

ОТЗЫВ официального оппонента

на диссертацию в виде научного доклада на соискание ученой степени

доктора биологических наук Сухова Владимира Сергеевича на тему:

«Вызванная переменным потенциалом быстрая инактивация фотосинтеза у высших растений:

механизмы, связь с теплоустойчивостью, подходы к управлению и мониторингу»

по научной специальности 1.5.2. – «Биофизика»

Диссертационная работа В.С. Сухова, представленная в виде научного доклада на соискание ученой степени доктора биологических наук, посвящена, главным образом, многостороннему и углубленному изучению механизмов воздействия переменного потенциала (ВП), индуцированного сильным термическим воздействием (ожогом) на лист растения, на световые и темновые реакции фотосинтеза, и возможной роли этого процесса в повышении резистентности основных компонентов фотосинтетического аппарата и всего растения к стрессовым воздействиям, прежде всего, к повышенной температуре.

В настоящее время сохраняется достаточно высокий интерес со стороны научного сообщества к изучению феномена ВП у высших растений, к механизмам его возникновения и распространения. В течение последней декады появилось большое количество опубликованных экспериментальных данных и обзорных статей, в том числе с участием соискателя, свидетельствующих о прогрессе в исследовании отдельных аспектов ВП, в том числе, исследованию воздействия ВП на базовые метаболические процессы в клетках листа и его возможной регуляторной роли в отношении фотосинтетических реакций. Несмотря на подобный интерес к этому явлению и наличие достаточно большого количества обзорных публикаций, на сегодняшний день в научной среде отсутствует целостная картина и консенсус на природу и роль ВП в растениях. В частности, это касается механизмов зависящей от ВП инактивации реакций фотосинтеза и представлений о возможной роли такой регуляции в качестве адаптационного механизма. При этом известно, что индуцированная стрессовыми воздействиями инактивация первичных реакций фотосинтеза, в первую очередь, фотосистемы 2 широко распространена в природе и носит приспособительный характер, повышая устойчивость основных компонентов фотосинтеза и растения в целом к действию неблагоприятных факторов.

Диссертационное исследование В.С. Сухова представляет собой результат многолетнего системного подхода к изучению феномена ВП и вызванных им метаболических изменений в высших растениях; при этом работа сфокусирована на детальном исследовании биофизической природы феномена и механизмов его влияния, в первую очередь, на первичные реакции

фотосинтеза. Поскольку изучение путей регуляции фотосинтеза является приоритетной фундаментальной задачей в связи с глобальной значимостью данного процесса, то важность выбранной темы диссертационной работы является очевидной. В целом, поставленная в диссертационной работе научная цель и задачи характеризуются актуальностью и научной новизной, а научные положения, выносимые на защиту, являются обоснованными.

Разделы диссертационного доклада, относящиеся к литературному обзору, в сжатой форме отражают информацию о необходимых для понимания диссертационной работы направлениях исследований по теме диссертации на сегодняшний день. Заслуженное внимание уделено описанию современных представлений об электрических сигналах у растений и их возможной функциональной роли.

Выполненное исследование выгодно отличается широким методическим арсеналом, включающим как традиционные подходы, применяемые в биофизике, физиологии растений и биохимии, так и оригинальные высокочувствительные оптические методы, разработанные при непосредственном участии соискателя, включая разработки, защищенные патентом. Особенно следует отметить глубокое понимание и мастерское владение автором диссертационной работы современными методами регистрации и анализа флуоресценции хлорофилла, высокоточного измерения электрических потенциалов, спектров отражения, сигналов светопоглощения, соответствующих редокс переходам P700 и электрохромному сдвигу, величин внутри- и внеклеточного pH, др. Преимуществом данного исследования является оригинальный подход к дизайну экспериментов и комбинирование разных методов: основные экспериментальные результаты и выводы подтверждены комплексом данных, полученных при одновременном использовании нескольких независимых методов. Автором разработаны новые подходы на основе регистрации и анализа спектров отражения на листьях, которые могут быть использованы для мониторинга распространения ВП по растению и динамики инактивации фотосинтеза. Важным для выводов диссертационной работы было измерение внутри- и внеклеточного pH в клетках листа в условиях действия ВП, в том числе оценка pH в апопласте и цитоплазме с использованием флуоресцентных зондов, а также в люмене по электрохромному сдвигу. Это позволило выдвинуть принципиальное предположение о защелачивании апопласта листа и вызванном этим процессом снижением уровня CO₂, что было подтверждено методами математического моделирования. С другой стороны, экспериментально показано закисление цитоплазмы клетки листа и, соответственно, стромы и люмена хлоропласта, которое также индуцирует ответные реакции фотосинтеза. Отдельно следует отметить использование в работе методов математического моделирования, в том числе метода Монте-Карло, что позволило усилить доказательную базу для предлагаемой схемы механизмов влияния ВП на

