

**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)**

Применение новых современных подходов и направлений в оценке физиологического состояния первичных продуцентов при воздействии токсических веществ является одной из важных задач биомониторинга. Диссертационная работа Ф.Ф. Протопопова посвящена исследованию состояния водорослей при краткосрочном воздействии токсических веществ по изменению параметров флуоресценции. Рецензируемая работа представляется крайне актуальной и важной для разработки оперативных методов определения экологического состояния водных биоценозов.

Получение информации о таких сложных объектах, как интактные клетки водорослей, перспективно осуществлять через регистрацию изменений оптических свойств объекта, благодаря которым можно проводить неконтактные измерения. Именно поэтому в диссертационной работе исследовалось изменение биофизических характеристик флуоресценции культур водорослей при действии токсикантов, а также состояния природного фитопланктона по параметрам флуоресценции. Очевидно, что решение поставленных задач невозможно без технических средств их реализации. Поэтому значительный аспект работы посвящен методологии исследования и описанию современных устройств, использованных автором для обеспечения и постановки всех экспериментальных работ. Автор справедливо отмечает, что используемые в настоящее время классические гидробиологические методы, включающие регистрацию численности, скорости роста и др. требуют больших затрат времени и для оценки отклика водорослей на токсические воздействие требуется более продолжительная инкубация культур водорослей с

токсикантом в отличие от современных биофизических методов, которые позволяют регистрировать воздействие токсиканта сразу же после внесения токсиканта в культуральную среду.

Одно из очевидных достоинств работы – ее комплексный характер. Автором в работе использован широкий набор разных флуориметров, таких как флуориметр с импульсной амплитудной модуляцией (Water-PAM), флуориметр, регистрирующий в микросекундном и миллисекундном временных диапазонах (Aquapen-C100), мультифункциональный анализатор (M-PEA-2), а также ряд спектрофотометров, таких как малогабаритный спектрофотометр, разработанный на кафедре биофизики Биологического факультета на базе спектрометра USB 2000 фирмы Ocean Optics, и спектрофотометра НИТАСНІ-557 и спектрофлуориметра Fluorolog-3. Использование различных научно-методологических подходов позволило автору провести комплексное фундаментальное исследование по изучению краткосрочного воздействия токсикантов на культуры водорослей и выявить показатели, позволяющие оценить характер первоначальных изменений световых реакций культур водорослей при таком воздействии токсикантов. Автором впервые использована методика одновременной регистрации быстрой и замедленной флуоресценции, а также редокс активности P700 на одном объекте – интактных клетках водорослей при краткосрочном воздействии токсикантов (ионов метилртути и фенола).

К несомненным достоинствам работы следует отнести то, что исследования были проведены не только на лабораторных культурах, но и на природном фитопланктоне.

Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов и обсуждений, заключения и выводов, списка цитируемой литературы, списка условных сокращений и приложения. Список литературы состоит из 157 наименований работ. Работа

изложена на 124 страницах машинного текста, состоит из 29 рисунков и 6 таблиц.

Во введении автор формулирует цель и задачи исследования, обосновывает актуальность исследования, научную новизну и практическую значимость. Автором отмечаются достоинства современных биофизических методов для исследования состояний клеток водорослей, в частности фотосинтетических процессов.

Первая глава представляет собой литературный обзор, в котором автор дает описание работы фотосинтетического аппарата растительных клеток, описывает механизмы излучения быстрой и замедленной флуоресценции. Подробно описываются подходы к обработке и анализу данных, полученных методом РАМ и РЕА флуориметрии. Кроме того, представлен литературный обзор по действию соединений ртути и фенола на растительные организмы.

Вторая глава посвящена описанию материалов и методов исследования. Описаны гидробиологические методы культивирования и работы с водорослями. В главе присутствует подробное описание настроек режима регистрации на различных флуориметрах, регистрации быстрых световых кривых на РАМ флуориметре, быстрой и замедленной флуоресценции и редокс состояния Р700 на мультифункциональном флуориметре М-РЕА-2.

Основные результаты диссертации изложены в третьей главе. В первой подглаве автор токсическое воздействие метилртути на культуры водорослей *Scenedesmus quadricauda* и *Chlamydomonas moewusii*. Показано, что метилртуть снижает скорость роста культур водорослей *Scenedesmus quadricauda* и *Chlamydomonas moewusii*, и приводит к снижению фотосинтетической активности водорослей. Выявлено, что ионы метилртути в первую очередь снижали активность акцепторной стороны ФС2, это выражалось в снижении эффективности переноса электрона далее акцептора Q_A, которая приводила к снижению основных параметров флуоресценции

хлорофилла (ЛР-теста), таких как квантовый выход электронного транспорта далее акцептора Q_A (ϕ_{E_0}) и индекс производительности ФС2 (PI_{ABS}). По мимо того метилртуть вызывал снижение электрохимического градиента протонов на мембране тилакоида, что выражалось снижением пиков замедленной флуоресценции. При повышении концентрации ионов метилртути показано снижение активности кислород-выделяющего комплекса и снижение скорости окисления реакционного центра ФС1.

Безусловно одновременная регистрация трех сигналов описывающее редокс изменения состояний ФС2 и ФС1 и энергизации фотосинтетических мембран дает ценную информацию об эффективности процессов в фотосинтетическом аппарате, позволяя точно установить последовательность токсического воздействия различных токсикантов на эффективность фотосинтетических процессов.

Выводы, сформулированные автором, вполне обоснованы, соответствуют и раскрывают поставленную цель и решают поставленные задачи.

В диссертации автор использует основы статистического анализа данных. Обоснованность основных выводов обеспечивается большим объемом экспериментальных данных и статистической обработкой.

По материалам диссертации опубликовано 10 работ, в том числе 5 статей в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ и в цитируемых в международных базах данных Scopus (4), Web of Science (3), RSCI.

Диссертационная работа выполнена на высоком научном уровне и с использованием современных методов и подходов получения и обработки данных. Содержит новые результаты и вносит существенный вклад в понимание механизмов действия токсикантов – метилртути и фенола на световые реакции фотосинтеза. Впервые описаны характеристики флуоресцентных показателей пигментных мутантов *Chlamydomonas*

reinhardtii CC-124y-1, а также изучены характеристики флуоресцентных параметров природного фитопланктона на разных по уровню загрязнения участках реки Москвы. Автором подчеркивает перспективность использования флуоресцентных показателей для биотестирования.

В диссертации не содержатся каких-либо ошибочных или необоснованных положений и суждений, по которым могли бы быть высказаны принципиальные несогласия.

Между тем, следует отметить некоторые недостатки:

1. Автору следовало бы более подробно описать методику определения содержания хлорофилла в природной воде с помощью флуоресценции хлорофилла.
2. К общим замечаниям по диссертационной работе можно отнести присутствие в тексте ряда опечаток.

Перечисленные недочеты и замечания не имеют принципиального характера и не умаляют значения работы, их можно отнести к пожеланиям на будущее.

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 экологии и природопользования,
Института экологии и географии, Федерального
государственного автономного образовательного
учреждения высшего образования «Сибирский
федеральный университет»

Заворуев Валерий Владимирович

14.11.18

Контактные данные:

тел.: , e-mail:

Специальность, по которой официальным оппонентом
зашита докторская диссертация: 03.02.08 - экология

Адрес места работы:

660041, (Красноярский край) г. Красноярск, ул. Свободный, д. 79,
Институт экологии и географии, кафедра экологии и природопользования
Тел.: ; e-mail:

Подпись сотрудника Института экологии и географии В.В.Заворуева
удостоверяю:

