ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора биологических наук Иванова Игоря Игоревича на диссертацию Нестерова Виктора Николаевича на тему «Экофизиологические механизмы реализации адаптивных стратегий галофитов», представленную в диссертационный совет 24.2.479.01, созданный на базе ФГБОУ ВО «Уфимский университет науки и технологий», на соискание ученой степени доктора биологических наук по научной специальности 1.5.21. Физиология и биохимия растений

Актуальность.

Высокая концентрация солей в почвенном растворе – распространенное явление, а площади засоленных земель постепенно увеличиваются из-за известного явления усиления аридности климата, применения поливного земледелия и других антропогенных факторов. Это определяет актуальность исследования механизмов устойчивости растений к данному неблагоприятному фактору. Засоление создает проблемы с поглощением воды, необходимой для поддержания роста растений, а ограничение транспирационных потерь воды путем закрытия устьиц нарушает газообмен, ингибирует фотосинтез и способствует развитию оксидативного стресса. Поэтому не удивительно, что у большинства растений данный неблагоприятный фактор вызывает ингибирование роста и снижение их продуктивности. Тем не менее, существуют растения, называемые галофитами, у которых засоление в определенных пределах не только не подавляет рост, но даже может способствовать его активации. Поэтому необходимость выявления механизмов, которые обеспечивают способность галофитов поддерживать рост и фотосинтез и предотвращать развитие оксидативного стресса на фоне засоления не вызывает сомнений. Еще одна задача, решение которой важно для понимания механизмов солеустойчивости – это вовлеченность в формирование солеустойчивости изменения состава липидов и жирных кислот, являющихся структурной основой мембран, через которые соли попадают в растение. По сравнению с изучением роли ионных каналов, этому аспекту формирования солеустойчивости уделялось мало внимания, в то время как в этом направлении диссертантом проделана большая работа. В отдельных работах высказывалось мнение о том, что галофиты могут быть наиболее подходящими видами растений для рекультивации засоленных почв, загрязненных тяжелыми металлами (например, статья Shang et al., опубликованная в Plant Signaling and Behavior в 2020 г.). Присутствие в почве тяжелых металлов, как и засоление, является важным негативным фактором внешней среды. Однако способность галофитов поглощать тяжелые металлы и таким образом снижать их концентрацию в почве изучена недостаточно, а исследованию этого их свойства уделяется немало внимания в рецензируемой работе.

Характеристика содержания работы.

Как это принято, основной текст диссертации начинается с обзора литературы. Он хорошо написан и иллюстрирован и демонстрирует глубокое знание литературы, что позволяет диссертанту грамотно интерпретировать собственные результаты. В обзоре анализируются разнообразные проявления засоления почвы и экологические группы, адаптированные к росту на засоленных почвах, а также экономический потенциал галофитов, разнообразие механизмов их адаптации к засолению: особенности роста, фотосинтеза, транспорта ионов и редокс-метаболизма, присутствие совместимых метаболитов у галофитов, структурно-функциональные особенности этих растений, роль мембранного аппарата и присутствие в нем липидных рафтов. При анализе обзора литературы обращает на себя внимание тот факт, в большинстве работ, направленных на изучение механизмов адаптации галофитов, исследования проводились на отдельных видах, которые сравнивали с родственными гликофитами. Между тем, разнообразие экологических групп галофитов диктует необходимость одновременного изучения представителей этих групп. Таким образом, обзор подчеркивает преимущество исследовательского подхода, на который опирается данная диссертационная работа.

