

УТВЕРЖДАЮ

Директор Института биологии – обособленного подразделения Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра "Карельский научный центр Российской академии наук"



В.А. Илюха

«31» мая 2018 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

на диссертацию Ву Вьет Зунга «Роль органических кислот в механизмах устойчивости растений амаранта к действию тяжелых металлов», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.05 – физиология и биохимия растений

Актуальность темы диссертационной работы.

Загрязнение окружающей среды тяжелыми металлами на протяжении последних нескольких десятилетий является важной экологической проблемой во всем мире. В этой связи изучению ответной реакции живых организмов, в том числе растений, на повышение концентрации этих химических элементов в воздухе, воде, почве уделяется повышенное внимание исследователей разных стран. К настоящему времени накоплен довольно большой фактический материал, касающийся влияния тяжелых металлов на физиологические процессы и продуктивность растений, выявлены механизмы, действующие на разных уровнях организации, позволяющие им адаптироваться к повышенным концентрациям тяжелых металлов в окружающей среде. Тем не менее, целый ряд вопросов, в том числе связанных с механизмами адаптации и устойчивости растений к наиболее распространенным загрязнителям из группы тяжелых металлов, к которым относятся кадмий и цинк, все еще остаются слабо изученными. Среди них – роль органических кислот в механизмах металлоустойчивости растений. Известно, что органические кислоты могут участвовать в детоксикации ионов тяжелых металлов в клетке за счет их способности образовывать с ними прочные связи. Об

этом свидетельствует и обнаруженный рядом авторов высокий уровень некоторых из них (цитрата, малата, оксалата) в клетках металлоустойчивых видов растений при воздействии на них свинца, никеля, кадмия. Однако необходимо констатировать, что такого рода экспериментальных данных крайне мало, несмотря на их важность как с точки зрения более глубокого понимания клеточных механизмов металлоустойчивости, так и для практических целей, в частности, для получения устойчивых к тяжелым металлам сортов (генотипов). В этой связи представленная диссертационная работа, посвященная изучению роли органических кислот в механизмах устойчивости растений амаранта к высоким концентрациям кадмия и цинка, является весьма актуальной.

Новизна полученных результатов и выводов. В ходе исследований диссертантом впервые обнаружено формирование кристаллов оксалата кадмия в листьях одного из видов амарантов (*Amarantus caudatus* L.) при увеличении концентрации кадмия в питательном растворе. Впервые показано, что повышение кислотности в среде роста препятствует эффективному связыванию кадмия и цинка в корнях *A. caudatus*, что приводит к значительному увеличению его содержания в надземных органах. Кроме того, впервые показано, что в метаболическом отклике растений этого вида на действие кадмия в корнях важную роль играют сахара, тогда как в листьях – органические кислоты.

Теоретическая и практическая значимость работы. Теоретически значимыми для углубления современных представлений о механизмах устойчивости растений к тяжелым металлам являются результаты, доказывающие участие органических кислот в хелатировании кадмия и цинка в растительных клетках. Помимо этого, с научной и практической точки зрения важными представляются полученные автором данные, выявляющие наличие ярко выраженной зависимости связывания кадмия в клетках корня от pH питательного раствора. Сделанные диссертантом выводы могут быть использованы при разработке курсов лекций по экологической физиологии растений для студентов вузов биологических и экологических специальностей.

Степень достоверности и апробация результатов. Степень достоверности результатов обусловлена большим объемом экспериментального материала с использованием современных физиологических, биохимических, цитологиче-

ских методов исследования. Достоверность полученных данных доказана результатами статистической обработки. Идея работы, а также выдвинутые в ней гипотезы, базируются на обобщении имеющихся в литературе сведений по обсуждаемой проблеме. Основные положения диссертации доложены и обсуждены на 6 научных конференциях разного уровня.

Структура и содержание работы. Диссертационная работа изложена на 177 страницах и состоит из введения, 3 глав (Обзор литературы, Материалы и методы исследований, Результаты исследований и их обсуждение), заключения, выводов, списка сокращений и списка использованной литературы. Список литературы включает 362 литературных источника, из них 225 – на иностранном языке. Диссертация содержит 3 таблицы и 71 рисунок.

