

ОТЗЫВ

официального оппонента д.б.и. Новицкой Людмилы Людвиговны на диссертационную работу Арбичевой Алисы Игоревны "Структурно-функциональная организация листьев у некоторых представителей порядка Araucariales", представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.01 - "Ботаника"

Актуальность темы исследования. Диссертационная работа А.И. Арбичевой посвящена изучению структурно-функциональной организации листьев голосеменных растений, принадлежащих видам семейств Araucariaceae и Podocarpaceae, которые встречаются в лесных сообществах Южного полушария. Их важной особенностью является крупная листовая пластинка, имеющая значительное морфологическое сходство с листьями цветковых. Исследование таких листьев представляет большой интерес как с точки зрения их взаимодействия с примитивной (бессосудистой) ксилемой, так и выявления адаптивных приспособлений, позволяющих араукариевым и подокарповым успешно конкурировать в умеренных и тропических областях с покрытосеменными растениями.

Научная новизна исследований обусловлена тем, что представители рода *Agathis* (Araucariaceae) впервые выступили в качестве модельного объекта для изучения структурно-функциональной организации долгоживущих листьев голосеменных растений. В работе дано описание особенностей роста листовой пластинки агатиса, исследован гистогенез эпидермы с особым вниманием к развитию в ней устьичных комплексов, представлены данные по структурной характеристике завершивших рост листьев, проведен сравнительно-гистологический анализ и оценены физиологические показатели разновозрастных листьев.

Впервые у 4-х видов подокарповых (Podocarpaceae) с широкой листовой пластинкой, обитающих в лесах Чили, детально исследовано строение листа, в том числе на ультраструктурном уровне. У двух из них впервые выявлена водозапасающая ткань. Продемонстрированы сходство и различия в стратегии водного режима у обладающих широкими листьями голосеменных и бессосудистых покрытосеменных растений.

Теоретическая и практическая значимость работы. Виды семейств Podocarpaceae и Araucariaceae, отличительной особенностью которых является крупная листовая пластинка, имеют очень ограниченные ареалы в пределах Южного полушария. Популяционная численность некоторых из них существенно сокращается под влиянием антропогенных и климатических факторов, другие находятся под угрозой исчезновения. В то же время эти виды представляют большой интерес с точки зрения познания путей эволюции голосеменных и развития конкурентных отношений между голосеменными и

покрытосеменными растениями. Сохранение современных ареалов этих видов предполагает детальное изучение их биологии и экологии, и важную роль здесь играет изучение структурно-функциональных особенностей и адаптивных возможностей листового аппарата. Результаты, полученные автором в этом направлении, придают работе большую теоретическую и практическую ценность. Наряду с прочим, значение работы состоит также в том, что растительный материал, собранный в природных условиях произрастания исследуемых видов в Южном полушарии и в Ботаническом саду БИН РАН, демонстрирует перспективность использования ботанических садов для сохранения генетического фонда видов, находящихся под угрозой исчезновения.

Положения, выносимые на защиту, отражают полученные автором новые результаты и согласуются с основными выводами.

Основное содержание работы

Диссертация А.И. Арбичевой изложена на 187 страницах машинописного текста, включает 16 таблиц и 45 рисунков. Диссертация состоит из введения, 5 глав (Обзор литературы, Материалы и методы, 2 экспериментальные главы, Обсуждение полученных результатов), заключения, выводов, перечня используемых сокращений и списка цитируемой литературы. Список литературы содержит 365 наименований, подавляющее большинство которых – 323, на иностранных языках.

Глава 1 включает обзор литературных источников, в котором автор систематизировал имеющиеся данные по географии, экологии, систематике, морфологии, анатомии, и некоторым аспектам физиологии и биохимии представителей широколиственных голосеменных, принадлежащих к видам семейств *Araucariaceae* и *Podocarpaceae*. Наряду с ними рассматриваются гомоксиларные (бессосудистые) покрытосеменные, принадлежащие к видам семейства *Winteraceae*. Во всех случаях особое внимание уделено структурно-функциональной организации тканей листа, взаимодействующего с примитивной (состоящей из трахеид) ксилемой.

Глава 2 содержит характеристику растительного материала и описание методов исследования. В работе были задействованы 2 вида араукариевых (*Agatis brownii*, *A. vitiensis*), 4 вида подокарповых (*Podocarpus nubigenus*, *Podocarpus salignus*, *Prumnopitys andina*, *Saxegothaea conspicua*) и 2 вида винтеровых (*Drimys andina*, *D. winteri*). Опытные деревья произрастали на территории Ботанических садов БИН РАН и Санкт-Петербургского ГУ, а также в национальных парках южного Чили. Представители рода *Agatis* служили в качестве модельных объектов для изучения возрастных изменений в строении широких листьев голосеменных, на примере подокарповых исследовали количественные признаки строения листа. В работе были использованы анатомо-морфологические, анатомо-цитологические, гистохимические и физиологические методы

исследования. Все данные получены на базе современного оборудования. Анатомический анализ проводили методами обычной световой микроскопии, с помощью инвертированного микроскопа в режиме флуоресценции, а также с применением трансмиссионной и сканирующей электронной микроскопии. Изучено 50 признаков, характеризующих морфологию и анатомию листа, и 14 признаков строения древесины. Из физиологических показателей исследованы: суммарное содержание хлорофиллов, содержание хлорофиллов *a* и *b* и суммарных каротиноидов, поглощение ¹⁴C-сахарозы жилками листа, интенсивность фотосинтеза, транспирации и газообмена, оводненность тканей листа. Все количественные данные математически обработаны с использованием пакета программ STATISTICA 8.0 и с помощью компонентного анализа.

В Главе 3 на примере представителей двух видов агатиса дано детальное описание роста и развития долгоживущих листьев голосеменных растений. Оценены динамика роста листа, заложение и формирование в эпидерме устьичного аппарата, особенности его развития на разных стадиях роста листа. На основе анализа 37 признаков рассмотрено строение сформированного листа. Установлено, что несмотря на продолжительный срок жизни (10 лет и более), развитие листа агатиса завершается в первый год его жизни. Показано, что для агатиса характерна очень толстая листовая пластинка, оболочки клеток губчатой ткани имеют пектиновые бородавки, покрытые слизью, в мезофилле встречаются астроклереиды, между жилками располагаются секреторные ходы, заполненные эфирными маслами, составляющие лист клетки содержат крахмал, танины и кристаллы оксалата кальция.

Компонентный анализ выявил корреляции между признаками листа, которые были объединены в 5 групп (плеяд). В целом показано, что чем крупнее лист, тем больший объем в его черешке занимает ксилема. Это происходит как за счет роста числа трахеид, так и увеличения просветов их полостей. Результатом становится снижение отношения площади листовой пластинки к площади ксилемы на поперечном срезе черешка, т.е. сокращение транспирационной поверхности относительно водопрводящей.

С увеличением возраста листа эпидерма листовой пластинки сохраняет свое строение, покрывающая ее кутикула не утолщается, в то же время форма клеток губчатого мезофилла изменяется с округлой на угловатую, на их оболочках увеличивается количество и размер пектиновых бородавок, к возрасту 12-15 лет практически все клетки мезофилла заполняются танинами, на поверхности клеток и в клеточных стенках накапливаются кристаллы щавелевокислого кальция. Значительные изменения происходят и в черешке листа: у старых листьев наблюдаются деформация и разрушение клеток основной ткани, в межклетниках накапливаются кристаллы, увеличиваются количество и размеры склереид, в проводящих пучках в 2-3 раза уменьшается число слоев

ситовидных клеток, паренхимные клетки заполняются танинами. Отдельного внимания заслуживает тот факт, что на определенном этапе старения листьев их жилки теряют способность к поглощению сахарозы из апопласта. Важной особенностью возрастных листьев становится появление перидермы в разных частях листовой пластинки.

Наряду с изменением структурно-функциональных характеристик листьев агатиса, в работе приведены данные по возрастным изменениям его древесины, для чего была исследована древесина однолетнего побега, многолетней ветви и ствола.

В **Главе 4** представлен сравнительный анализ структурно-функциональной организации листьев представителей подокарповых и винтеровых, произрастающих в лесных сообществах умеренного дождевого леса южной части Центрального Чили. Дано детальное описание строения листа *Podocarpus salignus*, *P. nubigenus*, *Saxegothaea conspicua*, *Prumnopitys andina*, *Drimys winteri* и *D. andina*, изучены физиологические характеристики листа, отражающие интенсивность фотосинтеза, устьичную проводимость, интенсивность транспирации и эффективность использования воды.

На основе данных компонентного анализа сопоставлено строение листовой пластинки и черешка 6-ти исследованных видов.

Глава 5 содержит обсуждение результатов проведенного исследования с привлечением большого объема литературных данных. На примере агатиса рассмотрено значение накопления танинов и кристаллов с точки зрения их влияния на физиологические функции клеток и тканей листа и роли в защите вегетативных органов от патогенов. Предложено оригинальное объяснение причин формирования перидермы по мере старения листьев, а именно, что перидерма изолирует зоны листа, находящиеся на стадии отмирания в связи с их переполнением неиспользуемыми и конечными продуктами метаболизма, и тем самым отсекает эти участки от остальных, живых тканей листа. Рассматривая в комплексе ряд структурно-функциональных показателей стареющих листьев (уменьшение объема функционирующей флоэмы, снижение интенсивности загрузки ситовидных трубок сахарозой, уменьшение интенсивности фотосинтеза и др.) автор делает вывод о постепенной смене функций долгоживущих листьев.

