

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 24.2.340.06, СОЗДАННОГО НА БАЗЕ
ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО АВТОНОМНОГО ОБРАЗОВАТЕЛЬНОГО
УЧРЕЖДЕНИЯ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ «НАЦИОНАЛЬНЫЙ
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ НИЖЕГОРОДСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИМ. Н.И. ЛОБАЧЕВСКОГО» МИНИСТЕРСТВА НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ, ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ
СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 22.09.2022 г. № 15

О присуждении Мудрилову Максиму Андреевичу, гражданину России, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Роль переменного потенциала в развитии специфического ответа фотосинтеза при действии локальных раздражителей различной природы» по специальности **1.5.2 – биофизика** принята к защите 06.07.2022 г., протокол № 13, диссертационным советом 24.2.340.06, созданным на базе федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (603022, г. Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23, приказ Минобрнауки РФ от 14 октября 2016 года № 1256/нк).

Соискатель, Мудрилов Максим Андреевич, 1993 года рождения, в 2017 г. закончил ННГУ им. Н.И. Лобачевского. Диплом магистра № 105204 0019786 регистрационный номер 37-134 выдан 5 июля 2017 г. ННГУ им. Н.И. Лобачевского.

В период с 2017 г. по 2021 г. обучался в аспирантуре, сдал кандидатские экзамены по специальности 1.5.2 – Биофизика. Справка о сдаче кандидатских экзаменов СУ 018500 от 03.06.2022 г.

В период подготовки диссертации соискатель Мудрилов М.А. работал на кафедре биофизики Института биологии и биомедицины ННГУ им. Н.И. Лобачевского в должности младшего научного сотрудника.

Диссертация Мудрилова Максима Андреевича «Роль переменного потенциала в развитии специфического ответа фотосинтеза при действии локальных раздражителей различной природы» выполнена на базе кафедры биофизики Института биологии и

биомедицины ННГУ им. Н.И. Лобачевского, была рекомендована к защите на расширенном заседании кафедры биофизики ИББМ 9 мая 2022 г.

Научный руководитель – **Воденеев Владимир Анатольевич** – доктор биологических наук, доцент, заведующий кафедрой биофизики Института биологии и биомедицины Нижегородского государственного университета им. Н.И. Лобачевского

Официальные оппоненты:

Иванов Борис Николаевич – д.б.н., главный научный сотрудник Института фундаментальных проблем биологии РАН, обособленного структурного подразделения Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических исследований Российской академии наук» (г. Пушкино);

Трофимова Марина Сергеевна – д.б.н., заведующая лабораторией мембран растительных клеток Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук» (г. Москва)

дали положительные отзывы на диссертацию.

В положительном отзыве официального оппонента д.б.н. **Иванова Бориса Николаевича** отмечено, что диссертационная работа Мудрилова М.А. посвящена как выявлению особенностей электрического ответа растения, а именно, переменного потенциала, на различные внешние стимулы, так и характера функционального ответа, прежде всего, специфических изменений протекания фотосинтетических реакций при действии на растение определённых внешних факторов. Автор с помощью единого подхода определил характеристики переменного потенциала при действии различных раздражителей, а затем выявил, что различия могут быть обусловлены различным соотношением гидравлического и химического сигналов при распространении переменного потенциала. Далее автором было показано, что изменение квантовых выходов и нефотохимического тушения имело двухфазный характер, параметры которого имеют характерные для стимулов различия, и предположены механизмы этих различий. В конце работы автор привел схему влияния переменного потенциала при действии быстро и медленно меняющихся факторов окружающей среды на изменения рН и жасмоновой кислоты, которые в свою очередь вызывают изменения фотосинтеза во времени.

Несмотря на общую положительную оценку работы, возникает ряд вопросов и замечаний:

1) В обзоре литературы слишком много внимания уделялась потенциалу действия, роль которого в диссертации не исследовалась.

2) В материалах и методах стоило более подробно описать схемы исследования фотосинтетических параметров, отсутствует описание метода измерения квантового выхода фотосистемы I, не расшифрована величина P_m .

