

ОТЗЫВ

ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА НА ДИССЕРТАЦИОННУЮ РАБОТУ
НАТАЛЬИ МСТИСЛАВОВНЫ КАЗНИНОЙ «ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ И МОЛЕ-
КУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ УСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ СЕМЕЙСТ-
ВА *POACEAE* К ТЯЖЕЛЫМ МЕТАЛЛАМ», ПРЕДСТАВЛЕННУЮ К ЗАЩИТЕ НА СОИС-
КАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ ДОКТОРА БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК
ПО СПЕЦИАЛЬНОСТИ 03.01.05 - ФИЗИОЛОГИЯ И БИОХИМИЯ РАСТЕНИЙ

Актуальность темы диссертационной работы

В настоящее время общепризнанны масштабность и опасность загрязнения среды тяжелыми металлами (ТМ). Растения способны аккумулировать ТМ в количествах, представляющих опасность для здоровья человека и животных. Вместе с тем, при значительном накоплении ТМ могут вызывать нарушения роста и развития самих растений, приводить к снижению их продуктивности.

Диссертационная работа Н.М. Казниной посвящена изучению механизмов устойчивости растений к тяжелым металлам. Среди немалого числа исследований по ТМ данная работа привлекает особое внимание по ряду причин. Во-первых, соискатель сосредоточилась на наименее изученных вопросах, связанных с выявлением ответных реакций растений на разных уровнях организации, от молекулярного до ценотического. Это позволило автору получить исчерпывающую характеристику физиолого-биохимических и молекулярно-генетических механизмов, обеспечивающих возможность растений не только существовать, но и полностью реализовать свою жизненную программу в присутствии ТМ. Во-вторых, объектами были выбраны слабо изученные в этом отношении представители сем. *Poaceae*. Исследованные Н.М. Казниной зерновые культуры - ячмень и овес - типичны для растениеводства северных регионов, но информация по ним крайне скудная. Дикорастущие травы имеют большое практическое значение как кормовые растения. Все сказанное свидетельствует о своевременности и актуальности диссертационного исследования Н.М. Казниной.

Новизна научных результатов и выводов

Н.М. Казниной впервые проведено комплексное исследование и разработана концепция устойчивости злаков к тяжелым металлам. На разных уровнях организации изучены реакции зерновых культур и дикорастущих злаковых трав на действие кадмия, свинца и цинка. Выявлены общие и специфические механизмы их устойчивости к ТМ. Впервые установлено, что ТМ влияют на темпы органогенеза, тормозят рост и дифференциацию апикальной меристемы стебля на ранних этапах развития растений. Обнаружены количе-

ственные и качественные различия в активности клеточных физиолого-биохимических и молекулярных механизмов защиты от ТМ в зависимости от возраста проростков. Показана связь устойчивости проростков ячменя к кадмию с содержанием хелаторов. Впервые выявлены закономерности распределения Cd и Zn в растениях однолетнего злака *Setaria viridis* с C4-типом фотосинтеза. Установлено, что растения этого вида накапливают ТМ в надземной и подземной части. Сохранению уровня процессов жизнедеятельности способствует комплекс действующих механизмов устойчивости, среди которых особую роль играет связывание ТМ хелаторами. Выявлено, что доминирование *Dactylis glomerata* и *Phleum pratense* в травянистых сообществах на импактных территориях вблизи промышленных предприятий обусловлено их высокой устойчивостью и активностью защитных физиолого-биохимических механизмов.

Теоретическая и практическая значимость работы

Впервые комплексно рассмотрены физиолого-биохимические и молекулярно-генетические механизмы устойчивости злаков к ТМ, установлены особенности проявления защитных реакций при воздействии кадмия, свинца и цинка. Разработаны представления о функционировании физиолого-биохимических механизмов устойчивости растений сем. *Poaceae*. Установлена роль молекулярно-генетических механизмов в защите клеток от действия ТМ, показана активация экспрессии генов ферментов, участвующих в синтезе хелаторов, генов транспортных белков и генов белков протонной АТФ-азы тонопласта. Работа вносит существенный вклад в понимание металлоустойчивости, доказывает многоуровневый характер и кооперативное функционирование защитных механизмов, обеспечивающих существование растений в среде, содержащей тяжелые металлы. Полученные результаты создают научную основу практического применения злаковых трав для фиторемедиации в условиях таежной зоны, могут быть использованы при разработке программ мониторинга загрязнения среды ТМ, в селекционно-генетических работах с зерновыми злаками и злаковыми травами. Материалы диссертации нашли отражение в учебных пособиях и практикумах для студентов биологов и экологов.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в работе