В главе Обзор литературы автор анализирует имеющиеся на сегодняшний день данные, касающиеся темы диссертационной работы. В главах 1.2-1.4 дается характеристика тяжелым металлам как химическим элементам, подробно описываются поглощение, транспорт тяжелых металлов в растениях, вне- и внутриклеточные механизмы их детоксикации, а также влияние тяжелых металлов на основные физиологические процессы у растений. Отдельная глава (1.5) посвящена анализу литературных данных, касающихся роли органических кислот в процессах поступления тяжелых металлов в растения, а также их участия в детоксикации этих химических элементов в клетке. В главе 1.6 автор останавливается на вопросах, связанных с влиянием тяжелых металлов на метаболизм растений. В целом, литературный обзор освещает современные представления о вопросах, связанных с темой диссертации.

В главе 2 автор указывает объекты исследования – два вида амаранта (*Amaranthus caudatus* L. сорт Karwa dauta и *A. cruentus* L. сорт Tampala), подробно описывает условия выращивания растений и использованные физиологические, биохимические и цитологические методы и методики исследований. Указаны также методы статистической обработки полученных данных.

Глава 3 посвящена описанию полученных результатов исследования и их обсуждению. В подглаве 3.1. проведен анализ накопления кадмия и цинка в растениях двух видов амаранта и их распределения по органам, который позволил автору подтвердить их принадлежность к группе исключателей, накапливающих

тяжелые металлы преимущественно в корнях. Изучение содержания некоторых элементов минерального питания в органах растений при повышении концентрации кадмия или цинка в корнеобитаемой среде выявило заметное снижение количества калия, кальция и магния в корнях и листьях растений обоих видов. Представляет интерес обнаруженные диссертантом различия воздействия кадмия на листья разного возраста. Показано, что молодые и зрелые листья амаранта существенно различаются по содержанию в них изученных элементов минерального питания в условиях высоких доз тяжелых металлов в питательном растворе. Научную значимость имеют также данные, касающиеся влияния кадмия и цинка на содержание нерастворимой и растворимой формы оксалата. Автор обнаружил заметное увеличение пула растворимого оксалата и одновременное снижение пула нерастворимого оксалата, что позволило ему говорить об индуцировании тяжелыми металлами процессов, участвующих в метаболизме щавелевой кислоты. На основании полученных данных диссертант выдвигает предположение, что увеличение содержания водного оксалата в ответ на действие тяжелых металлов является адаптивной реакцией растений и может рассматриваться как часть метаболического отклика на этот вид стрессового воздействия.

В подглаве 3.2. обсуждается влияние условий минерального питания (форма источника азота и рН питательного раствора) на ответную реакцию растений на действие тяжелых металлов. Автором получены интересные данные о том, что при использовании нитрата в качестве источника азота аккумуляция тяжелых металлов в органах растений выше, чем при использовании его аммонийной формы. Обнаружен также интересный факт уменьшения при низких значениях рН накопления тяжелых металлов в корнях растений и, наоборот, увеличение их концентрации в листьях. На основании полученных данных автор делает вывод о том, что низкий уровень рН препятствует связыванию кадмия и цинка в корнях, что приводит к заметному повышению концентрации металлов в надземных органах.

В подглаве 3.3 описаны результаты опытов по изучению локализации кадмия и цинка в различных органах амаранта, выполненных с помощью современных цитологических методов исследования. Полученные диссертантом данные выявили важную роль апопласта клеток корня в связывании кадмия у этого вида

растений. С использованием метода рентгенодифракционного анализа проведено изучение фазового состава кристаллов оксалата в органах амаранта. Это позволило впервые выявить возможность хелатирования кадмия щавелевой кислотой с образованием кристаллов безводного оксалата кадмия.

В подглаве 3.4 уделяется внимание влиянию других органических кислот (цитрата, сукцината, аскорбата) на поступление и распределение кадмия в растениях амаранта. В ходе проведенных исследований обнаружить, что при экзогенном внесении органических кислот в питательный раствор с высоким содержанием кадмия аскорбат и оксалат приводят к повышению содержания металла в корнях, тогда как цитрат, наоборот, снижает его концентрацию.

Подглава 3.5 посвящена исследованию метаболического отклика на действие высоких концентраций кадмия и цинка в органах двух видов амаранта, который исследовали на основании анализа метаболитных профилей. Полученные результаты позволили сделать вывод о том, что у более устойчивого к кадмию вида амаранта в присутствии металла наиболее значимые изменения среди изученных метаболитов наблюдаются в корнях в содержании сахаров (особенно глюкозы), а в листьях – в содержании органических кислот, что, вероятно, отчасти и обуславливает более высокую устойчивость к кадмию этого вида амаранта. Глубокий анализ результатов позволил автору представить схемы предполагаемого метаболического отклика листьев разного возраста *A. caudatus* при воздействии на растения кадмия.

