И.П. Регуляция ионного транспорта на плазмалемме пыльцевых трубок пероксидом водорода. // Цитология – 2015 – т. 57 № 10 с.720-726. // Maksimov N.M., Breygina M.A., Yermakov I.P. Regulation of ion transport across the pollen tube plasmalemma by hydrogen peroxide. // Cell and Tissue Biology – 2016 – Vol. 10 № 1 p. 69-75. DOI: 10.1134/s1990519x16010077 (RSCI IF=0,660; 0,5/0,4)
10. **Breygina M.A.**, Abramochkin D.V., Maksimov N.M., Yermakov I.P. Hydrogen peroxide affects ion channels in lily pollen grain protoplasts. // Plant Biology.– 2016. – Vol. 18. – № 5. – P. 761 – 767. DOI: 10.1111/plb.12470. (WoS JIF=3,9; 0,5/0,4)
11. **Breygina M.A.**, Abramochkin D.V., Maksimov N.M., Yermakov I.P. Effects of Ni²⁺ and Cu²⁺ on K⁺ and H⁺ currents in lily pollen protoplasts. // Functional Plant Biology. – 2017. – Vol. 44. – № 12. – P. 1171 – 1177. DOI: 10.1071/FP17033. (WoS JIF=3,0; 0,5/0,4)
12. Maksimov N.M., Evmenyeva A.A., **Breygina M.A.**, Yermakov I.P. The role of reactive oxygen species in pollen germination in *Picea pungens* (blue spruce). // Plant Reproduction. –2018. – Vol. 31. – № 4. – P. 357 – 365. DOI: 10.1007/s00497-018-0335-4. (WoS JIF=3,4; 0,6/0,4)
13. Podolyan A.O., Maksimov N.M., **Breygina M.A.** Redox-regulation of ion homeostasis in growing lily pollen tubes. // Journal of Plant Physiology. – 2019. – Vol. 243. DOI: 10.1016/j.jplph.2019.153050. (WoS JIF=4,3; 0,8/0,6)
14. **Breygina M.A.**, Maksimov N.M., Polevova S.V., Evmenyeva A.A. Bipolar pollen germination in blue spruce (*Picea pungens*). // Protoplasma. – 2019. – Vol. 256. – № 4. – P. 941 – 949. DOI: 10.1007/s00709-018-01333-3. (WoS JIF=2,9; 0,5/0,4)
15. **Breygina M.A.**, Klimenko E.S. ROS and ions in cell signaling during sexual plant reproduction. // International Journal of Molecular Sciences. – 2020. – Vol. 21. – № 24. DOI: 10.3390/ijms21249476. (WoS JIF=5,6; 0,8/0,7)
16. **Breygina M.A.**, Klimenko E.S., Podolyan A.O., Voronkov A.S. Dynamics of pollen activation and the role of H⁺-ATPase in pollen germination in blue spruce (*Picea pungens*). // Plants.– 2020. – Vol. 9. – № 12. DOI: 10.3390/plants9121760. (WoS JIF=4,5; 0,8/0,6)

17. **Breygina M.A.**, Klimenko E.S., Schekaleva O.I. Pollen germination and pollen tube growth in gymnosperms. // *Plants*. – 2021. – Vol. 10. – № 7. DOI: 10.3390/plants10071301. (WoS JIF=4,5; 1/0,9)
18. Podolyan A.O., Luneva O.G., Klimenko E.S., **Breygina M.A.** Oxygen radicals and cytoplasm zoning in growing lily pollen tubes. // *Plant Reproduction*. – 2021. – Vol. 34. – № 2. – P. 103 – 115. DOI: 10.1007/s00497-021-00403-6. (WoS JIF=3,4; 0,85/0,6)
19. **Breygina M.A.**, Klimenko E.S., Shilov E.S., Podolyan A.O., Mamaeva A.S., Zgoda V.G., Fesenko I. Hydrogen peroxide in tobacco stigma exudate affects pollen proteome and membrane potential in pollen tubes. // *Plant Biology*. – 2021. – Vol. 23. – № 4. – P. 592 – 602. DOI: 10.1111/plb.13255. (WoS JIF=3,9; 0,7/0,5)
20. **Breygina M.A.**, Schekaleva O.I., Klimenko E.S., Luneva O.G. The balance between different ROS on tobacco stigma during flowering and its role in pollen germination. // *Plants*. – 2022. – Vol. 11. – № 7. DOI: 10.3390/plants11070993. (WoS JIF=4,5; 0,8/0,6)
21. **Breygina M.A.**, Voronkov A.S., Galin I., Akhiyarova G.R., Polevova S.V., Klimenko E.S., Ivanov I.A., Kudoyarova G.R. Dynamics of endogenous levels and subcellular localization of ABA and cytokinins during pollen germination in spruce and tobacco. // *Protoplasma*. – 2022. DOI: 10.1007/s00709-022-01766-x. (WoS JIF=2,9; 0,7/0,5)
22. **Breygina M.A.**, Lazareva N.S., Babushkina K.O., Kirilyuk I.A. Pattern of ROS generation and interconversion on wet stigmas in basal and divergent angiosperms. // *Plant Growth Regulation*. – 2023. DOI: 10.1007/s10725-023-01033-w. (WoS JIF=4,2; 0,7/0,5)
23. **Breygina M.A.**, Voronkov A.S., Ivanova T., Babushkina K.O. Fatty acid composition of dry and germinating pollen of gymnosperm and angiosperm plants. // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2023. – Vol. 24. – № 11. DOI: 10.3390/ijms24119717. (WoS JIF=5,6; 0,8/0,6)
24. **Breygina M.A.**, Kochkin D.V., Voronkov A.S., Ivanova T., Babushkina K.O. Plant hormone and fatty acid screening of *Nicotiana tabacum* and *Lilium longiflorum* stigma exudates. // *Biomolecules*. – 2023. – Vol. 13. – № 9. DOI: 10.3390/biom13091313. (WoS JIF=5,5; 0,7/0,5)

