

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию Ву Вьет Зунга на тему: «Роль органических кислот в механизмах устойчивости растений амаранта к действию тяжелых металлов» по специальности 03.01.05 - физиология и биохимия растений на соискание ученой степени кандидата биологических наук

Необходимость, а также значимость изучения полностью не раскрытых первичных механизмов устойчивости растений к действию высоких концентраций цинка и особенно кадмия, являющихся широко распространенными поллютантами, в свете возрастания уровня загрязнения среды тяжелыми металлами настолько очевидны, что **актуальность** диссертационной работы не нуждается в особом обосновании. Хотя в последние 10–15 лет достигнут значительный прогресс в изучении механизмов устойчивости растений, их исследование в растениях амаранта в условиях повышенных доз Cd и Zn в среде с применением оригинальных подходов и использованием разнообразных современных методов имеет неоспоримое **теоретическое** значение. **Теоретическая значимость** работы состоит в установлении ключевой роли оксалата в механизмах детоксикации кадмия в листьях *A. caudatus* путем формирования в них кристаллов оксалата кадмия. **Теоретически** важен вывод об ориентированности биохимических перестроек листа в условиях Cd и Zn стресса на интенсификацию аккумуляции малата и оксалата, подтверждающий роль органических кислот в механизмах устойчивости растений амаранта к воздействию высоких концентраций Cd и Zn. **Теоретически** значимы также данные о зависимости метаболического отклика в листьях амаранта от возраста листа при действии Cd и Zn.

Объект исследования - виды рода *Amaranthus* представляют **практическую ценность** как высокопродуктивные пищевые и кормовые культуры и объекты для фиторемедиации среды, загрязненной тяжелыми металлами, учитывая их накопительные возможности и значительную биомассу.

Работа отличается **новизной**, например, влияние кадмия и цинка на роль органических кислот в аккумуляции металлов, формирование кристаллов оксалата кадмия в листьях растений *A. caudatus* в присутствии высоких концентраций Cd, метаболический отклик на действие высоких концентраций металлов, изученный дифференцированно по органам двух видов амаранта.

Структура диссертации вполне стандартна для физиологических и биохимических работ. Диссертация изложена на 178 страницах, состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, результатов и обсуждения, заключения, выводов, списка сокращений, списка литературы, который включает 362 источника, в том числе 225 на английском языке. Диссертация иллюстрирована 71 рисунком и 3 таблицами.

Можно отметить, полный, почти исчерпывающий очерк литературы по теме, включая самую современную. Многие из этих работ привлекаются также автором при обсуждении полученных результатов.

Особо следует подчеркнуть четкость и логичность в последовательности проведенных исследований и соответственно в построении диссертации: основная глава с изложением экспериментальных данных разделена на ряд разделов и множество подразделов, обильно иллюстрированных рисунками. Все это способствует достижению **основной цели и раскрытию** всех поставленных задач.

Диссертационная работа Ву Вьет Зунга написана хорошим языком, тщательно вычитана и прекрасно оформлена.

Основные положения, выносимые на защиту, обоснованы разносторонними экспериментальными исследованиями, с применением самых современных методов.

В работе убедительно показано, что устойчивость растений амаранта к высоким концентрациям Cd и Zn определяется эффективным связыванием металлов в корнях и хелатированием их в листьях при участии органических кислот. С помощью новейших методов удалось доказать формирование кристаллов оксалата кадмия в листьях растений *A. caudatus* в присутствии высоких концентраций Cd. Особо хочется выделить серию исследований метаболического отклика на действие высоких концентраций Cd и Zn. С использованием метода газовой хромато-масс-спектрометрии был проведен анализ метаболитных профилей в экстрактах из листьев и корней двух видов амаранта в норме и под влиянием высоких концентраций Cd и Zn. Было аннотировано от 64 до 76 метаболитов. Использование метода главных компонент при статистической обработке массива данных показала значимость биохимических перестроек в растениях опытных вариантов. Визуализация концентраций низкомолекулярных метаболитов путем построения теплокарт, выявило возрастание пулов одних соединений и снижение – других в растениях опытных вариантов по сравнению с контролем. Следует выделить раздел по определению количественных содержаний ряда метаболитов и возможность с большой уверенностью говорить о биохимических перестройках растений в условиях повышенных доз металлов и обсуждать формирование механизмов устойчивости к ним. С помощью новых методов показано, что ключевыми соединениями в метаболическом отклике корней амаранта на действие Cd и Zn являются сахара, а в листьях - органические кислоты.