фотосинтез. В частности, путем моделирования показана важная роль вариабельности активности фермента H^+ АТФазы в индукции быстрого метаболического ответа на действие ВП. В целом, именно корректное использование комбинаций разных методов, в том числе математических, позволили выявить тесную взаимосвязь между изменениями ВП и метаболическими процессами в клетках листа и выстроить верифицированную схему путей инактивации фотосинтеза.

Полученные в рамках диссертационной работы экспериментальные результаты являются достоверными с точки зрения использованных подходов, качества представления (рисунки и таблицы) и использованных статистических методов и отражают самостоятельные исследования соискателя. В ходе исследований получено множество новых результатов, но ключевым итогом работы в целом является формулирование универсальной схемы, обобщающей пути регуляции фотосинтетических процессов при распространении ВП по растению; также выдвинуты предположения о функциональной роли этого процесса. Предлагаемые автором механизмы влияния ВП на реакции фотосинтеза имеют многостадийный характер и реализуются несколькими параллельными путями. Ключевым элементом, запускающим метаболический ответ клетки листа на действие ВП, с точки зрения автора, является H^+ АТФаза, инактивация которой индуцирует, как упоминалось выше, изменения рН апопласта листа, цитоплазмы клетки, стромы и люмена хлоропласта. Защелачивание апопласта приводит к снижению доступности CO_2 для цикла Кальвина и, соответственно, росту восстановленности фотосинтетической ЭТЦ на свету и вызванному этим процессом снижению квантовых выходов ФС1 и 2 на свету, активации CEF и росту NPQ. Данный эффект усиливается благодаря одновременному закислению цитоплазмы, стромы и люмена. Как известно, этот процесс может также стимулировать CEF и NPQ. Более того, ВП может влиять на состояние устьиц листа и, таким образом, дополнительно регулировать доступность CO_2 для фотосинтеза. Данная схема быстрого влияния ВП на реакции фотосинтеза (~10 мин) подтверждена экспериментальными данными и результатами моделирования и носит, по-видимому, универсальный характер.

В диссертационной работе проинтегрирован большой массив результатов, полученных автором за многие годы работы по данной теме исследования как самостоятельно, так и в сотрудничестве с исследовательскими коллективами мирового уровня и отдельными учеными, являющимися признанными авторитетами в области изучения электрических сигналов у растений и регуляции фотосинтеза. Полученные результаты отражены в серии публикаций в высокорейтинговых международных журналах, являющихся классическими для специалистов в области биофизики, фотосинтеза и физиологии растений. Большинство опубликованных работ

автора с коллегами по теме диссертационного исследования относятся к журналам Q1 и Q2 уровней WoS, свидетельствуя о высокой актуальности и научной значимости проведенных исследований. Полученные результаты получили положительную оценку коллег на множестве международных конференций высокого уровня.

Работа написана хорошим литературным языком, понятным широкому кругу специалистов в области биофизики и физиологии растений. К таким базовым составляющим диссертационной работы, как тема и цель исследования, новизна и значимость результатов, обоснованность выводов и их соответствие выносимым на защиту положениям отсутствуют существенные замечания. В этой части работа является тщательно продуманной и логически выстроенной. В целом диссертационное исследование вносит значительный вклад в изучение электрических сигналов и путей регуляции фотосинтеза в растениях, а по своей теме, использованным методам, основным выводам и вкладу результатов в научную область соответствует специальности 'Биофизика'.