На автореферат поступило 8 **дополнительных отзывов**, все отзывы положительные.

Выбор официальных оппонентов обосновывался близостью их научных интересов к теме диссертации, наличием значительного числа публикаций в соответствующей сфере исследования, высоким уровнем профессионализма и отсутствием формальных препятствий к оппонированию.

Диссертационный совет отмечает, что представленная диссертация на соискание ученой степени доктора биологических наук является научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований:

- впервые картированы АФК в растущих пыльцевых трубках голосеменных и покрытосеменных растений;

- выявлена чувствительность пыльцевых трубок к пероксиду водорода и другим АФК, обнаружены мишени для АФК на плазмалемме вегетативной клетки пыльцевого зерна;
- комплексом методов продемонстрирована связь редокс-метаболизма и ионного транспорта на пыльцевых трубках и протопластах, полученных из них;
- выявлена зависимость прорастания у голосеменных и цветковых растений от ионного транспорта и мембранного потенциала;
- впервые с применением комплекса методов, включая ЭПР, изучена динамика продукции АФК на рыльцах растений из разных систематических групп до и после опыления;
- оценена активность ферментов редокс-метаболизма на рыльцах и выявлено значение взаимопревращения АФК для эффективности опыления;
- впервые обнаружена продукция АФК в опылительных каплях хвойных растений;
- описан феномен биполярного прорастания у голосеменных растений и выявлена связь этого явления с генерацией АФК;

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

Коммуникация между мужским гаметофитом и женскими тканями спорофита в прогамной фазе оплодотворения – фундаментальная научная проблема. Разработав концепцию регуляции прорастания пыльцевого зерна низкомолекулярными веществами, в частности, АФК и неорганическими ионами, мы заложили основу для дальнейшей интеграции знаний о контроле опыления и оплодотворения со стороны женских тканей спорофита. Особое значение имеет обнаружение этой регуляторной системы у хвойных растений и представителей базальных групп покрытосеменных растений. Полученные в работе результаты могут быть использованы при дальнейшем исследовании проблем физиологии и эмбриологии растений в научно-исследовательских учреждениях. Также результаты могут использоваться в учебном процессе в университетах и других ВУЗах, ведущих подготовку биологов широкого профиля.

Значение полученных соискателем результатов для практики:

Полярный рост пыльцевой трубки и ее взаимодействие со спорофитом обеспечивают успешное оплодотворение и получение урожая зерновых и плодовых культур, воспроизводство лесных массивов и насаждений, размножение сельскохозяйственных и декоративных растений. Этот процесс может быть точкой приложения усилий для повышения урожайности и ускорения жизненного цикла в условиях антропогенной нагрузки на экосистемы и агросистемы. Особенно остро стоит проблема воспроизводства редких растений со сниженной семенной продуктивностью, в том числе, хвойных растений, многие из которых относятся к медленно растущим. У многих хвойных растений от опыления до оплодотворения проходят год или более. Отсутствие знаний о механизмах, обеспечивающих репродуктивный успех у таких растений, делает их размножение в искусственных условиях сложной задачей.

Диссертация представляет собой самостоятельное законченное исследование, обладающее

внутренним единством. **Положения, выносимые на защиту,** содержат новые научные результаты и свидетельствуют о личном вкладе автора в науку.

1. Активные формы кислорода и трансмембранный перенос ионов вовлечены в регуляцию прорастания мужского гаметофита семенных растений *in vitro*; у голосеменных и цветковых растений их роль принципиально не различается;
2. В мужском гаметофите цветковых растений системы ионного транспорта являются мишенями для действия АФК;
3. Активные формы кислорода являются значимыми регуляторными факторами в составе экссудата рыльца цветковых растений;
4. Разные виды голо- и покрытосеменных растений различаются системами АФК-регуляции прогамной фазы оплодотворения. Особенности отдельных групп растений обусловлены преобладанием той или иной активной формы кислорода, а также концентрацией АФК в рецептивной жидкости.

На заседании «24» мая 2024 г. диссертационный совет принял решение присудить **Брейгиной Марии Александровне** ученую степень доктора биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве **21** человека, из них **7** докторов наук по специальности рассматриваемой диссертации, участвовавших в заседании, из **29** человек, входящих в состав совета, проголосовали: «ЗА» - **21**, «ПРОТИВ» - **0**, недействительных бюллетеней - **0**.

Председатель

диссертационного совета

Ильинский В.В.

Ученый секретарь

диссертационного совета

Гершкович Д.М.

«24» мая 2024 г.