Если раньше в 90-х годах, когда мы начинали исследования устойчивости растений к тяжелым металлам, можно было только высказывать гипотезы относительно того, что основными местами инактивации металлов в корнях являются клеточные стенки, а в листьях - вакуоль с органическими кислотами. То в настоящее время в данной работе это уже

доказано экспериментально, причем с использованием различных, самых современных методов исследования.

Можно сделать некоторые замечания:

С.22. Литературный обзор. «По характеру распределения Cd и Zn между органами растений их причисляют к исключателям (эксклюдерам) и гипераккумуляторам.» В то же время, при определенных уровнях Cd и особенно Zn в среде их концентрации в надземных органах могут быть выше, чем в корнях, но не достигать уровня гипераккумуляторов. Видов гипераккумуляторов в природе относительно мало и в них содержание Cd должно быть >1000 мкг/г сухой биомассы, Zn $>10\ 000$ мкг/г (Reeves a. Baker, 2000; Vogel-Mikuš et al., 2005).

С.22 Нельзя говорить об аккумулялирующей способности растений амаранта, необходимо указывать какой вид, поскольку это преимущественно видовая характеристика, а не родовая. На Рисунках 12, 21, 24, 31, 47А, 48А, 49(I), 50(II) хорошо было бы сделать разрыв шкалы на вертикальной оси, чтобы значения низких концентраций были отчетливо видны.

С.58. В главе «Материалы и методы исследования» на Рис.7 не видно, какие опытные варианты представлены для обоих видов, следовало указать это в подписи к рисунку.

С.74. Нельзя утверждать, что в условиях аммонийного питания внесение Cd и Zn оказывало стимулирующее действие на прирост биомассы, кроме зрелых листьев, можно говорить только о тенденции, т.к. нет оценки достоверности, а разброс данных велик.

С. 77. Рис. 21. Влияние источников азота на распределение и аккумуляцию Cd и Zn. Строго говоря, приводится только аккумуляция элементов в разных органах. В дальнейших разделах действительно дается оценка распределения элементов.

С.79. Нельзя говорить «при отсутствии металлов в среде» в контрольном варианте относительно Zn, т.к. его вносили в дозе 0.7 мкМ.

С.119. При обсуждении результатов визуализации концентраций метаболитов, выделенных из листьев и корней амаранта, можно было отметить значительную вариабельность повторностей в каждом варианте опыта, что особенно наглядно подчеркивает лабильность показателей метаболомного анализа и необходимость выявления статистически значимых различий.

Однако эти мелкие недочеты не снижают общей высокой оценки диссертации.

Несмотря на обилие направлений исследования и множество полученных результатов автору удалось в главе «Обсуждение результатов» квалифицированно обобщить их, создав стройное представление о роли органических кислот в механизмах устойчивости растений амаранта к действию Cd и Zn с использованием современной литературы. Этому способствует тот факт, что диссертационное исследование начато не на пустом месте, а

продолжает серию работ, проводимых на кафедре физиологии и биохимии растений СПбГУ под руководством к.б.н. Н.Г. Осмоловской.

Выводы, сформулированные в диссертации достоверны, глубоко обоснованы всем объемом исследования, использованием различных современных методов и методик исследования.

Полагаю, что диссертационное исследование Ву Вьет Зунга не только достигает **поставленной цели**, но вносит существенный вклад в понимание общебиологических механизмов устойчивости растений к действию Zn и особенно Cd, присущих не только амаранту. Результаты исследования Ву Вьет Зунга могут быть использованы при чтении курсов лекций по физиологии и биохимии растений, спецкурсов по минеральному питанию устойчивости растений к стрессовым условиям среды.

Апробации работы. Результаты исследований по теме докладывались на различных престижных конференциях.

По материалам диссертации опубликовано 10 работ.

Таким образом, диссертация Ву Вьет Зунга на соискание ученой степени кандидата биологических наук является завершенной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение задачи установления роли органических кислот в механизмах устойчивости растений амаранта к действию тяжелых металлов, имеющей существенное значение для соответствующей отрасли знаний, а именно физиологии и биохимии растений, что соответствует требованиям п. 7 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», а ее автор, Ву Вьет Зунг, заслуживает присуждения искомой ученой степени.

Официальный оппонент,
Ведущий научный сотрудник ФГБУН Ботанического института
им. В.Л. Комарова РАН,
Кандидат биологических наук, старший научный сотрудник
Алексеева-Попова Н.В.

14 июня 2018 г.