Детальное исследование широких листьев подокарповых позволило выявить структурные приспособления, позволяющие им конкурировать с покрытосеменными растениями, листья которых снабжены развитой системой тонких жилок, образующих разветвленную сеть. Особенности водно-транспортной системы подокарповых отражают два типа структурной организации листа: первый характеризуется наличием дополнительной трансфузионной ткани (*Podocarpus salignus*) или значительным развитием палисадной паренхимы (*Prumnopitys andina*) и связан с интенсивной

транспирацией, высокой устьичной проводимостью и интенсивным фотосинтезом; во втором случае (*Podocarpus nubigenus*, *Saxegothaea conspicua*) в листьях растений была обнаружена водозапасающая ткань, что коррелирует с низкими значениями интенсивности транспирации, устьичной проводимости и интенсивности фотосинтеза. Показано, что адаптация изученных видов голосеменных к условиям среды осуществляется сходным с цветковыми образом, но в рамках тех системных ограничений, которые накладывает на них принадлежность к более древнему отделу царства растений.

Заключение и Выводы диссертации в полной мере отражают новизну полученных результатов.

Следует отметить, что диссертация А.И. Арбичевой представляет собой оригинальное законченное научное исследование, в ней содержится большой объем экспериментальных данных, полученные результаты и сделанные на их основе выводы имеют важное теоретическое и прикладное значение. Работа хорошо оформлена, четко структурирована, грамотно изложена с использованием профессиональной научной лексики, рисунки в полной мере отражают обсуждаемый материал. Дополнительное приятное впечатление оставляет тот факт, что текст тщательно вычитан и почти не содержит опечаток.

В качестве небольших замечаний и пожеланий могу отметить следующее:

1) с. 141, первый абзац: "... (танины) ингибируют многие ферментные системы, однако, в живых клетках это их свойство, по-видимому, не проявляется, так как они изолированы мембранами от протопласта". Использование термина "протопласт" в данном случае некорректно, так как он характеризует все содержимое клетки, ограниченное плазмалеммой (включая саму клеточную мембрану). Очевидно, автор здесь имела в виду, что в пределах протопласта танины изолированы от остального содержимого клетки вакуолярной мембраной (тонопластом).

2) При обсуждении результатов исследования можно было бы особо подчеркнуть, что в старых листьях накопление большого количества танинов в столбчатом мезофилле и в клетках черешка и увеличение числа склереид, характерной особенностью которых являются толстые лигнифицированные оболочки, связаны с появлением избытка фотоассимилятов на фоне хоть и слабого, но продолжающегося фотосинтеза, и подавленного оттока сахарозы. Отдельного внимания заслуживает угловатая форма некоторых клеток губчатого мезофилла возрастных листьев (рис. 3.14 З), которая свидетельствует о потере ими тургора. Это указывает на низкий уровень сахаров в клетках и на то, что они перестают участвовать в транспорте фотоассимилятов к проводящим пучкам, что согласуется с низким уровнем загрузки флоэмы сахарозой. Исключение этих клеток из транспортных путей приводит к их медленному отмиранию и использованию

остаточного клеточного содержимого на синтез целлюлозы и пектиновых веществ. О последнем свидетельствуют утолщение клеточных оболочек и появление на них многочисленных пектиновых бородавок и выростов (рис. 3.14 4).

3) Последнее предложение Заключения: "Это говорит о том, что в долгоживущих листьях происходит постепенная смена функций - переход от ассимиляции и транспорта продуктов фотосинтеза к накоплению и изоляции соединений, не включенных в метаболизм растения или исключенных из него". Правильнее было бы сказать "переход от ассимиляции углерода и транспорта продуктов фотосинтеза к накоплению ...". Кроме того, поскольку фотосинтез в этих листьях, очевидно, прекращается только перед самым их опадением, то лучше было бы говорить о том, что с возрастом в них происходит не смена функций, а значительно усиливается функция накопления продуктов обмена в связи с ослаблением оттока фотоассимилятов из листа.

Высказанные замечания и пожелания никоим образом не умаляют достоинств диссертационной работы, но, напротив, подчеркивают важность и многогранность полученных результатов.

В целом считаю, что диссертационная работа А.И. Арбичевой соответствует всем требованиям, установленным "Положением о порядке присуждения ученых степеней" (утверждено постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842) и предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, и ее автор Арбичева А.И. безусловно заслуживает присуждения степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.01 - "Ботаника".

Новицкая Людмила Людвиговна,

доктор биологических наук
(специальность 03-02-01 - "Ботаника"),
главный научный сотрудник лаборатории
физиологии и цитологии древесных растений
Института леса – обособленного подразделения
Федерального государственного бюджетного
учреждения науки Федерального исследовательского
центра "Карельский научный центр
Российской академии наук",

185910 г. Петрозаводск
ул. Пушкинская, 11
Тел.: (814-2) 76-81-60
E-mail: forest@krc.karelia.ru

15 апреля 2020 г.

