

Отзыв

официального оппонента на диссертационную работу Овсянникова Алексея Юрьевича «Сезонная структурно-функциональная трансформация фотосинтетического аппарата хвои *Picea pungens* Engl, и *Picea obovata* Ledeb. на территории ботанического сада УрО РАН (г. Екатеринбург)», представленной к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.08 - экология (в биологии).

Актуальность темы работы.

Изучение процессов фотосинтеза как основы продуктивности растений, и функции участвующей в механизмах адаптации растений к меняющимся условиям среды актуально и активно изучается, хотя остаются нерешенные проблемы, связанные с участием в этих процессах первичных реакций фотосинтеза, особенно у группы хвойных растений. В работе сделана смелая и интересная попытка - на основании исследования первичных реакций фотосинтеза выявить процессы, которые являются ведущими при адаптации целого организма. Особенно актуальна постановка работы, когда характеристики первичных процессов фотосинтеза (флуоресценции), пытаются проанализировать на уровне донорно-акцепторных отношения хвойных растения в годичном цикле роста и развития.

Научная новизна.

Научная новизна включает возможности применения параметров флуоресценции хлорофилла для описания сезонной акклиматизации ФСА у вечнозеленых растений в условиях интродукции. Автором получена сравнительная характеристика сроков сезонной трансформации ФСА, количества пигментов, водного режима хвои и побегов в годичной динамике у интродуцированного вида ель колючая *Picea pungens* и аборигенного вида ель сибирская *Picea obovata* на Среднем Урале. Получены новые сведения о сопряжении сезонных изменений внутри клеточной локализации хлоропластов мезофилла хвои и активности ФСА в годичном цикле.

Практическая значимость.

Установленные в работе закономерности на уровне первичных процессов фотосинтеза могут быть использованы для прогноза смещения границ ареала рода *Picea* в случае глобального изменения климата и для первичной оценки перспективности интродукции хвойных растений.

Характеристика работы.

Диссертация построена классически и включает введение, обзор литературы, описание объектов исследования и методов, две главы экспериментальной работы, заключение и выводы, список литературы. Работа изложена на 148 страницах текста, содержит 36 рисунков. Библиография включает в себя 237 источников, из них - 64 на английском языке.

По материалам работы всего опубликовано 15 работ, в том числе 3 работы в изданиях, рекомендованных ВАК России.

В литературном обзоре на основании большого объема литературных данных рассматривается развитие и формирование современных представлений об этапах оптогенетического развития древесных растений. Большое внимание уделено анализу данных по фенологии, в том числе сравнительным исследованиям схожих видов (Р.

obovata и *P. pungens*) в различных регионах: Карелия и Коми республика. Анализируются сезонные изменения содержания фотосинтетических пигментов, пространственная локализация пластид в клетках мезофилла хвои и водный режим растений рода *Picea*. Рассматриваются вопросы донорно-акцепторных отношений, их регуляция и особенности у хвойных растений. Анализ литературы позволил автору сделать заключение о связи прохождения этапов развития растений и баланса донорно-акцепторных отношений в растении. Особое внимание автор уделил анализу литературы по первичным физико-химическим реакциям фотосинтеза, возможности использования параметров флуоресценции хлорофилла при изучении процессов фотосинтеза в сезонно меняющихся условиях среды, вариабельности показателей водного режима и содержания фотосинтетических пигментов у древесных растений, механизмам морозоустойчивости древесных растений.

Работа выполнена на видах Ботанического сада УрО РАН, г. Екатеринбург (южно-таёжная подзона Среднего Урала). Для исследования выбраны два вида объекта исследования - адвентивный вид, интродуцент *Picea pungens* - ель колючая (голубая) и аборигенный вид *Picea obovata* - ель сибирская. Исследования проведены на хвое второго года жизни у растений 35-45 летнего возраста в течение 2001-2011 гг. В работе используется широкий спектр современных методов исследования: анализируются параметры быстрой и замедленной флуоресценции (флуориметры РАМ-2500; Фотон-5м), содержание пигментов (СФ-46), показатели водного режима, анатомо-морфологическая структура хвои (микротом «МЗП-1 Техном», световой микроскоп Axioscop 40).

Результаты работы включают две главы и несколько подразделов. Рассматривая сезонные изменения параметров быстрой флуоресценции у двух исследуемых видов, автор рассматривает отдельные показатели. По в целом оказывается, что в летний период, период активной вегетации как местный вид *Picea obovata*, так и интродуцент *Picea pungens* имеют одинаковые и высокие значения G_v/G_m , что свидетельствует о высокой эффективности работе ФС2; высоких и одинаковых значениях $Y(II)$ - показателя квантового выхода фотосинтеза и сходный двухфазный характер световых кривых NPQ, что, как предполагает автор, определяется способностью хлоропластов переходить из низко- в высокоэнергетическое состояние. Все выявленные различия между аборигенным и интродуцированным видом приходится на осенне-зимне-весенний период. И практически по всем показателям в более «выгодном» функциональном состоянии оказывается интродуцированный вид *Picea pungens*. У него, как показало сравнение, в эти сезоны выше значение G_v/G_m , более быстрый переход, уже в январе, на низкие значения $Y(II)$ и более поздние нарушения процессов фотосинтеза, которые идентифицировались по значениям NPQ.

Что касается показателей замедленной флуоресценции, то у обоих видов уровни интенсивности ЗФ в летний период так же не различались, не было различий и в факте снижения потенциальной эффективности ФСА зимой. А различия (по параметрам ЗФ) опять выявлялись в разном времени начала активной ассимиляционной деятельности: у интродуцента уже в марте и с максимумом в августе, а у местного вида в марте-апреле и с достижением максимальных значений в августе-сентябре. И в заключении этого экспериментального раздела, как справедливо отмечает автор, основные различия между видами елей определяются особенностями фенологии - сроками начала и окончания активной фотосинтетической деятельности. Однако именно эти различия по показателям замедленной флуоресценции диссертант считает наиболее принципиальными и вводит понятие различных «акклиматизационных стратегий», связанных с переходом растения в состояние покоя и выходом из него. Основная нагрузка, как предполагает автор, падает на структурно-функциональные свойства мембран хлоропластов и для анализа их участия используется метод термоиндуцированного изменения нулевого уровня флуоресценции (F_0). Вся трактовка полученных результатов косвенная, но логика ее изложения и аналогии с реальным функциональным состоянием растения позволяют согласиться с

таким подходом. Используя этот метод автор получил информацию, касающуюся различий между аборигенным видом *Picea obovata* и интродуцентом *Picea pungens* по времени в сезонах года эффективности работы РЦ ФС2, что было проинтерпретировано как адаптация ФА к температурному фактору. Для характеристики состояния зимнего покоя был использован показатель соотношения низко- и высокотемпературного максимумов флуоресценции, который показал, что у аборигенного вида *Picea obovata* глубокий покой длится с октября по март, а у интродуцированного *Picea pungens* с декабря по февраль с большей глубиной покоя у аборигенного вида ели сибирской. Полученные автором термограммы в зимний период позволили предположить агранальный тип организации хлоропластов, лишенных структурных единиц ФС2 у обоих видов, что ранее было показано другими методами. Эти же данные указывают и, по мнению диссертанта, на сохранение тилакоидной системы и ее организации в виде парных и стромальных тилакоидов. Результаты, полученные методом ТИПУФ, позволили получить фактологический материал в поддержку ранее высказанной автором гипотезы о разной адаптационной стратегии аборигенного *Picea obovata* и интродуцированного *Picea pungens* видов на уровне структурно-функциональной организации фотосинтетического аппарата.

При исследовании процессов *роста и развития* автор сравнивает два вида: адвентивного *Picea pungens* и аборигенного *Picea obovata*. Так, установлено, что начало ростовых процессов более раннее у интродуцированного вида *P. pungens*, чем у аборигенного вида *P. obovata*. Сроки прохождения фенофаз у аборигенного вида ели сибирской сжаты, а у интродуцента ели колючей более растянуты во времени. Анализ сезонных *вариаций фотосинтетических пигментов* показал, что в хвое елей происходит увеличение их содержания летом, далее наблюдается максимум осенью и уменьшение количества пигментов зимой, с минимумом в марте. Диссертант связывает эти изменения с перераспределением донорно-акцепторных отношений у деревьев на фоне снижения интенсивности освещения в течение лето-осень, а также известной протекторной ролью каротиноидов в реакциях термогенеза растений зимой. Обращает на себя внимание тот факт, что автор очень детально и полно проанализировал причины вариабельности пигментного пула: стабильность молекулы хлорофилла, его синтез, количество хлоропластов, а также отсутствие возможности использования отношения хлорофилла а/в для оценки изменения содержания пигментов в течение года. В целом *P. pungens* обладает повышенным содержанием хлорофиллов и каротиноидов по сравнению с *P. obovata* в течение всего года. Исследование *ультраструктуры клеток мезофилла* показали, что летняя структура клеток мезофилла отличается от зимней. А именно, летом происходит равномерная локализация хлоропластов по всему периметру клеточной стенки клеток мезофилла с формированием или локального или торообразного профиля пластид. В середине клетки мезофилла размещалась центральная вакуоль. Зимой эта структура нарушается: пластиды скручиваются, образуют, так называемый автором, «пластидный конгломерат» в центре клетки. Образование пластидного конгломерата в клетке сопряжено с минимальным уровнем функциональной активности фотосинтеза. На основании этих данных автор делает вывод о сопряжении этих структурных механизмов, обеспечивающих устойчивость фотосинтеза обоих видов елей в состоянии зимнего покоя. В апреле-мае летняя структура клеток мезофилла хвои елей восстанавливается. Следует отметить, весьма интересную схему одного из этапов процесса скучивания массы хлоропластов зимой, созданную на основе совмещения изображений, полученных на поперечных, радиальных и тангенциальных срезах хвои (рис.30), и привлечение к объяснению этого феномена работ Ю.В. Гамалея. Автор предполагает, что осенью, когда потребление ассимилятов растением снижается, транспорт сахарозы замедляется, а хлоропласты переполнены первичными продуктами фотосинтеза, вызывающими ингибирование интенсивности фотосинтеза по принципу обратной связи, происходит

снижении осмотического потенциала клеток мезофилла, и как следствие, изменении локализации пластид в клетках мезофилла в зимний период.

Исследование *водного режима хвой* показало, что на протяжении всего года оводнённость хвой *P. pungens* была выше по сравнению с *P. obovata* и описывается вогнутой параболой с минимумом в мае-июне. Оводнённость побегов не отличалась у обоих видов, описывалась стандартной параболической зависимостью, с максимумом летом, а минимумом зимой. Выявленные закономерности связываются автором с различными механизмами, обеспечивающими синтез осмотически активных веществ в разные сезоны года: в период вегетации в побеге, а в период покоя - в хвое.

В заключении на основании полученных данных автор выявил сезонные закономерности структурно-функциональных перестроек на уровне организма с учетом изменений в состоянии ФА. Так, были выявлены процессы, которые происходят в зимний период, связанные с ингибированием ФА: перестройки структуры хлоропластов, изменения мембранной структуры тилакоидов и нарушения в первичных процессах фотосинтеза. Более ранний выход интродуцированного вида *P. pungens* из покоя связывается автором с работой эффективных механизмов репарации ФСА хлоропластов.

