

ОТЗЫВ официального оппонента
на диссертацию на соискание ученой степени
кандидата биологических наук Лобревой Ольги Викторовны
на тему: «ВЕЗИКУЛЯРНЫЙ ТРАНСПОРТ H⁺-АТФАЗЫ Р-ТИПА И
ИОНОВ Na⁺ ПРИ СОЛЕВОМ СТРЕССЕ У *Arabidopsis thaliana* (L.)
Heunh.» по специальности 1.5.21. – «Физиология и биохимия растений»

Солеустойчивость растений и её механизмы традиционно относятся к одним из наиболее «горячих» направлений физиологии растений. С одной стороны, к настоящему моменту накоплен уже довольно значительный объем фундаментальных знаний о механизмах, по которым реализуется как токсичность различных ионов, так и резистентность к ней. С другой стороны, этих знаний пока далеко не достаточно для глубокого понимания этих явлений, даже на максимально изученных модельных организмах, таких как *Arabidopsis thaliana*. Особого внимания в этом контексте заслуживают белки, участвующие в работе везикулярного транспорта — сложного и очень важного процесса, связанного со многими аспектами биологии клетки, включая солеустойчивость и акклимацию к солевому шоку. Следует отметить, что проблема исследования детерминантов солеустойчивости чрезвычайно важна и для прикладных исследований, поскольку от её решения зависит успех выращивания культурных растений на засоленных почвах, а также при поливе солоноватыми водами. Важность этой проблематики неуклонно растет вместе с ростом дефицита пресной воды и площадей сельхозугодий, требующих ирригации. Фундаментальные знания о механизмах солеустойчивости важны и для селекции растений по этому признаку. С учетом сказанного выше тему

диссертационного исследования О.В. Лобревой следует считать весьма актуальной.

Одним из ключевых детерминантов ионного гомеостаза клетки является везикулярный транспорт и, соответственно, эндоцитоз. Считается, что он обеспечивает как транспорт, собственно, ионов (таких как ионы Na^+ , играющих важную роль в развитии солевого шока), так и оперативную «доставку» различных трансмембранных белков, включая H^+ -АТФазы в мембраны, ограничивающие различные компартменты и субкомпартменты клетки. Среди механизмов везикулярного транспорта в растительных клетках одним из наименее изученных остается роль мембранных нанодоменов, формирующихся с участием белка Flot1. Для углубления понимания этих процессов требуется детально изучить физиологические эффекты, связанные с вариацией экспрессии гена *AtFlot1*, кодирующего данный белок. В этой связи положения, выносимые на защиту в представленном на отзыв диссертационном исследовании, представляются вполне обоснованными.

Следует также отметить, что диссертация содержит подробный, отлично структурированный и при этом весьма сфокусированный на теме исследования обзор литературы, во всей полноте раскрывающий современное понимание организации и функционирования механизмов везикулярного транспорта в растительной клетке.

К сильным сторонам исследования относится весьма целостно и сбалансированно выстроенная стратегия исследования. Так, изучение физиологической роли гена *AtFlot1* проводится на целой линейке модельных систем — от клеток и клеточных суспензий до органов и тканей и, в итоге, на целых растениях. Кроме того, наряду с диким типом растений арабидопсиса в исследование вовлекаются и нокаутные по этому гену растения, и мутанты с его повышенной экспрессией. Использованный экспериментальный подход охватывает несколько уровней организации, что позволяет получить максимально полную характеристику исследуемых явлений. Необходимо отметить, что поставленные задачи решаются с использованием широкого

набора современных методов — от количественной ПЦР в реальном времени до конфокальной и электронной микроскопии. Особо следует упомянуть высокое качество полученных электронных микрофотографий, свидетельствующее о достижении диссертантом незаурядного мастерства в работе этим методом. При этом автор грамотно комбинирует результаты, полученные с использованием разных методов для обоснования или опровержения своих рабочих гипотез. Весьма изящно выполнены исследования с флуоресцентными зондами, направленные на выявление корреляции между трафиком эндоцитозных везикул и транспортом ионов Na^+ . Эффектно смотрятся и результаты ингибиторного анализа, позволяющие с уверенностью судить об эндоцитозе как процессе, принимающем участие в формировании солеустойчивости растений.