В заключении автор обобщает полученные данные и выделяет основные, наиболее значимые результаты работы. Далее приводятся выводы, которые в большинстве отражают поставленные задачи.

Замечания и вопросы по работе. К диссертации имеются следующие замечания:

1. Заглавия некоторых глав и подглав в Обзоре литературы сформулированы некорректно. Это касается, например, подглавы 1.2.2, в которой автор обсуждает вопросы транспорта кадмия и цинка через мембраны клеток, а также механизмы дальнего транспорта этих элементов. Глава 1.4. называется «Влияние тяжелых металлов на рост и физиологические процессы растений», однако рост – это также физиологический процесс.

2. В подглаве 1.5.3.1, где должна обсуждаться роль секреции органических кислот в поступлении тяжелых металлов в растения и их металлоустойчивости, приводятся данные по алюминию, который не является тяжелым металлом.
3. На представленных в главе 3.5. схемах предполагаемого метаболического отклика листьев *Amaranthus caudatus* при воздействии на них кадмия не понятно; содержание каких соединений увеличивается в присутствии металла, а каких, наоборот, уменьшается.
4. Автор в тексте (на стр.79) и в выводе 1 говорит о процессе развития, однако изученные им показатели – сырая и сухая биомассы растений – являются показателями роста.
5. В выводах не нашли отражения результаты исследований влияния разных форм азота на аккумуляцию тяжелых металлов в органах растений.
6. Представляется важным в заключении и в выводах указывать не только вид растений, но и изученный сорт, поскольку, как известно, сортовые различия в ответной реакции растений на действие тяжелых металлов, могут быть даже более ярко выраженными, чем видовые.

Среди более мелких замечаний необходимо отметить, что в тексте диссертации и автореферата встречаются стилистически неудачные, а иногда и неправильные с точки зрения физиологии растений, выражения. Помимо этого, на некоторых рисунках (рис. 23, 24, 30 и 31) отсутствуют указания достоверности различий между вариантами.

Заключение. Несмотря на высказанные замечания, диссертация Ву Вьет Зунга является оригинальным законченным научным исследованием. Работа выполнена и оформлена в соответствии с современными требованиями, диссертация и автореферат хорошо иллюстрированы. Достоверность полученных результатов базируется на большом объеме проведенных экспериментов с использованием разнообразных современных методов исследования и подтверждена данными статистической обработки. Выводы отражают результаты исследования. Результаты диссертации полностью отражены в 10 печатных работах, из которых три статьи из перечня, рекомендованного ВАК РФ. Автореферат соответствует диссертации.

В целом, по объему выполненного исследования, уровню обобщения, новизне полученных результатов, их теоретической и практической значимости диссертационная работа Ву Вьет Зунга «Роль органических кислот в механизмах устойчивости растений амаранта к действию тяжелых металлов», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.05 – физиология и биохимия растений, соответствует критериям, указанным в пунктах 9-14 Положения «О порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 г. (в редакции Постановления Правительства РФ № 335 от 21.04.2016 г.; от 02.08.2016 г.), а ее автор заслуживает присуждения искомой степени.

Отзыв составлен ведущим научным сотрудником лаборатории экологической физиологии растений Института биологии – обособленного подразделения Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра "Карельский научный центр Российской академии наук" (ИБ КарНЦ РАН), д.б.н.

Н.М. Казниной

Отзыв заслушан и одобрен на заседании Ученого совета ИБ КарНЦ РАН (протокол № 6 от «24» мая 2018 г).

Казнина Наталья Мстиславовна
Институт биологии – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра "Карельский научный центр Российской академии наук"
Лаборатория экологической физиологии растений.
185910 г. Петрозаводск, ул. Пушкинская, 11
Тел. (8142)762706
e-mail: kaznina@krc.karelia.ru

Подпись Н.М. Казниной удостоверяю
Ученый секретарь ИБ КарНЦ РАН, к.б.н.

185910 г. Петрозаводск, ул. Пушкинская, 11
Тел. (8124)760910
Факс (8124)760910
E-mail: biology@krc.karelia.ru

