Отзыв официального оппонента на диссертацию на соискание ученой степени кандидата биологических наук Суховой Екатерины Михайловны на тему: «Оценка применимости нормализованных индексов отражения для выявления локального и системного действия неблагоприятных абиотических факторов на высшие растения» по специальности 1.5.2 — биофизика

Диссертационная работа Суховой Е.М. посвящена обнаружению оптических характеристик растений, изменения которых в наибольшей степени коррелируют с изменениями фотосинтетических характеристик высших растений, что особенно важно при оценке состояния растений в стрессовых условиях. Анализ спектральных характеристик отраженного света представляет собой активно развивающееся направление в настоящее время с целью дистанционного мониторинга растений. Стрессовые условия приводят к изменению фотосинтетической активности растений и, как следствие, к снижению продуктивности. Дистанционный мониторинг растений способствует ранней диагностике измененного состояния растений как при действии абиотических, так и биотических факторов, что необходимо для принятия своевременных мер защиты растений.

Известно, что анализ полных спектров отраженного света листьями растений несет избыточную информацию, поэтому использование нормализованных индексов отражения, рассчитанных на основании интенсивностей отраженного света при отдельно взятых оптических длинах волн, является необходимым инструментом для адекватной интерпретации результатов измерений. Важным при этом является обнаружение таких индексов отражения, изменения которых в значительной мере коррелируют с изменениями в протекании фотосинтеза растений. Именно этой проблеме посвящена работа Суховой Е.М. Учитывая этот факт, актуальность выбранной темы диссертационной работы не вызывает сомнений.

Цель исследования достаточно ясно сформулирована. Представленная работа имеет теоретическую и практическую значимость и характеризуется научной новизной. Научные положения, выносимые на защиту, являются обоснованными. Выводы достоверны.

Диссертация Суховой Е.М. структурно построена по традиционном плану и включает в себя такие разделы, как введение, обзор литературы (глава 1), материалы и методы (глава 2), разделы с результатами исследования (главы 3-5), заключение, выводы и список литературы.

Во введении обосновывается актуальность и формулируются цели исследования, отмечается научная новизна работы и выносимые на защиту научные положения.

Литературный обзор содержит необходимую для понимания современного состояния проблемы информацию. Подробно описаны существующие оптические методы для мониторинга, основанные на измерении флуоресценции хлорофилла, тепловидении, RGB-имиджинге анализе характеристик спектральных отраженного растениями света. Обоснована связь вегетационных, водных, пигментных индексов отражения физиологическими \mathbf{c} процессами фотосинтетическом аппарате растений. Отдельно рассмотрен так называемый фотохимический индекс отражения как один из наиболее активно исследуемых в литературе в настоящее время.

Методический арсенал представленной работы, описанный в главе 2, обширен. В диссертации использованы не только традиционные физиологические методы, но и применены оригинальные подходы для одновременного измерения фотосинтетических параметров с помощью Dual-PAM-100 и отражения света листьями растения с помощью спектрометра S100. Принципиально важным представляется разработка в ходе выполнения диссертационной работы собственных программных инструментов для скрининга возможных индексов отражения в диапазоне 400–700 нм.

В работе использована уникальная система для измерения пространственного распределения фотохимического индекса отражения, разработанная совместно с коллективом Института прикладной физики РАН, в которой применяли импульсы желто-зеленого измерительного света для уменьшения влияния фонового освещения других источников. Кроме того, проведено математическое моделирование ионного

транспорта через плазматическую мембрану, буферных свойств апопласта и цитоплазмы, транспирации и проводимости устьиц, диффузии калия, протонов и CO_2/HCO_3^- , ассимиляции углекислого газа, дыхания и содержания $AT\Phi$.

Следует отметить глубокое понимание соискателем природы измеряемых параметров и их взаимосвязи с представленными математическими моделями.

Первый раздел результатов диссертационной работы (Глава 3) посвящен комплексному исследованию влияния кратковременного водного дефицита на индексы отражения листьев гороха, влияния повышенной температуры на индексы отражения листьев гороха, пшеницы и тыквы, а также влияния длительной почвенной засухи на индексы отражения листьев гороха и пшеницы. На основе построения тепловых карт выявлены новые индексы отражения, которые могут быть использованы для оценки действия неблагоприятных факторов на растения; при этом учитывали не только величины индексов, но и величины их изменений. В работе Екатерины Михайловны предложены два новых нормализованных индекса отражения, рассчитываемые на основании длин волн 613 и 605 нм, и длин волн 670 и 432 нм, которые могут быть использованы для дистанционного мониторинга состояния растений, поскольку характеризуются наибольшей чувствительностью к действию изучаемых факторов.

При оценке влияния локальных ожогов обнаружены наиболее чувствительные индексы отражения, рассчитанные на основании изменения спектральных характеристик в диапазонах 540–625 нм и 520–560 нм, а также диапазонах 510–560 нм и 450–520 нм.