Результатом хорошо спланированной и тщательно выполненной экспериментальной работы О.В. Лобревой стало получение солидного объема фактических данных, которые были тщательно обработаны с использованием необходимых статистических подходов и представлены на большом числе информативных диаграмм и графиков. В итоге автором были сформулированы выводы, достоверность которых не вызывает сомнений.

Ключевые аспекты научной новизны работы О.В. Лобревой включают приоритетные результаты исследований участия белка мембранных нанодоменов флотиллина1 (Flot1) у *A. thaliana* в везикулярном транспорте H^+ -АТФазы Р-типа. Автором впервые показано, что воздействие хлоридом натрия стимулирует доставку H^+ -АТФазы Р-типа к плазмалемме и активирует экзоцитозный путь, связанный с образованием поздних эндосом. Также впервые было показано, что в условиях солевого стресса Na^+ -гомеостатирование клеток *A. thaliana* обеспечивается с участием транспорта Na^+ эндоцитозными везикулами и опосредованного этим процессом снижением концентрации Na^+ в цитоплазме до нетоксичного уровня.

При этом можно сделать ряд замечаний, касающихся преимущественно оформления диссертации. А именно: большинство схем, представленных в

литературном обзоре, не полностью переведены на русский язык (см., например, рис. 2). Некоторые методические аспекты описаны недостаточно детально, например не указаны каталожный номер и производитель препарата РНКазы (см. раздел 2.3.1). В тексте встречаются орфографические ошибки и неточности. Действительно ли 200 мг растительной ткани растирали в 200 мл лизирующего буфера? Хорошо бы также уточнить, каким именно тканям корня и листа принадлежали клетки, показанные на электронных микрофотографиях.

Также можно было бы рекомендовать автору исследования дополнить использованные методические подходы исследованиями состава и содержания фотосинтетических пигментов (хлорофиллов и каротиноидов), а также функциональных параметров фотосинтеза (например, путем анализа амплитудно-кинетических параметров флуоресценции хлорофилла *a* или РАМ-флуориметрии). Можно думать, что эти методы позволили бы получить дополнительную информацию о статусе экспериментальных растений и об эффектах исследуемых манипуляций (так, на рис. 16 и 17 хорошо видны различия по окраске растений в разных экспериментальных вариантах, что может свидетельствовать о фенотипических проявлениях исследованных мутаций и воздействий не только на уровне морфологии, но и на уровне фотосинтетического аппарата растений).

Вместе с тем, указанные замечания не умаляют значимости диссертационного исследования. Диссертация отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В.Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует специальности 1.5.21. – «Физиология и биохимия растений» (по биологическим наукам), а также критериям, определенным пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В. Ломоносова, а также оформлена согласно требованиям Положения о совете по защите диссертаций на соискание ученой

степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова.

Таким образом, соискатель Лобрева Ольга Викторовна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.21. – «Физиология и биохимия растений».

Официальный оппонент:

доктор биологических наук,
профессор кафедры биоинженерии
биологического факультета
МГУ имени М.В. Ломоносова

СОЛОВЧЕНКО Алексей Евгеньевич

20.01.2025

Контактные данные:

тел.: e-mail:
Специальность, по которой официальным оппонентом
защищена диссертация:
1.5.21 – физиология и биохимия растений

Адрес места работы:

119234, г. Москва, Ленинские Горы, д. 1, стр. 12,
биологический факультет МГУ имени М.В. Ломоносова

Подпись сотрудника
Соловченко А.Е.
Удостоверяю

Ученый секретарь Е.В. Петрова