

ОТЗЫВ официального оппонента
на диссертацию на соискание ученой степени
кандидата биологических наук Хао Цзинжао
на тему: «Исследование молекулярных механизмов действия
пестицидов на фотосинтетический аппарат высших растений»
по специальности 1.5.2. – «Биофизика»

Актуальность темы исследования. Диссертационная работа Хао Цзинжао представляет собой исследование влияния неникотиноидных инсектицидов (НИ) на примере тиометоксама (ТМХ) и клотианаидина (КЛ) на пигментный состав и функциональное состояние фотосинтетического аппарата высших растений. Применение химических средств защиты растений прочно вошло в практики растениеводства со времен «зеленой революции». Без регулярного применения пестицидов в настоящее время не представляется возможным получение высоких урожаев сельскохозяйственных культур при сохранении высокого качества продукции. В последнее время вещества-инсектициды из категории НИ завоевали популярность у растениеводов благодаря их технологичности и сравнительно низкой токсичности для растений и млекопитающих, а также человека. Однако их применение основано на систематической обработке растений для достижения действующей концентрации инсектицида в тканях растения. Однако, при ошибках агронома

и (или) огрехах механизаторов возможны локальные превышения рекомендованных концентраций НИ, потенциально способные вызывать побочные (off-target) эффекты, включающие негативное влияние на состояние фотосинтетического аппарата. Как следствие, возможно снижение продуктивности и разнообразные повреждения растений. Побочные эффекты НИ пока еще мало изучены, многие исследования выполнены частными структурами — лабораториями компаний-производителей пестицидов и далеко не полностью опубликованы в открытой печати.

В связи с этим исследование, проведенное Хао Цзинжао, цель которого сформулирована как «Исследование молекулярных механизмов воздействия неоникотиноидных инсектицидов (ТМХ, и его производного, КЛ) на молекулярную структуру и функции фотосинтетических пигментов различных генотипов кукурузы (инбредной линии кукурузы zppl225 и гибридной линии zp341)» является, безусловно, актуальным, а полученные диссертантом данные имеют как фундаментальное, так и прикладное значение.

Структура диссертационной работы. Диссертационная работа Хао Цзинжао написана на английском языке и сопровождается написанным на русском языке авторефератом. При этом диссертация построена по классическому образцу и состоит из разделов, включающих «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы», «Результаты и обсуждение», отдельный раздел «Обсуждение», а также содержит разделы «Заключение», «Выводы» и «Список литературы», включающий 213 ссылок. Работа иллюстрирована 71 рисунком, а также содержит 20 таблиц. Текст диссертационной работы изложен на 172 страницах.

Во «Введении» описана актуальность исследования, сформулированы цель и задачи работы, положения, выносимые на защиту, научная новизна, а также теоретическая и практическая значимость работы, приведены данные о методологии и методах исследования, апробации результатов и данные о публикациях (6 статей в рецензируемых научных изданиях).

В **«Обзоре литературы»** диссертационной работы приведена информация о разнообразии пигментов высших растений с акцентом на структуру и функции каротиноидов, роль хлоропластов в функционировании растительного организма. Приводятся сведения о НИ, их механизме действия и суммируются накопленные в литературе сведения по этому вопросу. Далее рассматривается применение ключевых биофизических методов, выбранных для диссертационного исследования, к изучению физиологического состояния высших растений.

С одной стороны, обзор литературы довольно краткий (20 страниц) для работы такого объема, некоторые темы, такие как расчеты с использованием теории DFT, упоминаются лишь вскользь и явно заслуживают более подробного рассмотрения. С другой стороны, в обзоре литературы присутствуют разделы технического характера (например, раздел 2.6), более уместные для главы **«Материалы и методы»**. По результатам обобщения сведений по теме исследований, опубликованных в рассмотренной литературе, автор формулирует общее направление и цель исследований.

В разделе **«Материалы и методы»** диссертант подробно описывает использованные в работе объекты и методы исследования. Вначале перечисляются растительные объекты (сорта и линии кукурузы и гороха), методы их культивирования и подготовки к дальнейшим исследованиям, в том числе выделение хлоропластов и субхлоропластных частиц ВВУ. Далее описаны приемы обработки экспериментальных объектов растворами НИ. Завершается раздел описанием инструментальных измерений спектров КР и гигантского КР, индукционных кривых флуоресценции хлорофилла, ИК- и ЭПР-спектров и АСМ-изображений, а также статистической обработки данных.

В разделе **«Результаты и обсуждение»** представлены основные достижения рецензируемой работы. Первые подразделы посвящены анализу действия ТМХ на растения кукурузы инбредной и гетерозисной линии при двух типах обработки — внекорневой (опрыскиванием) и прикорневом поливом. Рассматривается концентрационный эффект обработки ТМХ, а также вариация

наблюдаемых эффектов. Особое внимание уделяется КР-спектроскопии листьев обработанных ТМХ и контрольных растений и анализу спектральных деталей, относящихся к молекулам каротиноидов.

В дальнейшем автор приводит результаты исследования состава основных биохимических компонентов семян кукурузы (углеводов и белков) методом ИК-спектроскопии, однако исследования этим методом не включали семена или иные части растений, обработанные НИ.

Следующий раздел посвящен исследованию препаратов каротиноидов методами спектроскопии гигантского КР (SERS). Автор демонстрирует, что применение метода SERS позволяет значительно повысить чувствительность анализа, что дает возможность непосредственно наблюдать спектральную сигнатуру каротиноидов в листьях. При этом в исследование вовлекаются препараты и образцы (плоды яблони, плазма крови), не имеющие отношения к объектам исследования, декларированным в разделе «Материалы и методы», а также намеченным к изучению НИ.

Далее рассматриваются эффекты, вызванные обработкой экспериментальных растений и полученных из них препаратов хлоропластов клотианидином (КЛ). Данные эффекты изучаются с использованием спектроскопии КР, анализа индукционных кривых флуоресценции хлорофилла *a* (РАМ-флуориметрии и ЛР-теста), а также измерения кинетических параметров затухания флуоресценции этого пигмента.

Предпоследний подраздел посвящен анализу влияния КЛ на выживаемость и содержание хлорофиллов в одноклеточной зеленой водоросли *Chlamydomonas reinhardtii*, которая не относится к высшим растениям. Автором показано, что обработка КЛ не наносит фотосинтетическому аппарату микроводоросли необратимых повреждений, и в течение 8 дней наблюдается восстановление его функций.

Завершается раздел описанием математического моделирования спектров КР листьев, семян и хлоропластов кукурузы с использованием актуальных расчетных методов. Показана возможность успешного моделирования

ключевых спектральных деталей экспериментально полученных КР-спектров. В этом разделе также не использовались растительные обработанные НИ.

В разделе «обсуждение» приводится дополнительное обсуждение полученных результатов в контексте текущего состояния данной проблематики, дается их авторская интерпретация.

Вопросы и замечания.

Тема исследования недостаточно конкретизирована, поскольку в работе исследовали не пестициды вообще, а только два вещества из класса НИ.

Введение

Утверждается, что действие инсектицидов зависит от площади посевов. Каким образом?

Выводов представлены слишком дробно (в работе присутствует 8 выводов), некоторые из них вполне могут быть объединены (например, первый и второй).

Формулировка вывода 5 противоречива: упоминаются, среди прочего, частицы ФС II, не способные к образованию кислорода, но при этом такие частицы называются функционально активными и следом утверждается, что скорость выделения кислорода ими снижается на 20%.

Формулировка вывода 6 не полностью соответствует принятым для выводов формулировкам: в ней имеется общее вводное положение и ссылка на литературный источник, которая, впрочем, отсутствует в диссертации.

К сожалению, в тексте присутствуют многочисленные грамматические и стилистические ошибки (что, видимо, связано с недостаточным владением английским языком диссертантом), а также много неточных формулировок; некоторые примеры приведены ниже:

Введение: “...белок, фиксирующий CO_2 ...” — у него есть собственное название.

Цель: “изучить влияние МИ... на молекулярную структуру и функции фотосинтетических пигментов... хлорофиллов” — на самом деле, это исследование не изучало молекулярную структуру хлорофиллов.