Обоснованность и достоверность результатов и выводов диссертационной работы Н.М. Казниной обеспечена большим экспериментальным материалом, собранным в результате проведения лабораторных, вегетационных и полевых опытов; использованием современных физиолого-биохимических и молекулярных методов исследования процессов жизнедеятельности растений и устойчивости клеточных систем; проведением стати-

стической обработки данных. Идея работы базируется на обобщении имеющихся в литературе сведений; полученные результаты не противоречат представлениям о защитно-приспособительных механизмах и адаптивных реакциях растений. Используются сравнения оригинальных авторских данных с результатами отечественных и зарубежных исследователей. Результаты работы многократно представлены для обсуждения на всероссийских и международных научных конференциях.

Структура и объем работы, полнота изложения материалов диссертации в опубликованных соискателем работах

Диссертационная работа Н.М. Казниной включает 6 глав, введение, заключение, список использованной литературы (934 источника). Работа изложена на 358 стр., содержит 55 таблиц и 43 рисунка. Во Введении автор четко обосновывает актуальность исследования, очерчивает задачи, решение которых необходимо для достижения главной цели, состоящей в изучении физиолого-биохимических и молекулярно-генетических механизмов устойчивости культурных и дикорастущих злаков к повышенной концентрации ТМ в корнеобитаемой среде. Глава 1 посвящена обзору литературы, в ней приводятся сведения о наличии и источниках ТМ в окружающей среде, их поступлении, накоплении и локализации в растениях. Рассмотрены эффекты ТМ на процессы жизнедеятельности и механизмы устойчивости растений. В главе 2 приведена информация об объектах и методах. Следует отметить продуманную методологию исследования, применение комплекса физиолого-биохимических методик и молекулярно-генетического анализа. Автор удачно использовала разные схемы опытов с культурными и дикорастущими растениями. В главах 3-5, занимающих основной объем работы, представлены и обобщены результаты исследований соискателя по изучению физиолого-биохимических и молекулярно-генетических механизмов устойчивости растений сем. *Poaceae* к тяжелым металлам. Глава 6 содержит результаты, полученные при изучении морфофизиологических показателей дикорастущих злаковых трав на загрязненных ТМ территориях вблизи промышленных объектов. В Заключении представлена обобщающая схема, отражающая механизмы устойчивости злаков к ТМ. Материалы диссертации нашли полное отражение в опубликованных автором статьях и монографиях. По теме работы опубликовано 39 работ, в т.ч., 20 в журналах, рекомендованных ВАК.

Замечания и вопросы по работе

1. На рис. 1 (стр.17) приведены основные источники поступления ТМ в среду, среди них указаны «Биологические процессы». Не совсем понятно, что автор имела в виду.

2. Для исследования роли возрастного фактора в устойчивости растений к ТМ в качестве модели использовали 3-х и 7-дневные проростки ячменя. Указано, что первому возрасту соответствовала фаза прорастания семян, второму - фаза всходов (стр.). Чем обусловлен выбор проростков такого возраста? По каким признакам различали фазы?

3. На стр. 106 приведено описание вегетационных опытов с дикорастущими травами. Непонятно, в какой форме вносили ТМ и что означают указанные концентрации.

4. На рис. 4-6 не указан возраст проростков.

5. Автор справедливо уделяет большое внимание влиянию ТМ на прохождение растениями ячменя и овса этапов органогенеза. В связи с этим было бы нелишне привести фотографии (или схемы) конуса нарастания апикальных меристем на I-IV этапах органогенеза. Как соотносятся фазы (всходы, проростки, фаза 3-х листьев) и этапы органогенеза.

6. На стр. 135 автор пишет, что замедление темпов органогенеза злаков в присутствии высоких доз ТМ может быть обусловлено с задержкой клеточных делений в апикальной меристеме стебля. Не упускает ли автор из вида наличие коррелятивных взаимодействий побега и корня. Накопление в корне ТМ и торможение роста корневой системы не могло не сказаться на синтезе гормонов (цитокининов) и поглощении элементов минерального питания.

7. При сопоставлении данных на рис.6-8 видно, что высокие дозы ТМ ингибировали рост площади первого листа проростков злаков сильнее, чем второго и третьего листьев. Чем это можно объяснить?

8. Трудно согласиться с утверждением, что рост и развитие - два ...протекающих одновременно процесса (стр.133). Вслед за Д.А. Сабининым считаю, что развитие отражает качественные изменения, так как в процессе развития растение приобретает качественно новые структуры. Поэтому развитие без роста невозможно, тогда как рост без развития возможен. Например, вегетативный рост (образование новых метамеров), происходит увеличение растения по какому-то параметру (масса, линейные размеры и т.п.).

9. Стр. 153, абз. 2. Следовало бы уточнить, что данное утверждение справедливо для использованных автором доз внесения солей ТМ в субстрат. При более высоких дозах возможны нарушения роста и развития, вплоть до гибели растений. Для полноты картины было бы также не лишним указать содержание ТМ в субстрате в эквивалентах ПДК для почв.

10. Данные на стр. 154-157 свидетельствуют о противоположных эффектах высоких доз кадмия и цинка на показатели мезоструктуры листа ячменя (табл.15-16), но в обоих случаях автор относит эти изменения к адаптивным (стр.157). Почему?

11. Результаты изучения показателей замедленной флуоресценции хл *a* ФС 2 (Fm, Fo, ETR) и скорости фотосинтеза листьев указывают на то, что высокие дозы ТМ, особенно кадмия, вызывали состояние стресса в растениях ячменя. Поддержание величины Fv/Fm на уровне 0.76-0.77, скорее всего, свидетельствует об эффективной работе систем репарации.

12. В большинстве экспериментов с проростками использовали 4-суточную экспозицию на растворе Cd²⁺ 100 мкМ. На чем основывался выбор продолжительности воздействия и доза кадмия?

13. Результаты молекулярных исследований ожидаемо подтвердили роль молекулярно-генетических механизмов в обеспечении клеточного гомеостаза в условиях действия стрессора (ТМ). Выявлена экспрессия генов ферментов, участвующих в синтезе хелаторов, генов транспортных белков и генов белков протонной АТФ-азы вакуолярной мембраны. Что в настоящее время известно о сигналинге ТМ у растений? Какие рецепторы воспринимают сигнал, как осуществляется его трансдукция и дальнейшая цепь событий вплоть до физиологического ответа.

14. Несколько замечаний общего плана:

Выводы носят излишне общий характер, хотелось бы видеть в них больше конкретики, четко проявившихся закономерностей.

В главах 3-5 представлены основные результаты работы, при этом их описание перебивается обсуждением. Выбор такой структуры изложения, на мой взгляд, отвлекает и снижает впечатление от собственных результатов автора.

В тексте встречаются опечатки (стр. 97, 161, 167 и др.), неудачные выражения и фразы, так например, «...обнаружено *некоторое отрицательное влияние* ТМ на *некоторые элементы* семенной продуктивности ячменя и овса....» (стр. 149).

Соответствие диссертации и автореферата требованиям Положения о порядке присуждения ученых степеней, утвержденным Постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013

Вопросы и замечания не снижают общего положительного впечатления от диссертационной работы Н.М. Казниной. В большей мере они носят уточняющий характер и не ставят под сомнение сделанные автором выводы. Диссертационная работа Н.М. Казниной является законченным научно-исследовательским трудом. Выводы соответствуют содер-

жанию и результатам исследования, автореферат - диссертации. Публикации и автореферат в полной мере отображают содержание работы.

По объему выполненного исследования, уровню обобщения, новизне полученных результатов, их теоретической и практической значимости диссертационная работа Н.М. Казниной «Физиолого-биохимические и молекулярно-генетические механизмы устойчивости растений сем. *Roaceae* к тяжелым металлам», представленная на соискание степени доктора биологических наук по специальности 03.01.05 - физиология и биохимия растений, в полной мере соответствует критериям, установленным Положением о порядке присуждения ученых степеней ВАК РФ, а ее автор заслуживает присуждения искомой степени.

Зав. лабораторией экологической физиологии растений
ФГБУН Института биологии Коми научного центра
Уральского отделения РАН, доктор биол. наук, профессор,
Заслуженный деятель науки РФ
Головка Тамара Константиновна



Коммунистическая ул., 28
Сыктывкар, ГСП -2, 167982.
e-mail: golovko@ib.komisc.ru