3) На рисунке 9 непонятно, откуда взялись 5 значений на кривой в 9Б и 4 в 9Г, кроме того, на стр. 69 описывается измерение параметров переменного потенциала в нераздраженном листе, но не показаны значения этих параметров в виде таблицы или рисунка.

4) Не обозначены границы фаз для каждого из фотосинтетических параметров и изменений рН, и не указано, как производился расчет их амплитуд.

5) Вызывает вопрос фраза автора «Это позволяет предположить о большем участии ВП в регуляции первой, кратковременной фазы фотосинтетического ответа», которая выглядит, будто вторая фаза не связана с переменным потенциалом, хотя сам автор пишет, что «Полученные результаты также свидетельствуют, что ВП вызывает сдвиги концентраций гормонов в нерадраженных участках листа пшеницы» (стр. 96).

6) Многие из рисунков недостаточно хорошо оформлены, имеются неточности в описании, цвета некоторых различных по смыслу кривых совпадают, имеются путаница в ряде обозначений. Данное замечание относится к оформлению диссертации и не снижает научной значимости представленной работы.

Сделанные замечания, тем не менее, не снижают научной значимости и целостности исследований, проведенных автором диссертационной работы.

Диссертационная работа Мудрилова Максима Андреевича «Роль переменного потенциала в развитии специфического ответа фотосинтеза при действии локальных раздражителей различной природы» по актуальности, научной новизне, теоретической и практической значимости полностью соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям «Положением о присуждении учёных степеней», утверждённым постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013, а её автор Мудрилов Максим Андреевич заслуживает присуждения учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.2 — биофизика.

В положительном отзыве официального оппонента д.б.н., **Трофимовой Марины Сергеевны**, отмечено, что диссертация Мудрилова М.А «Роль переменного потенциала в развитии специфического ответа фотосинтеза при действии локальных раздражителей различной природы» лежит в области фундаментальных проблем физиологии растений, решение которых вскрывает молекулярные механизмы, с помощью которых растение

взаимодействует с окружающей средой. Было установлено, что в зависимости от силы и времени стрессового воздействия выявляются характерные для быстро и медленно нарастающих стимулов особенности параметров переменного потенциала, обусловленные активацией разного типа – механо- или АФК-чувствительных Ca^{2+} -каналов посредством распространения по тканям волны давления или диффузии АФК. Автором впервые показано, что подавление фотосинтеза в нераздраженных тканях оказывается более продолжительным при действии длительного нагрева по сравнению с ожогом. Анализ пространственно-временных характеристик электрических сигналов и двухфазного ответа фотосинтеза продемонстрировал, что быстрые и медленные реакции фотосинтеза могут быть опосредованы индуцированными электрическими сигналами сдвигами pH и содержания стрессовых фитогормонов.

Однако при чтении диссертации возникла необходимость задать **уточняющие вопросы и сделать замечания:**

1) В главе «Обзор литературы» не совсем корректно стрессовые сенсоры белковой природы обозначены автором как рецепторы, потому что для последних определена иная миссия в клетке при передаче сигналов.

2) В качестве некоторого недоразумения можно отметить и тот факт, что автор придерживается алфавитного порядка цитирования в обоямах ссылок.

3) Хотелось бы не согласиться с автором, когда он говорит о том, что ингибитор H^{+} -АТФазы плазмалеммы вызывал практически полное подавление ВП как в случае нагрева, так и ожога. В случае нагрева достаточно четко видно, что продолжительная реполяризация ВП сохраняется в отличие от ожога. С какими трансмембранными потоками ионов это может быть связано?

4) Нельзя без оговорок принять утверждение, что «инактивация H^{+} -АТФазы и обусловленный этим входящий поток H^{+} ведут к защелачиванию апопласта и закислению цитозоля и, возможно, хлоропластов». Хочется возразить, что H^{+} -АТФаза плазмалеммы Р-типа имеет стехиометрию 1 H^{+} / 1 АТФ, и только ее инактивация, по крайней мере, не должна сопровождаться изменениями как цитозольного, так и внеклеточного pH.

Сделанные замечания не снижают положительного впечатления о работе и носят характер пожеланий на будущее.

Диссертация является завершенной научно-квалифицированной работой, в которой содержится решение одной из приоритетных задач биофизики и физиологии растений. Диссертация соответствует требованиям, изложенным в п.9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» утвержденного Постановлением правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842, предъявляемых к диссертациям на

соискание ученой степени кандидата биологических наук. Автор диссертации Мудрилов Максим Андреевич заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.2. – Биофизика.

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет» (ФГАОУ ВО СПбГУ) (г. Санкт-Петербург) в своем положительном отзыве, подписанном **Медведевым Сергеем Семеновичем**, д.б.н., проф., заведующим кафедрой физиологии и биохимии растений биологического факультета ФГАОУ ВО СПбГУ и утвержденным **Микушевым Сергеем Владимировичем**, к.ф.-м.н., доц., проректором по научной работе ФГАОУ ВО СПбГУ, указала, что диссертационная работа Мудрилова Максима Андреевича «Роль переменного потенциала в развитии специфического ответа фотосинтеза при действии локальных раздражителей различной природы», является законченной научно-квалификационной работой. В диссертации впервые проведен сравнительный анализ параметров переменного потенциала, индуцированного различными стимулами, также были установлены характерные изменения переменного потенциала при быстро и медленно нарастающих внешних стимулах и предложены их возможные механизмы. Показано, что различия в системном ответе могут быть связаны с индуцированными электрическими сигналами сдвигами pH и содержания ряда фитогормонов. Автором выявлены специфические изменения ряда параметров фотохимических процессов фотосинтеза, индуцированных переменным потенциалом.

Замечания и вопросы к работе:

1. Почему в ходе ингибиторного анализа на растениях гороха и пшеницы был использован разный набор ингибиторов? Оказывают ли эффект использованные ингибиторы не только на генерацию, но и на распространение переменного потенциала?
2. Могут ли наблюдаемые эффекты быть следствием неспецифического влияния использованных ингибиторов?
3. Представленные на рис. 27 различия в устьичной проводимости нельзя назвать слишком значимыми в период начала развития второй фазы системного ответа фотосинтеза, хотя именно это приводится в качестве доказательства участия работы устьиц в регуляции системного ответа фотосинтеза.
4. В работе говорится, что переменный потенциал способствует адаптации растений к неблагоприятным условиям внешней среды. Есть ли какие-либо сведения о том, что переменный потенциал действительно повышает устойчивость растений?
5. Имеются замечания по оформлению. Например, рисунки 8 и 9 выглядят не очень четко. Также имеются орфографические ошибки, например, на стр. 14

«высвобождения», стр. 22 «вызывает» и другие.

Диссертационная работа Мудрилова Максима Андреевича на тему «Роль переменного потенциала в развитии специфического ответа фотосинтеза при действии локальных раздражителей различной природы», является законченной научно-исследовательской работой, имеющей научно-практическое значение. Диссертация соответствует паспорту специальности 1.5.2 – «Биофизика», отвечает требованиям пунктов 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 года №842 (с изменениями постановления правительства Российской Федерации от 28 августа 2017 года №1024 «О внесении изменений в Положение о присуждении ученых степеней»), а ее автор Мудрилов Максим Андреевич заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.2 – «Биофизика».

Соискатель имеет 11 опубликованных научных работ по теме диссертации, из них 5 статей в рецензируемых научных изданиях, включённых в Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук, 6 тезисов в материалах конференций. Опубликованные работы посвящены исследованию переменного потенциала в высших растениях и вызываемого им системного ответа при действии различных раздражителей. Опубликованные работы в полной мере отражают результаты диссертационного исследования.

Авторский вклад соискателя составляет 90. Недостоверные сведения об опубликованных соискателем ученой степени работах, в которых изложены основные научные результаты диссертации, в диссертации Мудрилова М.А. отсутствуют.

Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:

1. Vodeneev V., Mudrilov M., Akinchits E., Balalaeva I., Sukhov V. Parameters of electrical signals and photosynthetic responses induced by them in pea seedlings depend on the nature of stimulus // Functional Plant Biology. 2018. V. 45(1-2). P. 160–170
2. Sukhova E., Mudrilov M., Vodeneev V., Sukhov V. Influence of the variation potential on photosynthetic flows of light energy and electrons in pea // Photosynthesis Research. 2018. V. 136(2). P. 215–228
3. Mudrilov M., Katicheva L., Ladeynova M., Balalaeva I., Sukhov V., Vodeneev V. Automatic determination of the parameters of electrical signals and functional responses of plants using the wavelet transformation method // Agriculture (Switzerland). 2020. V. 10(1). P. 7
4. Mudrilov M., Ladeynova M., Berezina E., Grinberg M., Brilkina A., Sukhov V., Vodeneev, V. Mechanisms of specific systemic response in wheat plants under different locally

acting heat stimuli // Journal of Plant Physiology. 2021. V. 258-259. P. 153377

5. Mudrilov M., Ladeynova M., Grinberg M., Balalaeva I., Vodeneev V. Electrical Signaling of Plants under Abiotic Stressors: Transmission of Stimulus-Specific Information // International Journal of Molecular Sciences. 2021. V. 22(19). P. 10715

Указанные публикации входят в перечень ВАК и международные реферативные базы данных и системы цитирования Web of Science и Scopus.

На диссертацию и автореферат поступило 3 отзыва, все положительные. В отзывах указывается, что представляемая работа характеризуется высоким теоретическим и экспериментальным уровнем, по своей новизне и актуальности имеет большое научное и практическое значение, соответствует требованиям Высшей аттестационной комиссии. Отзывы получены из:

1. ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет», за подписью д.б.н., проф., зав. кафедрой биофизики и биотехнологии медико-биологического факультета **Артюхова Валерия Григорьевича** и д.б.н., доцента каф. биофизики и биотехнологии медико-биологического факультета **Антипова Сергея Сергеевича**, без замечаний.

2. ФГБОУ ВО «Марийский государственный университет» за подписью д.б.н., доц., проректора по инновационной деятельности и цифровой трансформации **Белослудцева Константина Николаевича**, без замечаний.

3. ФГБОУ ВО «Нижегородская государственная сельскохозяйственная академия» за подписью к.б.н., доц., зав. кафедрой ботаники, физиологии и защиты растений **Крутовой Елены Константиновны**, без замечаний.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается их соответствием критериям требований, изложенных в пп. 22 и 24 «Положения о присуждении учёных степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842: являются компетентными по заявленной в диссертации соискателя специальности, имеют профильные публикации по проблеме диссертационного исследования и способны объективно оценивать актуальность темы диссертации, а также достоверность, теоретическую значимость и научно-практическую ценность полученных в работе результатов (сведения о них размещены на официальном сайте ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского»: <https://diss.unn.ru/1287>).

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

- **разработан** методический подход автоматической обработки результатов

измерений электрической и фотосинтетической активности на основе вейвлет-анализа;

- **предложена** схема развития стимул-специфичного системного ответа при действии различных раздражителей;
- **показана** специфичность параметров переменного потенциала и ответа фотосинтеза, при действии различных стимулов;
- **выявлены** механизмы специфичности переменного потенциала и системного ответа при действии быстро и медленно нарастающих стимулов;
- **доказана** связь между параметрами переменного потенциала и параметрами индуцированного им системного ответа.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

- **проведено** комплексное исследование особенностей системного ответа при действии различных раздражителей;
- **доказана** связь между параметрами переменного потенциала и параметрами системного ответа;
- **изучены** особенности переменного потенциала и вызванного им системного ответа при действии различных типов раздражителей;
- **раскрыты** механизмы различий параметров переменного потенциала и вызванного им системного ответа фотосинтеза;
- **охарактеризованы** основные черты переменного потенциала и системного ответа при действии быстро и медленно нарастающих стимулов.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:

- **разработан** алгоритм автоматической обработки результатов с использованием вейвлет-анализа;
- **изложены** результаты, объясняющие специфичность параметров переменного потенциала и вызванного им системного ответа и механизмы, обеспечивающие эти различия.

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

- **для экспериментальных работ** использовано современное оборудование, обеспечивающее надежность полученных данных; проведено большое количество экспериментов, позволяющее оценить воспроизводимость результатов исследований, использованы стандартные методы статистического анализа, позволяющие оценить достоверность полученных результатов.
- **теория** построена на известных данных об электрических сигналах и системном

ответе в растениях;

- **идея** базируется на обобщении данных литературы и полученных экспериментальных результатах;

- **использованы** как современные методы исследования: определение световых параметров фотосинтеза методом РАМ-имиджинга, изменений pH методом флуоресцентного имиджинга, – так и классические методы исследования: определение внеклеточной электрической активности при помощи Ag/AgCl-макроэлектродов, ингибиторный анализ;

- **установлено**, что результаты работы согласуются с современными данными в области биофизики, не противоречат результатам исследований других авторов, расширяют и дополняют их.

Личный вклад соискателя состоит в участии в проведении работы на всех этапах её выполнения, включая изучение научной литературы по теме исследования, проведение исследований, сбор, обработку, интерпретацию полученных результатов, их анализ, обсуждение и графическое отображение, разработку алгоритма автоматической обработки результатов на основе вейвлет-анализа, а также подготовку научных статей и представление результатов на конференциях.

Диссертация является целостным, законченным научным исследованием, охватывает основные вопросы поставленной научной проблемы и соответствует критериям внутреннего единства, что подтверждается четкой логикой и соответствующей содержанию работы структурой исследования, формулировками цели работы и выводов на основании полученных результатов. Диссертация соответствует требованиям пунктов 9-11, 13, 14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года № 842.

В ходе защиты диссертации были высказаны следующие критические замечания и заданы вопросы: почему параметры переменного потенциала вблизи места воздействия для всех стимулов сходны, а при распространении возникают различия? Есть ли данные о соотношении роли и значимости различных типов электрических сигналов в формировании специфичности функционального ответа? Есть ли перспективы практической реализации вашего исследования? Возможна ли биологическая целесообразность в особенностях функционального ответа при нагреве и ожоге?

Соискатель Мудрилов М.А. ответил на задаваемые ему в ходе заседания вопросы и привел собственную аргументацию, указав, что: причины различий в параметрах переменного потенциала связаны с различным вкладом химической и гидравлической компонент в распространение сигнала. При распространении сигналов различного типа в

растениях будет возникать функциональный ответ, содержащий не специфичный, общий для всех типов сигналов, компонент, а также специфичная для типа электрического сигнала составляющая. Результаты исследования в перспективе можно использовать в «умном сельском хозяйстве», для мониторинга состояния растений, а также для отбора устойчивых к стрессу сортов. Особенности функционального ответа могут иметь важное значение в ответных реакциях на быстро и медленно нарастающие стимулы, в первом случае необходим оперативный, локальный ответ, во втором – необходим охват всего растения или большей его части.

На заседании 22 сентября 2022 года диссертационный совет принял решение за решение научной задачи по выявлению роли переменного потенциала в развитии специфичного ответа фотосинтеза при действии различных типов раздражителей, имеющих значение для развития биофизической науки присудить Мудрилову Максиму Андреевичу ученую степень кандидата биологических наук по специальности 1.5.2 – биофизика.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 14 человек, из них 5 докторов наук по специальности 1.5.2 – биофизика, участвовавших в заседании, из 20 человек, входящих в состав совета, дополнительно введены на разовую защиту 0 человек, проголосовали: за 14, против 0, недействительных бюллетеней 0.

Зам. председателя

диссертационного совета

Дерюгина Анна Вячеславовна

Ученый секретарь

диссертационного совета

Акинчиц Елена Константиновна

22 сентября 2022 года

