

## ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу Натальи Мстиславовны Казниной «Физиолого-биохимические и молекулярно-генетические механизмы устойчивости растений семейства Роасеае к тяжелым металлам», представленной на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.01.05 - «Физиология и биохимия растений»

Актуальность исследования. Диссертационная работа, представленная Натальей Мстиславовной Казниной, посвящена изучению устойчивости растений. Устойчивость представляет собой одну из важнейших характеристик любой сложной системы и характеризует способность системы и отдельных компонентов противостоять негативным факторам среды в целях своего сохранения и поддерживать свою структуру более или менее стабильной на протяжении некоторого отрезка времени. Устойчивость растений к тяжелым металлам - одного из приоритетных поллютантов по степени опасности для окружающей среды, принято рассматривать, как способность переносить их действие в повышенных, токсических концентрациях. Исследования последних лет показывают, что способность растений произрастать в условиях загрязнения окружающей среды тяжелыми металлами обеспечивается комплексом различных механизмов. Несмотря на усилия отечественных и зарубежных ученых, многие аспекты, касающиеся механизмов устойчивости растений к данному виду загрязнений, остаются малоизученными как в физиологии, так и в экологии растений. Это касается и культурных растений, в частности злаков, составляющих значительную часть рациона питания человека, и дикорастущих растений, способных произрастать в зоне влияния этого вида загрязнений.

В этой связи диссертационная работа Натальи Мстиславовны является актуальной, поскольку вносит новые и дополнительные знания в решение проблемы устойчивости растений к повышенным концентрациям тяжелых металлов на основе изучения физиолого-биохимических и молекулярно-генетических механизмов.

Характеристика работы. Диссертация состоит из введения, шести глав, заключения, выводов, списка литературы (934 источника, в том числе 661 - на иностранных языках). В основном тексте работы

представлено 55 таблиц и 43 рисунка. Структура диссертации традиционна и соответствует требованиям, предъявляемым к содержанию и оформлению докторских диссертаций.

В первой главе (обзор литературы) приводится общая характеристика тяжелых металлов, основные источники и особенности их поступления в окружающую среду, а также особенности их транспорта и накопления в растениях. Проанализированы известные к настоящему времени сведения о влиянии тяжелых металлов на физиологические процессы растений, включая рост и развитие, фотосинтез, водный обмен. Большое внимание уделено клеточным механизмам устойчивости растений в целом и растений сем. *Poaceae* в частности. Детальный анализ литературы в рамках заявленной темы позволил выявить недостаточно исследованные или спорные аспекты, что и определило основные цели и задачи данной работы. Литературный обзор написан с привлечением большого числа источников и является основой для обсуждения полученных в ходе работы результатов.

В задачи диссертации входил широкий круг вопросов, начиная от выявления общих и специфических физиолого-биохимических механизмов металлоустойчивости культурных и дикорастущих злаков; исследования влияния возраста на их устойчивость, включая молекулярно-генетические механизмы (определение уровня транскриптов генов белков, участвующих в синтезе хелаторов тяжелых металлов), и генов, продукты которых обеспечивают транспорт тяжелых металлов в вакуоль; определения состояния антиокислительной системы; и заканчивая изучением роли и состояния злаков в травянистых сообществах, сформированных на загрязненных территориях с оценкой перспективы использования в технологиях фиторемедиации.

Во второй главе приведены сведения об объектах исследования, подробнейшим образом описаны применяемые методы исследования. В целом данная глава дает полное представление о проведенных лабораторных и полевых исследованиях и обработке полученного материала, а также указывает на значительный объем выполненной диссертантом экспериментальной работы.

В главах 3-5 приведены основные результаты работы и их обсуждение. В первой части работы исследовано влияние тяжелых металлов на

показатели роста, продуктивности, различных параметров, характеризующих процессы фотосинтеза и водного обмена, культурных растений (на примере овса и ячменя). Основными результатами этой части работы можно считать следующие:

1. Исследованные виды злаков оказались способными произрастать, переходить к генеративному развитию и формировать семена, несмотря на негативное воздействие кадмия, свинца и цинка на рост апикальной меристемы стебля, размеры корня и побега, а также некоторую задержку темпов органогенеза.
2. Степень ингибирующего действия тяжелых металлов на показатели роста и развития исследованных видов культурных злаков зависит в большей степени от токсичности металла и его концентрации, чем от межвидовых различий.
3. Одним из наиболее важных результатов стало обнаруженные впервые возрастные различия в активности некоторых механизмов детоксикации кадмия. Так, более высокая устойчивость к металлу 7-дневных проростков связана с активацией экспрессии генов белков, участвующих в синтезе хелаторов металла, и с синтезом их молекул, а также с увеличением уровня транскриптов генов транспортных белков, в том числе антипортера *SAH2* и субъединиц вакуолярной  $H^+$ -АТФазы. У 3-дневных проростков, в большей степени функционируют механизмы, обеспечивающие транспорт токсичных ионов в вакуоль в клетках корня.

Полученные Н.М. Казниной результаты в этой части работы убедительно свидетельствуют об устойчивости исследованных видов злаков к действию тяжелых металлов за счет индукции защитных механизмов, направленных на детоксикацию их действия, а также об органоспецифичности этих механизмов на ранних этапах онтогенеза.

Не менее интересные данные получены при изучении дикорастущих злаков. Показано, что некоторые виды однолетних и многолетних злаков способны произрастать на субстратах с высоким уровнем загрязнения кадмием и цинком. Высокая устойчивость дикорастущих видов злаков к тяжелым металлам, также как и культурных растений, обеспечивается целым рядом физиолого-биохимических механизмов, позволяющих растениям поддерживать в течение длительного времени нормальный рост и развитие, сохранять высокий уровень фотосинтеза и стабильность водного режима. При этом выявлены сходные и специфические

адаптационные механизмы у изученных видов дикорастущих злаков. К сходным механизмам устойчивости отнесены высокая всхожесть семян, поддержание активного роста листьев при замедлении роста корня, сохранение необходимой концентрации каротиноидов и активности ФС II, а также синтез ФХ и GSH. Среди механизмов, различающихся у разных видов растений: усиление или замедление побегообразования, увеличение или уменьшение количества устьиц и размеров устьичной щели, поддержание высокого уровня оводненности тканей за счет уменьшения интенсивности транспирации или увеличения гидравлической проводимости корня.

Обнаруженная способность многолетних злаков накапливать значительные количества тяжелых металлов в корнях, а однолетника *Setaria viridis* - еще и в надземных органах, стала основанием для заключения о возможности их использования в фиторемедиации загрязненных тяжелыми металлами почв.

Интересной и важной частью диссертационной работы стало проведение полевых исследований с целью изучения роли и состояния многолетних злаков в травянистых сообществах, сформированных на техногенно загрязненных тяжелыми металлами почвах в условиях таежной зоны. Исследования проводили на участках, расположенных на разном расстоянии от двух промышленных<sup>51</sup> предприятий, технологические процессы на которых предполагают выбросы тяжелых металлов. Об устойчивости злаков к техногенному загрязнению почв судили на основании оценки их ценотической роли в изученных сообществах и состоянию доминирующих на этих участках видов злаков *Dactylis glomerata* и *Phleum pratense*, изученных ранее в вегетационных опытах. Автору удалось подтвердить высокую устойчивость к тяжелым металлам растений семейства Poaceae, что позволяет злакам играть важную ценотическую роль в сообществах, сформированных на техногенно загрязненных территориях. Оказалось, что многолетние злаки являются доминирующими видами в растительных сообществах. При этом они способны накапливать тяжелые металлы в относительно больших количествах в корнях, без заметных нарушений роста и развития.

Завершают работу заключение и выводы. В заключении обобщены ..результаты диссертационного исследования, подкрепленные цифровыми

данными и обобщающей схемой о механизмах металлоустойчивости злаков. Выводы логично вытекают из результатов работы и отвечают поставленным задачам и цели исследований.