В первом разделе, посвященном результатам собственных исследований диссертанта, приводится длинный список изученных видов галофитов, различающихся по стратегии адаптации к засолению: эугалофиты (ЭуГ) способные накапливать соли; криногалофиты (КрГ), выделяющие поглощенные соли наружу с помощью специальных приспособлений и гликогалофиты (ГлГ), ограничивающие проникновение солей внутрь организма, и гликофиты (Гл), отличащиеся низкой устойчивостью к засолению. Образцы видов растений были собраны диссертантом в течение 12 лет на примерно семи станциях отбора проб в прибрежных зонах соленых озер в районе Нижней Волги, а также в дельтах рек бассейна оз. Эльтон. Разнообразие мест обитания растений позволило выявить закономерности, связанные как с условиями их произрастания, так и со стратегией адаптации к засолению. Анализ содержания солей в почве и листьях растений показал способность ЭуГ расти на фоне самых высоких концентраций и, как ожидалось, накапливать их наибольшее количество; КрГ уступали ауэгалофитам по этим показателям, а ГлГ содержали наименьшее количество солей в тканях, и отличались способностью расти на наименее засоленных почвах. При анализе результатов диссертант также учитывал тип фотосинтеза у изученных видах растений. Обобщение результатов анализа большого массива результатов позволило В.Н. Некрасову выявить интересные закономерности зависимости фотосинтеза у различных групп растений от уровня засоленности почвы и способности поддерживать оводненность листьев. Отмечается, что в условиях, близких к экологическому оптимуму, скорость фотосинтеза у ЭуГ и КрГ возрастает при повышении степени засоленности среды и оводненности листьев, наиболее интенсивный уровень фотосинтеза у ГлГ характерен для менее оводненных

листьев при более низкой степени засоления почвы, а у галофитов с С4-типом фотосинтеза максимальная скорость фотосинтеза была также при минимальном уровне засоления почвы, но при высокой степени оводненности листьев.

Пытаясь установить, от чего зависит способность эугалофитов поддерживать высокий уровень фотосинтеза при высоком уровне засоленности, диссертант провел скрупулезный анализ структуры листьев с помощью световой микроскопии и хлоропластов – с помощью электронной микроскопии. Обобщение большого количества результатов выявило ряд особенностей ЭуГ. Так показано, что повышенное содержание солей в почве и накопление их в листьях растений этой группы приводило к гипертрофии клеток и большему количеству и размерам хлоропластов в них, которые отличались большей гранальностью тилакоидного профиля по сравнению с КрГ и ГлГ. Галофитные растения с С4-типом фотосинтеза обладали меньшим числом устьиц, большим количеством клеток мезофилла, наличием клеток обкладки в тканях листа, большим соотношением Хл a/b в сравнении с галофитами с С3-типом фотосинтеза.

Следующий раздел диссертации посвящен особенностям мембран галофитов, отличающихся по стратегии солеустойчивости и типу фотосинтеза. Учитывая, что повышение концентрации соли в почве сопровождалось повышением доли липидного компонента в мембране, диссертант приходит к заключению, что липидный обмен зависит от засоленности почвы и может играть ключевую роль при адаптации растений к засолению на клеточном уровне организации. Доскональный анализ липидов мембран и их проницаемости для ионов позволил диссертанту установить, что облигатные галофиты (ЭуГ и КрГ) отличаются повышенным выходом электролитов из клеток, увеличенной долей мембранных липидов, стеринов и их разнообразием, меньшей ненасыщенностью жирных кислот в сравнении с факультативными галофитами (ГлГ). Поскольку у ЭуГ, в основном отличающихся гипертрофией клеток, диссертантом, была выявлена большая доля насыщенных жирных кислот (С16:0) в сравнении с ГлГ, предполагается, что уровень С16:0 связан с размерами клеток, в то время как различия в относительном содержании ненасыщенных жирных кислот в большей мере отражает тип фотосинтеза. Большее накопление в клетках листьев фосфолипидов, стигмастерина, ненасыщенных жирных кислот с одной и/или двумя двойными связями было характерно для растений с С4-типом фотосинтеза.

Особый интерес представляют полученные диссертантом результаты выявления устойчивых к детергентам липидных структур, называемых рафтами. Выявлены различия в их составе между органоидами растений разных экологических групп: в митохондриях ГлГ A. santonica содержалось больше липидов стероидного птипа, чем у ЭуГ S. perennans и H. strobilaceum. При этом доля рафтоспецифичных липидов в мембранах митохондрий у всех трех видов галофитов была выше в сравнении с мембранами хлоропластов. В модельных экспериментах диссертантом было выявлена видоспецифичность

влияния хлорида натрия на липидный состав рафтов хлоропластных и митохондриальных мембран у двух видов ЭуГ S. perennans и S. salsa. При засолении среды увеличивалось содержание сфинголипидов (цереброзидов) у обоих видов. Однако, изменение липидного состава у S. perennans затрагивало в основном рафты хлоропластов, а у S. salsa – рафты митохондрий (табл. 11). Диссертант приходит к выводу, что увеличение доли растительных сфинголипидов (ЦЕР) в составе мембранных липидов важно, т.к. это может приводить к увеличению жесткости и одновременно большей проницаемости мембран для ионов, что в наибольшей степени наблюдается у ЭуГ.