Тем не менее, при прочтении отдельных разделов диссертационной работы возникают вопросы, которые требуют комментария со стороны автора. Основным является вопрос практической значимости данного исследования в тех прогнозах и перспективах, которые приведены в диссертации. В частности, это касается возможного практического применения выявленных механизмов регуляции фотосинтеза, механизмов управления и имитации ВП и разработанных технологий мониторинга ВП. Так, в разделе 'Теоретическая и практическая значимость работы' указано, что '... разработанные методы управления теплоустойчивостью могут быть использованы для быстрой коррекции ответов растения на условия среды и стать одним из инструментов «точного земледелия»'. Необходимо отметить, что в экспериментальной части диссертационного исследования для индукции ВП, в основном, использовалось локальное термическое воздействие – ожог первого листа, который также вызывал опосредованную регуляцию фотосинтетических реакций, повышение теплоустойчивости фотосинтетического аппарата и целого растения. При этом наблюдаемые изменения квантовых выходов ФС2 и 1 в ближайшем к поврежденному листе были порядка 10% от максимальных значений, внутриклеточные изменения рН были также незначительными (~0.2), а толерантность подвергнутых ожогу растений к нагреву возрастала в узком диапазоне воздействий (нагрев до 53°C). Возникает вопрос: могут ли столь незначительные изменения, вызванные искусственным воздействием - локальным ожогом, иметь практическую целесообразность и значимость в природе или сельском хозяйстве? Для каких естественных условий могут быть актуальны воздействия, способные индуцировать ВП и инактивацию наблюдаемую фотосинтеза? Не является ли спекулятивными предположения о возможной значимости ВП в естественных условиях и сельском хозяйстве? В работе также предполагается

возможность имитации или усиления действия ВП на растение с помощью отдельных реагентов для повышения толерантности к стрессовым воздействиям. Ведутся ли в настоящее время полевые работы в этом направлении? Имеются ли предварительные результаты?

Другие вопросы:

1. В рамках диссертационного исследования разработаны оптические методы на основе высокочувствительного измерения и анализа спектров отражения, параметры которых хорошо коррелируют с показателями ВП, фотосинтеза и содержания воды в растении. В чем преимущество этих методов (PRI, узкополосных и широкополосных спектральных индексов), например, перед прямым измерением NPQ, величина которого значительно возрастает при действии ВП и которое достаточно просто измерить? Можно ли использовать разработанные методы для мониторинга процессов инактивации фотосинтеза при любых других стрессовых воздействиях (без привязки к ВП)?
2. Аббревиатура научных терминов приведена в смешанном (русском и английском) виде, например, CEF (англ.), ФС1 и П (рус.). Лучше придерживаться одного варианта.
3. Расчет циклического электронного транспорта в работе проводится на основе показателей квантовых выходов ФС1 и ФС2. Данный способ, по-видимому, является допустимым. Использовались ли альтернативные традиционные методы оценки CEF, например, путем измерения скорости темнового восстановления P700+ (по сигналу ЭПР или изменению поглощения на 810 нм) после вспышки дальнего красного света?
4. На приведенной схеме (Рис. 29) NPQ и CEF показаны как независимые друг от друга механизмы, однако они взаимосвязаны. Так, известно, что CEF стимулирует NPQ в растениях. Более того, CEF может приводить к росту выработки АТФ.
5. В заключении содержится фраза: 'Учитывая спектр флуоресценции ФСII (Pedrós et al., 2008), вызванные ВП изменения индекса RI(692,662) могут быть связаны с изменениями флуоресценции хлорофилла а; в частности, за счет снижения такой флуоресценции при росте NPQ после распространения переменного потенциала'. Измеряли ли в работе напрямую изменения выхода ФХ при действии ВП?

Вместе с тем, указанные замечания не умаляют значимости диссертационного исследования. Диссертационная работа в виде научного доклада В.С. Сухова соответствует всем требованиям «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842 (ред. от 16.10.2024), предъявляемым к диссертациям на соискание учёной степени доктора наук, а её автор Владимир Сергеевич Сухов заслуживает

присуждения ему учёной степени доктора биологических наук по специальности 1.5.2. -
Биофизика.

Официальный оппонент:

доктор биологических наук, главный научный сотрудник, руководитель НИЦ химико-
биологических и медицинских исследований ФГБОУ ВО «Псковский государственный
университет»

АНТАЛ Тарас Корнелиевич

15.01.2026

Контактные данные:

тел.: +7(925)068-85-60, e-mail: taras_an@mail.ru

Специальность, по которой официальным оппонентом защищена диссертация: 03.01.02 –
«Биофизика»

Адрес места работы:

119992, г. Псков, улица Майора Доставалова, 18, каб. 106 (Учебно-лабораторный корпус
ПсковГУ)

Тел.: +7(925)068-85-60+7; e-mail: antal@pskgu.ru

Подпись сотрудника биологического факультета МГУ имени М.В.Ломоносова

Т.К. Антала удостоверяю:

