

**ОТЗЫВ официального оппонента
на диссертацию на соискание ученой степени
кандидата биологических наук Протопопова Федора Федоровича
на тему: «Окислительно-восстановительные состояния фотосистемы 2 и
1 у водорослей под воздействием токсикантов»
по специальностям 03.02.10 - «гидробиология», 03.01.02 - «биофизика»
(биологические науки)**

В современном мире остро стоит проблема загрязнения водных ресурсов. Одним из наиболее перспективных способов решения данной проблемы является разработка новых экспресс подходов к оценке физиологического состояния живых организмов, формирующих водную экосистему. Водоросли являются организмами эдификаторами водных систем. С этих позиций представленную работу, посвящённую изучению флуоресцентных параметров микроводорослей вод воздействием токсикантов, безусловно, следует рассматривать как **современную и важную** в научном и практическом отношениях, а **актуальность темы** рецензируемой диссертации Ф. Ф. Протопопова, «Окислительно-восстановительные состояния фотосистемы 2 и 1 у водорослей под воздействием токсикантов» не вызывает сомнений.

Научная новизна. Впервые проведено комплексное изучение изменений характеристик световых реакций фотосинтеза с помощью одновременной регистрации быстрой и замедленной флуоресценции и редокс состояния P700 ФС1 при воздействии ионов метилртути и фенола на культурах водорослей. Впервые изучены световые и индукционные параметры флуоресценции природного фитопланктона на разных участках реки Москва. Получены характеристические показатели флуоресценции хлорофилла фитопланктона в зависимости от сезона. Проведена оценка сезонного изменения устойчивости фитопланктона реки Москва к воздействию ионов ртути.

Анализ современных методов исследования показывает, что получение информации о таких сложных объектах, как интактные клетки, перспективно

осуществлять через регистрацию изменений оптических параметров объектов. Именно поэтому главный акцент диссертации направлен на выяснение природы биофизических характеристик флуоресценции культур микроводорослей и природного фитопланктона и их изменений при действии загрязняющих веществ. Автор справедливо отмечает, что к сожалению, используемые в настоящее время для гидробиологических исследований традиционные методы отбора биологических проб с последующей камеральной обработкой собранного материала требуют больших затрат времени и малоэффективны в силу значительной пространственно-временной изменчивости сообществ и поэтому не могут обеспечить современный уровень экологического мониторинга.

Работа несет как теоретическую, так и практическую значимость. С *теоретической* точки зрения рассматриваются вопросы, связанные с начальными стадиями изменения первичных процессов фотосинтеза водорослей, затрагивающие механизмы действия токсикантов при краткосрочном воздействии. Результаты исследований имеют важное *практическое* значение для биомониторинга природных водоемов и могут быть использованы при прогнозировании изменений состояния водных экосистем в условиях загрязнения среды. Методики могут быть востребованы природоохранными службами, где необходим непрерывный контроль за состоянием фитопланктона, на морских нефтегазовых предприятиях для контроля водной среды, а также при проведении биотехнологических исследований с использованием микроводорослей. Результаты диссертационной работы используются в учебном процессе кафедры биофизики. Исследованные пигментные мутанты были внедрены как тест-системы по оценке качества воды в лаборатории микробиологии КазНУ им. аль-Фараби.

Материалы диссертационного исследования прошли апробацию на высоком уровне, что подтверждается пятью публикациями в ведущих

отечественных и зарубежных научных изданиях, индексируемых наукометрическими базами Scopus и Web of Science.

Диссертация построена по традиционной схеме и состоит из введения, 3 глав – обзора литературы, материалы и методы исследования, результаты обсуждения, заключения, выводов, списка цитируемой литературы и приложения. Текст диссертации изложен на 124 страницах машинописного текста, содержит 29 рисунка, в том числе 1 в приложении, 6 таблиц, 1 из которых в приложении. Список цитируемой литературы насчитывает 157 источников.

В первой главе - обзоре литературы проанализирована современная литература по организации фотосинтетического аппарата у водорослей и растений, природе быстрой и замедленной флуоресценции хлорофилла *a* в фотосинтетических мембранах и влиянию соединения ртути и фенола на растительные организмы. Особое внимание уделено методическим вопросам регистрации флуоресценции.

Во второй главе подробно описаны объекты и методы исследования. Автор использует широкий набор объектов – культуры зеленых водорослей *Scenedesmus quadricauda*, *Chlamydomonas moewusii*, *Chlamydomonas reinhardtii*, природный материал из трех точек забора реки Москва. Автором был использован широкий спектр приборов для регистрации флуоресценции, что позволило ему существенно продвинуться в изучении действия токсикантов на фотосинтез и, соответственно, на параметры флуоресценции при краткосрочном воздействии.

В третьей главе (результаты и обсуждение) представлены результаты собственных исследований автора. С использованием современных биофизических методов диссертантом были исследованы изменения индукционных кривых быстрой и замедленной флуоресценции, окислительно-восстановительного состояния реакционного центра ФС1 (P700) под воздействием ионов метилртути и фенола для культур зеленых водорослей *Scenedesmus quadricauda* и *Chlamydomonas moewusii* при 3-х

часовой и суточной экспозиции, а также были выявлены наиболее чувствительные параметры флуоресценции и сайты действия токсикантов при краткосрочном воздействии. Поскольку одними из самых распространенных загрязнителей водной среды являются соли тяжелых металлов и органические загрязнения, которые попадая в водоемы, оказывают токсическое действие на фитопланктон, проведенные в диссертации токсикологические исследования на культурах водорослей представляются весьма актуальными. Показано, что токсическое действие ионов метилртути обусловлено снижением электронного транспорта на акцепторной стороне ФС2 и уменьшением энергизации фотосинтетических мембран, что проявляется в изменении параметров флуоресценции. Изменения в пигментном составе, активности донорной стороны ФС2 и акцепторной стороны ФС1 были обнаружены только при воздействии более высоких концентраций метилртути. Диссертантом также была исследована токсичность фенола для культур зеленых водорослей *Scenedesmus quadricauda*. Показано, что токсичность фенола детектируется по уменьшению замедленной флуоресценции, усиливается при суточной инкубации микроводорослей и зависит от выбранной концентрации. При повышении концентрации фенола отмечено дополнительное ингибирование акцепторной стороны ФС2.

Подробно исследованы флуоресцентные характеристик мутантных штаммов микроводоросли *Chlamydomonas reinhardtii* СС-124у-1. В работах, представленных диссертантом в соавторстве, показано практическое применение данных мутантов водорослей для биотестирования водных объектов.

Автором исследована сезонная динамика параметров флуоресценции хлорофилла *a* фитопланктона реки Москва на участках с разной антропогенной нагрузкой. Выявлена динамика параметров флуоресценции (максимального квантового выхода и минимальной флуоресценции) фитопланктона на этих участках в зависимости от сезона. Показано, что

устойчивость фитопланктона к ионам ртути выше в весенний сезон, тогда как в летний сезон устойчивость фитопланктона к токсиканту снижается.

Обобщающий материал дан автором в заключении. В конце диссертации автором сделано 5 основных выводов.

Среди сильных сторон исследования следует отметить его высокий методический уровень. Автором был освоен и использован в работе широкий спектр современных биофизических методов, что позволило получить большой массив достоверных экспериментальных данных, достаточных для решения поставленных задач.

Диссертация не свободна от некоторых недостатков. К замечаниям по работе следует отнести следующее:

1. Разночтения в написании при первом упоминании объектов исследования.
2. Автор получил интересные данные по сезонному мониторингу активности фотосинтеза фитопланктона р. Москвы. Однако следовало бы определить таксономическую доминанту фототрофных организмов фитопланктона в конкретный период исследования. Известно, что устойчивость фитопланктона к конкретному виду токсиканта может существенно зависеть от доминирующей в фитопланктоне группы микроводорослей (диатомовых, цианобактерий или зеленых), сравнить полученные данные с ранее выполненными гидробиологическими работами, для более детального анализа изменений сезонной динамики фотосинтеза фитопланктона. Проанализировать, какой тип микроводорослей определяет пики накопления биомассы фототрофов в течение года в выбранных точках отбора проб фитопланктона на реке Москва.
3. Было бы целесообразно в заключение диссертации более подробно обсудить практические возможности использования разных флуоресцентных методов для диагностики состояния фотосинтетического аппарата и соответственно физиологического статуса клеток микроводорослей. Автор правильно отметил, что сочетание использованных биофизических подходов в комплексе дает оценку физиологического состояния клеток, и это

позволяет рассматривать их как чувствительные индикаторы состояния водной среды.

5. В тексте диссертации присутствуют многочисленные опечатки и стилистические ошибки.

6. Объяснить выбор точек мониторинга состояния фитопланктона на реке Москва только в границах города.

Вместе с тем, указанные замечания не умаляют значимости диссертационного исследования. Диссертация отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В.Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует паспорту специальности по специальностям 03.02.10 – «гидробиология», 03.01.02 – «биофизика» (по биологическим наукам), а также критериям, определенным пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В.Ломоносова, а также оформлена, согласно приложениям № 5, 6 Положения о диссертационном совете Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова.

Таким образом, соискатель Протопопов Федор Федорович заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 03.02.10 - «гидробиология», 03.01.02 - «биофизика».

Официальный оппонент:

Доктор биологических наук,
профессор кафедры биоинженерии,
биологического факультета,
Федерального государственного бюджетного
образовательного учреждения высшего
образования «Московский государственный
университет имени М.В. Ломоносова».

Лобакова Елена Сергеевна

Контактные данные:

тел.: [REDACTED], e-mail: [REDACTED]

Специальность, по которой официальным оппонентом
защищена докторская диссертация: 03.01.05 - физиология и биохимия
растений, 03.02.12. -микология

Адрес места работы:

119234 г. Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12.

Биологический факультет МГУ имени М.В. Ломоносова, кафедра
биоинженерии.

Тел.: [REDACTED]; e-mail: [REDACTED]

Подпись сотрудника биологического
факультета Е.С. Лобаковой удостоверяю:



Е.С. Лобакова