Важный раздел диссертации посвящен окислительному стрессу и активности антиоксидантной защиты у галофитов. Для их оценки диссертант определял уровень перекисного оксиления липидов по количеству малонового диальдегида (МДА). В результате показано, что повреждение мембран активными формами кислорода было минимальным у растений эугалофитов и максимальным – у гликогалофитов. В то же время для ГлГ был характерен наиболее высокий уровень антиоксидантной защиты.

Анализ результатов с учетом различий температурного режима между станциями отбора проб позволило диссертанту отметить снижение содержания нейтральных липидов, линолевой кислоты, и увеличение длинноцепочечных жирных кислот и линоленовой кислоты по мере снижения гидротермического коэффициента в направлении с севера на юг.

Представляет несомненный интерес проведенное диссертантом сравнение способности галофитов из разных экологических групп накапливать соли меди и кадмия. Сравнение растений ЭуГ (S. perennans) и ГлГ (A. santonica) показало, что способность к определенному типу регуляции поглощения/исключения солей натрия распространяется на соли тяжелых металлов. Лабораторные исследования с моделированием загрязнения почвы солями тяжелых металлов подтвердили, что, как и в природной среде, растениям ЭуГ свойственно аккумулирование солей тяжелых металлов, а ГлГ такой способностью не обладают.

Новизна полученных результатов

Диссертантом собраны и систематизированы многочисленные данные о механизмах адаптации галофитов, отличающихся по стратегии адаптации к засолению, включающих изменения анатомической структуры листа, количественных показателей фотосинтеза, липидный состав мембран и защиту от оксидативного стресса. В отношении галофитов, произрастающих по градиенту почвенного засоления, данные сведения малочисленны и несистематизированны, что определяет новизну данной работы. В данной работе впервые исследованы особенности структуры и функции галофитов, различающихся по стратегии солеустойчивости и типу фотосинтеза. Новизна исследований в том, что они проводились комплексно, на разных уровнях организации – от организменного до клеточного и мембранного, а также – с использованием подходов, основанных на анализе образцов, собранных в

естественных условиях разной степени засоления, и моделирования разного уровня засоления в лабораторных условиях.

Диссертантом с коллегами также впервые удалось с помощью биохимических и микроскопических методов идентифицировать присутствие рафтов в мембранах органоидов (митохондрий и хлоропластов) галофитов. Попытки найти сведения о рафтах в органоидах растений выявили только публикации диссертанта с соавторами. Лишь в работе, опубликованной после выхода статей диссертанта, упоминаются рафтовые структуры мембран хлоропластов пшеницы (Капустина и др, 2023).

Теоретическая и практическая значимость полученных автором результатов

Полученные диссертантом результаты углубляют представления о механизмах адаптации растений к засолению, которые важны для поиска подходов к повышению солеустойчивости не только галофитов, но и гликофитов. Полученные в данной работе результаты имеют непосредственное значение для практики, поскольку галофиты имеют высокий потенциал в качестве кормовых растений, благодаря их способности расти в условиях, непригодных для культурных растений. Обнаруженное диссертантом увеличение соотношения числа видов с С4-типом фотосинтеза по сравнению с растениями с С3-типом в менее засоленных, но более засушливых условиях может быть использовано для разработки рекомендаций по подбору видов растений для создания искусственных экосистем на почвах с различным уровнем влаги и засоления. Кроме того, данные, показывающие отличия по составу липидов и жирных кислот между ранжированными по широтному градиенту популяциями растений, полезны для решения проблемы подбора видов галофитов в качестве масличных культур в определенных климатических условиях. Полученные диссертантом результаты свидетельствуют о хороших перспективах применения эугалофитов для ремедиации засоленных почв с высоким содержанием тяжелых металлов. Кроме того, хорошо написанный и иллюстрированный обзор литературы в сочетании с собственными результатами диссертанта будут использоваться преподавателями кафедр, где читается курс физиологии растений.