Задача №5: "...изучить строение молекул различных генотипов кукурузы"?

Положения, выносимые на защиту:

- Что такое "катионы H_2O_2 "? В физиологических условиях перекись водорода диссоциирует слабо и не образует катионов, кроме катионов водорода.

- "...диагностика состояния растения на фоне воздействия инсектицидов" — что подразумевается под "фоном воздействия инсектицидов"?

Привести полный список замеченных стилистических неточностей и неудачных выражений здесь не представляется возможным.

Также имеется множество фактических ошибок (например, раздел 2.2: "*main role of chlorophyll a and b is to convert the energy of sunlight into chemical energy*" — это не относится к хлорофиллу *b*

Раздел 2.3: "*Neonicotinoid insecticides have high insecticidal activity and low mammalian toxicity, but neonicotinoid insecticides have limited insecticidal activity and high mammalian toxicity.*") — очевидно, присутствует внутреннее противоречие по смыслу.

Методы

Раздел 3.1: "*...presence of 24 hours of sunlight....*" — не ясно, как можно обеспечить круглосуточное присутствие естественного солнечного излучения в условиях Средней Полосы.

Размеры контрольной и экспериментальной групп не указаны.

Раздел 3.2: " $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ with}^{-1}$ " не являются принятыми единицами измерения интенсивности света.

Раздел 3.16: этот раздел не содержит подробного описания квантово-механических расчетов в рамках разработанного метода, но содержит часть полученных результатов и ссылки на существующие вычислительные методы.

Результаты

Раздел 4.1: недостаточно информативно результаты измерений спектров комбинационного рассеяния света на листьях кукурузы, краткое содержание раздела не отражает наблюдаемые эффекты обработки пестицидами, заключение типа “*the pesticide treatment likely caused changes in the carotenoid conformation*” является расплывчатым; то же самое относится к краткому изложению разделов 4.2 и 4.3.2. Параметр “*pigment-like membrane potential*” не соответствует известным параметрам физиологического состояния растений.

Раздел 4.2: что такое *Nastenia*? Данный организм не упомянут среди объектов исследования.

Разделы 4.4, 4.5, 4.7 и 4.8, очевидно, имеют лишь косвенные отношения к данному исследованию, поскольку в них отсутствует информация о воздействии пестицидов. В разделе 4.5 представлены данные по содержанию каротиноидов в плазме крови, которые не имеют ничего общего с изучаемыми растениями кукурузы и пестицидами и даже не были отражены в методах. В разделе 4.7 в качестве объекта используется одноклеточная зеленая водоросль хламидомонада (*Chlamydomonas reinhardtii*), не относящаяся к высшим растениям, декларированном в качестве объекта исследования в теме диссертационной работы.

В заключение необходимо отметить, что, несмотря на вышеперечисленные отдельные недостатки, диссертационная работа Хао Цзинжао соответствует специальности 1.5.2. «Биофизика». Диссертация отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В.Ломоносова к работам подобного рода. Автореферат, в целом, соответствует диссертации. Содержание диссертации соответствует специальности 1.5.2. «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 требованиям Положения о

совете по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова.

Таким образом, соискатель Хао Цзинжао заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.2. «Биофизика».

Официальный оппонент:

доктор биологических наук,
профессор кафедры биоинженерии
биологического факультета
МГУ имени М.В. Ломоносова

СОЛОВЧЕНКО Алексей Евгеньевич

17.03.2025

Контактные данные:

тел.: 7(495)9392587, e-mail: solovchenkoae@my.msu.ru
Специальность, по которой официальным оппонентом
защищена диссертация:
1.5.21 – физиология и биохимия растений

Адрес места работы:

119234, г. Москва, Ленинские Горы, д. 1, стр. 12,
биологический факультет МГУ имени М.В. Ломоносова
Тел.: 7(495)9392587, e-mail: solovchenkoae@my.msu.ru

Подпись сотрудника
Соловченко А.Е.
Удостоверяю

Ученый секретарь Е.В. Петрова