В целом следует отметить, что получен большой массив новых данных, имеющих важное теоретическое значение для более полного понимания общих механизмов адаптации растений к тяжелым металлам. Данные о возрастных различиях в устойчивости злаков к тяжелым металлам углубляют знания об адаптационных возможностях растений на разных этапах их онтогенеза. Результаты изучения молекулярно-генетических механизмов металлоустойчивости растений позволяют уточнить роль ряда генов (HMA3, CAX2), ответственных за синтез белков, осуществляющих транспорт катионов металлов в вакуоль, а также генов субъединиц вакуолярной H<sup>+</sup>АТФазы в повышении устойчивости растений к кадмию, тем самым расширяя существующие представления о механизмах транспорта тяжелых металлов в растительной клетке.

Кроме того очевидна практическая значимость работы, результаты которой могут служить основой при определении стратегии селекционно-генетических работ, направленных на поиск генотипов и выведение сортов, обладающих, с одной стороны, высокой металлоустойчивостью, а с другой - способных задерживать значительную часть поступивших ионов металлов в корнях.

Текст написан хорошим языком, структура диссертации логична, что позволяет воспринимать фактический материал.

При общей высокой оценке проведенной работы нельзя не отметить и некоторые недостатки и высказать замечания.

1. В первой части работы подробно изучаются эффекты влияния тяжелых металлов на различные параметры, однако отсутствуют данные о содержании металлов в самих растениях, и корнях и надземных органах, хотя в дальнейших исследованиях автором показана специфичность накопления металлов в разных растениях.

2. Поскольку выявлен целый ряд общих и специфических механизмов металлоустойчивости, можно было бы попытаться установить взаимосвязь между выявленными отдельными механизмами, хотя бы на уровне корреляционных зависимостей (например, длины конуса и фазы органогенеза).

3. К сожалению, возрастные различия исследованы только на одном виде металла и одном виде растений.

4. Прочитировано огромное количество литературных источников, многие из которых, уже рассмотрены в большом количестве обзоров и монографий. На мой взгляд, было бы достаточно остановиться только на работах последних 10-15 лет. Таких работ, начиная с 2000 года, в данной работе насчитывается только 51%.

6. Несколько замечаний технического характера: наличие орфографических ошибок (стр. 15, 49, 57, 62, 97, 120, 161, 172, 215, и др.), несогласованных оборотов (стр. 84, 97), повторов (стр. 114 и 115), отсутствие единого подхода в написании латинских названий видов (на одной странице можно увидеть как полное название вида, так и его сокращенное название - стр. 234), а также единого подхода в выражении концентраций тяжелых металлов (в одних случаях концентрация выражена в г/кг, в других - в мМ), запутано описание результатов, представленных на рис. 35.

Отмеченные замечания не снижают ценности диссертации и имеют скорее рекомендательный характер, за исключением технических погрешностей.

**Заключение.** Диссертационная работа Н.М. Казниной - это законченное фундаментальное научное исследование, представляющее обобщение многолетних данных по изучению устойчивости культурных и дикорастущих злаков к действию тяжелых металлов. Получен ряд оригинальных данных в области физиологии растений, позволяющих существенно расширить представления о механизмах устойчивости растений. В работах, опубликованных автором, в том числе в журналах, рекомендованных ВАК, в международных журналах и книгах в полной мере отражены все полученные результаты. Основные положения работы представлены на конференциях разного уровня. Все сделанные выводы обоснованы и подтверждены данными статистической обработки. Автореферат представляет собой краткое изложение диссертации, а его содержание в полной мере отражает содержание представленной работы.

Считаю, что диссертационная работа «Физиолого-биохимические и молекулярно-генетические механизмы устойчивости растений семейства -Роасеае к тяжелым металлам» по актуальности, методическому уровню, научной и практической значимости соответствует требованиям, предъявляемым к докторским диссертациям (пп. 9-11, 13, 14 «Положения

о присуждении ученых степеней», утвержденных постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013г.). Автор диссертации Казнина Наталья Мстиславовна заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.01.05 - физиология и биохимия растений.

Главный научный сотрудник Лаборатории  
экологической биохимии  
Федерального государственного бюджетного учреждения науки  
Института экологии Волжского бассейна Российской академии наук,

25.05.2016.



Почтовый адрес: 445003, г. Тольятти,  
Ул. Комзина, 10. Тел.: +78482489209;  
e-mail: [olgarozen55@mail.ru](mailto:olgarozen55@mail.ru)