Достоверность и апробация полученных результатов

Использование разнообразных современных методов исследований, позволяющих выявить особенности структуры и процессов на уровне целых растений, органов, тканей, клеток и субклеточных структур, проведение экспериментов на большой выборке видов растений, различающихся по механизмам адаптации к засолению, достаточной повторности определений в каждой из изученных групп, сочетание анализа образцов, собранных в разнообразных естественных условиях с лабораторными экспериментами подтверждают достоверность и обоснованность результатов и выносимых на защиту положений и выводов.

Основные положения и результаты исследований опубликованы в более, чем тридцати российских и зарубежных научных изданиях, входящих в перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени доктора наук в соответствии с пунктом 5 правил, они также представлены на многочисленных научных конференциях. Рукопись автореферата соответствует содержанию диссертации, результатам и положениям, выносимым на защиту.

Вопросы и замечания

1. Хотя в начале введения диссертант приводит четкие определения основных стратегий адаптации галофитов к засолению, чуть ниже, возвращаясь к этому вопросу, он описывает криногалофиты как эксклюзеры, а гликогалофиты как исключатели. Между тем excluser переводится как исключатель. Хотелось бы услышать, как диссертант дифференцирует эти термины применительно к КрГ и ГлГ.
2. Описывая лабораторные эксперименты с введением солей в почву, диссертант упоминает только молярность раствора хлорида натрия и тяжелых металлов. На мой взгляд, этой информации недостаточно, и следовало указать, какое количество солей добавлялось в расчете на единицу веса почвы.
3. Судя по рис. 3 автореферата, изученные в диссертации виды растений с С4-типом фотосинтеза проявляли стратегию эугалофитов. На мой взгляд, диссертанту следовало упоминать эту особенность растений этой группы при обсуждении результатов анализа их свойств.

Перечисленные замечания и вопросы не носят принципиального характера и не умаляют общую положительную оценку работы, имеющую высокую теоретическую и практическую значимость.

Заключение

Диссертационная работа Нестерова В.Н. – это завершенный самостоятельный научный труд, который является цельным исследованием, выполненным на высоком методическом уровне, в котором на основании выполненных автором исследований разработаны теоретические положения, совокупность которых можно квалифицировать как научное достижение в области физиологии и биохимии растений: была решена важная проблема выявления структурных и функциональных особенностей адаптации к засолению у различных экологических групп растений, имеющая как теоретическую, так и практическую значимость.

По актуальности темы, методическому уровню, объему исследований, степени обоснованности и достоверности полученных результатов, их научной новизне, значительной теоретической и практической значимости диссертационная работа Нестерова Виктора Николаевича на тему «Экофизиологические механизмы реализации адаптивных стратегий галофитов», представленная на соискание ученой степени доктора биологических наук по научной специальности 1.5.21. Физиология и

биохимия растений, по всем критериям соответствует требованиям, установленным пунктами 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 (в действующей редакции), а ее автор заслуживает присуждения искомой ученой степени доктора биологических наук по научной специальности 1.5.21. Физиология и биохимия растений.

Официальный оппонент, ведущий научный сотрудник Уфимского Института биологии – обособленного структурного подразделения Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, доктор биологических наук (03.01.05 – Физиология и биохимия растений), старший научный сотрудник.

«26» июня 2025 г. _____ Иванов Игорь Игоревич

Уфимский Институт биологии – обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук
Адрес: 452054, Россия, г. Уфа, проспект Октября, д. 69,
тел./факс: +7 (347) 235-62-47, e-mail: ib@anrb.ru, официальный сайт: http://ufaras.ru/?page_id=12965

Подпись Игоря Игоревича Иванова заверяю:
Ведущий специалист по кадрам Воронцова А.Д.
«26» июня 2025 г.

Я, Иванов Игорь Игоревич, даю согласие на включение своих персональных данных в документы, связанные с защитой диссертации Нестерова Виктора Николаевича, и их дальнейшую обработку.
«26» июня 2025 г. _____ Иванов Игорь Игоревич