

## **Отзыв**

**официального оппонента доктора биологических наук Кулуева Булата Разяповича на диссертационную работу Печёриной Анны Александровны «Индукцированные засолением дистанционные сигналы и их роль в изменении активности фотосинтеза у картофеля», представленную в диссертационный совет 24.2.340.06 при Национальном исследовательском Нижегородском государственном университете им. Н.И. Лобачевского на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.2 – Биофизика (биологические науки)**

### **Актуальность исследования**

Одним из наиболее распространенных абиотических стрессовых факторов для растений является засоление. Причем при действии NaCl у растений часто включаются универсальные механизмы клеточного ответа на абиотические стрессы. Поэтому в лабораторных условиях при моделировании абиотического стресса часто используют именно засоление, которое характеризуется комплексным стрессирующим воздействием, включающим ионный, осмотический и окислительный компоненты. В ответ на засоление у растений регистрируются Ca<sup>2+</sup>-волны и гидравлические сигналы, повышается уровень АФК, изменяется рН, а также изменяется электрический потенциал. Однако большинство исследований проводится на корнях и культурах клеток, а о сигналах, передающихся от корней к побегам при засолении известно гораздо меньше. Влияние вызванных засолением дистанционных сигналов на активность фотосинтеза не исследовано. Кроме этого, исследования активности фотосинтеза проводят чаще всего спустя длительное время после начала засоления и связывают с ограничением устьичной проводимости, наступившим окислительным стрессом или изменением экспрессии генов. Исходя из этого, диссертационное исследование Печёриной А.А. является актуальной.

### **Структура диссертационной работы**

Диссертация А.А. Печёриной изложена на 156 страницах текста, состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследований, результатов и их обсуждения, заключения, выводов, списка литературы. Работа иллюстрирована 34 рисунками и содержит 3 таблицы. Список литературы насчитывает 479 наименований.

Во введении А.А. Печёрина дает обоснование актуальности выбранной темы, четко определяет цель работы и формулирует задачи, необходимые для достижения поставленной цели, приводит положения, выносимые на защиту, дает авторскую оценку научной новизны и практической значимости выполненной научно-исследовательской работы. Диссертационная работа характеризуется высоким уровнем личного вклада соискателя во всех проведенных

экспериментальных работах. Основные результаты были получены лично автором. Диссертационная работа прошла апробацию на 20 российских и международных научных конференциях, результаты исследования изложены в 3 статьях в изданиях, рекомендованных ВАК, а также входящих в Web of Science и Scopus. Весьма примечательной и положительной стороной работы является то, что результаты исследования опубликованы в высокорейтинговых журналах Q1: Agriculture и International Journal of Molecular Sciences.

В обзоре литературы достаточно подробно рассмотрены вопросы влияния засоления на рост, развитие, продуктивность растений и на физиологические процессы в целом, особенно подробно рассмотрены вопросы действия засоления на фотосинтез. В обзоре литературы подробно освещаются направления исследований, обозначенные в задачах диссертации. Также проводится обоснование актуальности и необходимости проведения исследований в рамках диссертации. Первая часть обзора литературы посвящена описанию общего влияния засоления на растения. Также дается информация об изменении экспрессии генов при засолении. Вторая часть обзора литературы посвящена подробному рассмотрению осмотического, ионного и окислительного стресса, вызываемого засолением. В обзоре литературы дается информация о снижении водной проводимости, ионном дисбалансе, окислительном стрессе при засолении. Последний параграф обзора литературы посвящен описанию различных сигналов в растениях, которые индуцируются засолением. Здесь акцент сделан на описании возможных механизмов влияния распространяющихся сигналов на фотосинтез.

Обзор литературы подробный, написан понятным языком, содержит много современной научной информации и может быть рекомендован для использования в учебном процессе у студентов биологических специальностей. При прочтении обзора формируется общее представление об индуцируемом засолении дистанционных сигналах и их роли в различных физиологических процессах.

Необходимо отметить, что А.А. Печёрина провела весьма значительную аналитическую работу с большим числом литературных данных, в том числе опубликованных за последние 5 лет, которые включены в список цитированной литературы. В целом ознакомление с обзором литературы подводит читателя к существованию вопросов и проблем в рассматриваемой области, на решение которых и была направлена диссертационная работа А.А. Печёриной.

