

**Отзыв на автореферат диссертации Никушина Олега Витальевича
«Влияние лигандов на поглощение ионов меди клеточными стенками растений вики (*Vicia sativa* L.)», представленной на соискание ученой степени
кандидата биологических наук по специальности
1.5.21 – физиология и биохимия растений**

Токсическое действие тяжелых металлов на растения и реализация защитных механизмов растений, направленных на нейтрализацию их действия, безусловно, являются актуальной областью исследования. Особенно актуально изучение действия тяжелых металлов и способов нейтрализации их токсического действия на ранних этапах морфогенеза растений. Клеточная стенка (КС) растений является первым барьером на пути всех неблагоприятных факторов, и именно от особенностей ее состава и структуры во многом зависит реакция всего растительного организма. Поскольку устойчивость растений к тяжелым металлам может определяться ионообменными свойствами КС, изучение их роли в связывании металлов также крайне актуально и значимо.

Несмотря на актуальность тематики, наличие сформированной методической базы для решения поставленных задач и обилие экспериментальных данных, у меня возникла масса замечаний и вопросов как к стратегии работы, так и к трактовке ее результатов. Кроме того, меня смутил список публикаций по теме диссертации, из которого следует, что результаты, излагаемые в работе, не были опубликованы (две работы посвящены ионообменным свойствам КС корней и побегов ячменя, в третьей работе в качестве объекта использовали растения вики нарбонской). Я понимаю, что методология и алгоритмы экспериментов в публикациях схожи и что наличие публикаций говорит, главным образом, о компетенции защищаемого, тем не менее, отсутствие в рецензируемых изданиях публикаций, посвященных ключевой проблематике работы (влияние лигандов на поглощение ионов меди), настораживает, хотя я не исключаю, что правила Диссертационного совета МГУ допускают наличие публикаций, близких по тематике, но не содержащих излагаемые в работе результаты.

По-видимому, в текст автореферата включены не все результаты, описанные в диссертации, и в некоторых случаях это привело к тому, что представленные выводы не подкреплены никакими результатами, что затрудняет объективное рецензирование. Так, в тексте автореферата не содержатся данные о качественном и количественном составе ионообменных групп КС и степени лигнификации (3 вывод). Каким образом подтверждали принадлежность фенольных ОН-групп к мономерам лигнина? Вывод о том, что основным местом накопления ионов меди является корневая система, представляется широко известным, как и способность аминокислот (особенно гистидина) формировать комплексы с медью (1 вывод). Также довольно общим и очевидным является и вывод о высокой связывающей способности КС растений вики в отношении ионов меди (2 вывод). Высокой по сравнению с чем? Именно ионов меди, или в отношении ионов других металлов? Чем обусловлен выбор растений вики посевной как объекта. Является ли это растение металлофитом? То, что в КС растений присутствует большое количество реакционных групп, в том числе и способных взаимодействовать с ионами металлов, также хорошо известно.

Из текста создается впечатление, что наряду с метилированием гомогалактуронана и лигнификацией к модификациям КС автор относит и усиление ее биосинтеза (3 вывод). Под модификациями КС обычно подразумеваются постсинтетические изменения ее компонентов (в первую очередь полисахаридов), которые, как правило, выражаются в укорочении остова и/или боковых цепей или в добавлении/удалении дополнительных групп. Если все-таки принять биосинтез за «модификации», даже сам факт усиления биосинтеза кажется сомнительным и построен, как следует из автореферата, на увеличении «массовой доли КС в корнях по сравнению с контролем». Однако увеличение массовой доли КС могло произойти за счет подавления биосинтетических процессов других компонентов клетки (например, за счет снижения доли белков), в этом случае увеличение массовой доли КС не будет связано с усилением ее биосинтеза. Кроме того, снижение сухой массы корней может быть связано с подавлением ростовых процессов, что повлечет, скорее, подавление биосинтеза клеточных стенок. Возможно, в

диссертации приводятся иные аргументы в пользу того, что ионы меди в указанных концентрациях способствуют усилению биосинтеза КС, но делать выводы по результатам, представленным в автореферате, считаю некорректным.

И корень, и побег состоят из различных тканей, которые построены из клеток, характеризующихся наличием КС различного состава и строения, поэтому вывод о том, что «клеточные стенки корней и побегов вики посевной характеризуются высоким содержанием карбоксильных групп полигалактуроновой кислоты, что обуславливает их высокую связывающую способность в отношении ионов меди» слишком общий и с таким же успехом может быть экстраполирован на любой вид растения. Также непонятно, почему автор связывает карбоксильные группы только и именно с полигалактуроновой кислотой, полностью игнорируя, например, рамногалактуронаны или клеточно-стеночные белки?

Приведу еще несколько вопросов и замечаний, которые возникли при прочтении автореферата:

1. В автореферате не обосновывается выбор в качестве лигандов именно гистидина и глутамина. Указано лишь то, что органические лиганды влияют на накопление и доступность металлов. Можно было бы представить, что целью исследования было сравнение влияния двух различных лигандов, однако это никак не отражено в выводах работы, хотя есть некоторая информация в результатах и в разделе «Положения, выносимые на защиту».
2. При действии высокой концентрации хлорида меди проводили ли анализ фенотипических изменений корня? Токсическое действие меди может проявляться в разрушении кутикулы корня, подавлении роста, уменьшении пролиферации корневых волосков и т.д., что, отчасти, может объяснить некоторые наблюдаемые эффекты.
3. Следует также отметить, что значительное снижение исследованных показателей, таких как сухая масса корней, содержание воды, при высоких концентрациях хлорида меди может быть связано с присутствием скорее высоких концентраций ионов хлора, чем меди. Какие у автора есть аргументы для того, чтобы говорить именно о действии ионов меди?
4. По утверждению автора, добавление лигандов ограничивает поступление ионов меди в растение вследствие образования комплексов. При этом автор утверждает, что лиганды снижают медь-связывающую способность КС. Каким образом снижается медь-связывающая способность КС корня (и тем более КС побега), если поступление меди ограничено? Может ли автор предположить, за счет каких механизмов это происходит?
5. Какая связь между обнаружением и идентификацией тритерпеновых гликозидов (4 вывод) и темой диссертации «Влияние лигандов на поглощение ионов меди клеточными стенками растений вики (*Vicia sativa* L.)»?

К сожалению, исходя **исключительно из текста автореферата, я не могу дать положительной оценки работе** Никушина Олега Витальевича «Влияние лигандов на поглощение ионов меди клеточными стенками растений вики (*Vicia sativa* L.)».

Ведущий научный сотрудник лаборатории
гликобиологии растений КИББ ФИЦ КазНЦ РАН,
кандидат биологических наук
по специальности 03.01.05 – физиология и биохимия растений
04 апреля 2024 г.

Мокшина Н.Е.

Россия, Республика Татарстан, 420111, г. Казань, ул. Лобачевского 2/31,
тел.: ; e-mail: ;

Казанский институт биохимии и биофизики – обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Казанский научный центр Российской академии наук» (КИББ ФИЦ КазНЦ РАН)