Автором выделено особое состояние организма весной (апрель), когда уже начались активные физиологические процессы, а ростовые, использующие продукты этой активности, еще не выражены. Этот разбаланс, по мнению автора, связан с несформированностью донорно-акцепторных отношений на уровне организма и существованием демпфирующих систем, снимающих окислительный стресс.

Интересным наблюдением автора является утверждение, что акцепторная функция точек «скрытого роста» в течение осени снижается и происходит переориентация клетки с экспорта на внутриклеточное использование фотоассимилятов.

Выводы корректны, хорошо сформулированы и в целом соответствуют результатам экспериментальной работы.

Замечания и пожелания.

1. Имеется некоторое не соответствие в использовании введенного автором термина «акклиматизационная стратегия», в которую логично укладывается данные по интродуцированному виду *P. pungens* и несколько не логично его использование для аборигенного вида *P. obovata*. Что думает по этому поводу автор?
2. В выводы не вошли частично данные по флуоресценции хлорофилла.
3. Общее замечание ко всему тексту в автореферате - частое использование латыни без указания аборигенный или интродуцированный вид, что затрудняет восприятие материала. В диссертации это менее заметно.
4. В блоке работ по флуоресценции не удачно представлено соответствие между иллюстрационным материалом (не очень точные обозначения) и его описанием. Так, на рис.5 диссертационной работы не видно, что у ели колючей минимальные значения максимальной эффективности фотохимического преобразования энергии в ФС II были отмечены в январе и сохранялись до марта.
5. Не удачно название главы 4, куда помимо роста и развития включены и другие физиологические процессы. Так, следовало бы выделить в отдельную главу данные по водному режиму. Их не так много, но они имеют свою информационную значимость, так как дают представления о поддержании водного гомеостаза на уровне организма у хвойных, что мало обсуждается в литературе. Эти данные подтверждают выводы Сазоновой Т.А. (2006) по отсутствию водного дефицита у елей, как эврибиотного вида, в течение всего года.
6. Логично было бы для интерпретации фактов по флуоресценции хлорофилла, привлечь работы сотрудников Института леса КарИЦ РАН (Кайбияйнен Л., Болондский В.К) по кривым CO₂ газообмена елей, позволяющим оценить кроме световых реакций фотосинтеза и темновые реакции.

Общая оценка диссертационной работы.

Высказанные замечания и пожелания не снижают ценности работы. Представленное диссертационное исследование является актуальной современной разработкой принципов адаптации растений к условиям среды. Работа имеет не только теоретическое, но и прикладное значение, что подтверждено экспериментальными данными. В работе использован широкий спектр современного оборудования, методов и методологических подходов с авторской модификацией. Результаты исследования, физиолого-биохимические подходы и методы, а так же экологически обоснованный экспериментальный материал и его эколого-физиологическая интерпретация соответствует выбранной специальности. Диссертация написана хорошо, иллюстрирована. Данные статистически обработаны и сделанные автором выводы не вызывают сомнения. Автореферат соответствует тексту диссертационной работы. Личный вклад автора, апробация работы, ее представленность на конференциях и съездах, публикации свидетельствуют о хорошей представленности материалов диссертации для обсуждения и оценки научной общественности.

Считаю, что диссертация «Сезонная структурно-функциональная трансформация фотосинтетического аппарата хвои *Picea pungens* Engl, и *Picea obovata* Ledeb. на территории ботанического сада УрО РАН (г. Екатеринбург)», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук, соответствует требованиям ВАК России, а ее автор Овсянников Алексей Юрьевич заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.08 - экология (в биологии).

Официальный оппонент:

к.б.н., доцент ТЕРЕБОВА Елена Николаевна

кафедра ботаники и физиологии растений
Эколого-биологический факультет

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Петрозаводский государственный университет»

Адрес:

185910, Россия, Республика Карелия, г. Петрозаводск, пр. Ленина, 33
eterebova@gmail.com

Теребова

21 апреля 2015 года