В главе 2 «Материалы и методы» приведены подробная характеристика объектов исследований и описание всех использованных в ходе работы методов. Работа характеризуется использованием современных методов биофизики, физиологии, биохимии и биотехнологии растений. Положительной особенностью диссертационной работы является

широкое использование большого числа линий генетически трансформированного картофеля с флуоресцентными метками для имиджинга цитозольного pH, Ca<sup>2+</sup>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, а также Na<sup>+</sup>. Довольно подробно описана процедура измерения фотосинтетической активности. В главе 2 описываются биофизические, биотехнологические, биохимические и физиологические методы. Также приводятся описания методов молекулярно-генетического анализа для подтверждения вставки гена, внеклеточной регистрации электрической активности, измерения концентрации Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> и Cl<sup>-</sup>. В целом, протоколы в главе «Материалы и методы» описаны достаточно подробно и позволяют провести повторные эксперименты другим исследователям.

Самая большая часть диссертационной работы посвящена описанию результатов исследования и их обсуждению. Необходимо отметить, что обсуждение каждого результата приводится сразу после описания полученных данных, что облегчает ознакомление с материалом диссертационной работы. В параграфе 3.1 приведены результаты получения и анализа свойств растений с генетически кодируемым сенсором. Параграф 3.2 содержит данные об изменении активности фотосинтеза, вызванного засолением. Описание и обсуждение результатов изучения роли ионного и осмотического компонентов засоления в изменении активности фотосинтеза приведены в параграфе 3.3. В следующем параграфе даются результаты и обсуждение работ по изучению индуцированного засолением регуляции фотосинтеза. После параграфа 3.4 дается заключение по всем полученным в ходе работы результатам исследования. В заключении говорится об актуальности работы, кратко перечисляются самые важные результаты исследования, характеризующиеся научной новизной.

Выводов приводится 6, сформулированы они четко, непосредственно вытекают из полученных результатов и понятны для читателя. Диссертационная работа А.А. Печёриной написана хорошим научным и понятным языком, все экспериментальные данные сведены в рисунки и обсуждены с привлечением широкого круга литературных данных. В целом, в тексте допущено мало ошибок, текст изложен в логичном порядке и при прочтении возникает четкое убеждение о целостности и завершенности диссертационной работы.

После чтения всей диссертационной работы необходимо отметить основные положительные моменты. Созданы уникальные трансгенные растения картофеля с флуоресцентными сенсорами для изучения изменений уровней Ca<sup>2+</sup>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> и цитозольного pH. Вся работа выполнена на высоком методологическом уровне, а полученные результаты имеют большое значение для развития фундаментальной науки. В заключении согласно всем полученным результатам исследования приведена общая схема ранних изменений активности фотосинтеза, вызванных ионным и осмотическим компонентами засоления.

## **Научная новизна и практическая значимость полученных результатов**

В рамках данной диссертационной работы А.А. Печёриной впервые созданы растения картофеля с генетически кодируемыми флуоресцентными сенсорами Pt-GFP, Case12 и HyPer7. Также автором диссертационного исследования показано, что изменение активности фотосинтеза при обработке корней NaCl развивается в несколько фаз, наиболее ранняя из которых возникает через 10-20 минут после обработки. Результаты полученные А.А. Печёриной могут быть использованы при отборе и создании устойчивых к засолению растений. Также необходимо отметить, что в ходе выполнения диссертационного исследования получены важные сведения для фундаментальной науки. Вызванное распространяющимися из корня в побег сигналами снижение активности фотосинтеза имеет важное значение для формирования устойчивости растения. Продукция АФК в хлоропластах зависит от активности фотосинтеза, поэтому предварительное снижение активности фотосинтеза, вызванное  $\text{Ca}^{2+}$ -сигналом, может предотвратить избыточную продукцию АФК и дальнейшее повреждение фотосинтетического аппарата.

## **Обоснованность и достоверность полученных результатов и выводов диссертационной работы**

Использование для исследований современных методов биофизики, физиологии, биохимии и биотехнологии подтверждают обоснованность и достоверность экспериментальных результатов, представленных в работе А.А. Печёриной, а также выносимых на защиту положений и выводов. Во всех исследованиях выборка достаточна, имеются контрольные варианты, а выбранные методы статистического анализа правильные. В графиках и гистограммах показаны результаты статистического анализа. Приведенные на рисунках данные позволяют проверить соответствующими методами правильность расчетов, сделанных диссертантом. Автор тщательно проверяет полученные данные, оценивает достоверность различий с использованием стандартных методов статистики. Сразу после описания результатов дается сравнение с имеющимися литературными данными и только по результатам обсуждения формулируются выводы. Таким образом, полученные А.А. Печёриной научные результаты и выводы являются обоснованными и достоверными. Следует еще раз отметить и то, что основные результаты диссертации А.А. Печёриной опубликованы в высокорейтинговых журналах, а также апробированы в научных конференциях. Автореферат соответствует содержанию диссертации.

## Вопросы, замечания и комментарии к диссертационной работе

В ходе чтения к диссертационной работе возникли следующие вопросы:

1. Почему, как утверждается в диссертационной работе, именно фотосинтез является одним из самых чувствительных к стрессорам процессов в растениях?

2. При чтении диссертации возник вопрос, чем отличаются микрорастения от развитых растений? Почему в некоторых экспериментах использованы микрорастения, в других же использованы развитые растения?

3. При чтении диссертации осталось не понятным, через какие клетки и ткани идет распространение кальциевых волн от корней к побегам?

К диссертационной работе имеется несколько замечаний:

1. В обзоре литературы отсутствует заключение, в котором обосновывается необходимость проведения диссертационного исследования.

2. Стр. 38. Написано, что агробактерии размножали на питательной среде, содержащей 10 г/л пептона, 10 г/л дрожжей, 5 г/л NaCl и 15 г/л агара. Однако чаще всего используют питательную среду с содержанием 5 г/л дрожжевого экстракта и 10 г/л NaCl.

3. Стр. 38. Написано - промотора вируса табачной мозаики CaMV 35S. Очевидно имелся ввиду промотор вируса мозаики цветной капусты CaMV 35S.

4. По всему тексту дается полное латинское название - *Arabidopsis thaliana*. Надо давать сокращенное название.

5. Стр. 71. Хлопок - это название волокна, а название растения - хлопчатник.

Можно отметить несколько замечаний редакторского характера:

1. Стр. 7. внутри клктки – внутри клетки

2. Стр. 8. и H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> и впервые были - и H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> впервые были

3. Стр. 29. Среди химических главных роль занимают - Среди химических главную роль выполняют.

4. Стр. 29. Фосфатидилиназитол – фосфатидилинозитол

5. Стр. 31. Одним из механизмов активации CAS также может включать гистонметилазу типа H4R3sme2 - Одним из механизмов активации CAS является включение гистонметилазы типа H4R3sme2

6. Стр. 33. пептид CLAVATA3/окружающая эмбрион область 25 (CLE25) – лучше писать пептид CLAVATA3/CLE25 без расшифровки на русский язык.

Сделанные в отзыве замечания не влияют на актуальность, новизну, практическую значимость и фундаментальный характер полученных выводов диссертационной работы.

## Заключение

Диссертационное исследование А.А. Печёриной «Индукцированные засолением дистанционные сигналы и их роль в изменении активности фотосинтеза у картофеля», представленное на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.2 – Биофизика (биологические науки) является законченной научно-квалификационной работой, в которой получены комплексные данные о роли распространяющихся из корня в побег дистанционных сигналов в ранних изменениях активности фотосинтеза, вызванных засолением. По актуальности темы, научному уровню, теоретической и практической значимости результатов диссертация отвечает требованиям п. 9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842 (ред. от 01.10.2018 с изм. от 26.05.2020), а ее автор Печёрина Анна Александровна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.2 - Биофизика.

доктор биологических наук  
по специальности 03.01.03 – Молекулярная биология,  
ведущий научный сотрудник, заведующий лабораторией  
геномики растений Института биохимии и генетики  
– обособленного структурного подразделения Федерального  
государственного бюджетного научного учреждения  
Уфимского федерального исследовательского центра  
Российской академии наук



Булат Разяпович Кулуев

17.02.2026 г.

Адрес: 450054, г. Уфа, проспект Октября, 71  
ibg.anrb.ru, e-mail: molgen@anrb.ru, kuluev@bk.ru  
Тел.: +7 (347) 2356100, +7 (347) 2356088

Подпись Кулуева Б.Р. заверяю,  
Зам. директора ИБГ УФИЦ РАН



Ласточкина О.В.