В главе 4 рассматриваются подходы к увеличению эффективности использования фотохимического индекса отражения (PRI) для оценки состояния растений. Традиционно, PRI рассчитывают на основе интенсивностей отраженного света при двух длинах волн: 531 нм (связывают с деэпоксидацией виолаксантина до зеаксантина в ходе ксантофиллового цикла,) и 570 нм (отражение не зависит от действия неблагоприятных факторов, что позволяет использовать эту длину волны как референсную). Преимуществом представленной диссертационной работы является разработка подхода для измерения PRI с использованием вспышек желтозеленого измерительного света, что привело к повышению точности регистрации

фотохимического индекса отражения. При этом автором впервые показано, что использование рассчитанных на основе интенсивностей отраженного света при 545 нм или 555 нм вместо 531 нм обеспечивало более высокую чувствительность индекса к изменениям фотосинтетических процессов. Выявлены некоторые механизмы формирования изменения PRI у растений. Показана корреляция не только с максимальным квантовым выходом фотосистемы 2, но и с эффективными квантовыми выходами фотосистемы 2 и фотосистемы 1, а также с параметрами нефотохимического тушения хлорофилла а при действии неблагоприятных факторов и распространении электрических сигналов. В частности, впервые достоверно показана связь PRI с изменениями рН люмена хлоропластов, а именно с закислением люмена, что является одним из ключевых результатов представленной работы.

В главе 5 обсуждена важность оценки пространственной неоднородности фотохимического индекса отражения листа; такая неоднородность может быть вызвана как быстрыми, так и медленными процессами. Важным заслуживающим отдельного внимания результатом этой части работы является обнаружение существенного вклада в пространственную неоднородность скорости линейного электронного транспорта и ассимиляции углекислого газа вследствие изменения проводимости устьиц. Такие данные были получены как экспериментальным путем, так и при помощи математического моделирования.

Разделы заключение и выводы обобщают результаты диссертационной работы.

Полученные в диссертационной работе Суховой Е.М. результаты представлены в серии публикаций в высокорейтинговых журналах (Биологические мембраны, Plants, Functional Plant Biology, Remote Sensing, Photosynthesis Research и др.), которые являются базовыми для исследователей фотосинтеза, физиологии и биофизики растений. Результаты апробированы на всероссийских и международных конференциях, где получили высокую положительную оценку.

У оппонента отсутствуют замечания к основным разделам диссертационной работы, таким как цель, задачи, актуальность, научная новизна, результаты и

выводы. Однако при прочтении диссертационной работы возникли некоторые вопросы, требующие комментариев со стороны соискателя:

- 1. В литературном обзоре не представлены данные об изменении пигментного состава листьев в течение дня; такие изменения могут сказываться на измерении пигментных индексов отражения и оценке неоднородности индексов отражения.
- 2. Автором предположено, что выявленные в ходе работы изменения индексов отражения при 613 и 605 нм могут быть связаны с изменением содержания хлорофиллов *а* и *b*; такое предположение было сделано на основе литературных данных. Целесообразным было бы проведение измерений содержания данных пигментов при действии исследуемых факторов с целью подтверждения такой корреляции.
- 3. На рисунках 5.2 и 5.7 в подписи к рисункам указаны условия (кратковременного?) водного дефицита, в то время как на самих рисунках фигурирует «засуха», однако термин «засуха» автором используется при описании результатов действия длительной почвенной засухи.
- 4. Не совсем понятно как в разделе 5.3 учитывался ионный транспорт через плазмалемму, включавший работы калиевых каналов, H⁺-ATФазы и K⁺/H⁺- антипорта.
- 5. Известно, что при действии стрессовых факторов активируется не только циклический электронный транспорт вокруг фотосистемы 1 в фотосинтетической электрон-транспортной цепи, но и увеличивается скорость переноса на молекулярный кислород (реакция Мелера или так называемый псевдоциклический электронный транспорт). Возникает вопрос, можно ли попытаться учесть этот факт при моделировании?

Несколько ухудшают положительное восприятие опечатки в тексте (стр. 7, стр. 8, стр. 25, стр. 29, стр. 33, стр. 55 и т.д.). Однако указанные замечания не умаляют значимости диссертационной работы.

Диссертация Суховой Екатерины Михайловны: «Оценка применимости нормализованных индексов отражения для выявления локального и системного действия неблагоприятных абиотических факторов на высшие растения» является законченной научно-квалификационной работой. Считаю, что диссертационная

работа Суховой Е.М. полностью соответствует требованиям п. 9 Положения о присуждении ученых степеней, утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24.09.2013г. (в действующей редакции), а ее автор Сухова Е.М., несомненно, заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.2 – биофизика.

Ведущий научный сотрудник лаборатории фотосинтетического электронного транспорта, зам. директора Института фундаментальных проблем биологии Российской академии наук, Обособленного подразделения ФГБУН ФИЦ «Пущинский научный центр биологических исследований РАН»

доктор биологических наук

Мария Мансуровна Борисова

Адрес: 142290, г. Пущино, ул. Институтская д. 2

Тел.: +7(4967)73-27-15

E-mail: mubarakshinamm@gmail.com

Подпись Борисовой Марии Мансуровны заверяю

Ученый секретарь

к.ф.-м.н.

Гудков Николай Демьянович

27 декабря 2022 года