

Отзыв на автореферат диссертации Федоровой Елены Эриковны «Эндоплазматическая система клеток корневого клубенька бобовых растений в условиях азотфиксирующего симбиоза», представленной на соискание ученой степени доктора биологических наук по научной специальности 1.5.21. – Физиология и биохимия растений

Симбиотическая азотфиксирующая система привлекает пристальное внимание исследователей как важнейший поставщик фиксированного азота в биосферу. Понимание молекулярных механизмов восстановления газообразного азота атмосферы до аммиака ризобиями в ходе симбиоза открывает широкие возможности в управлении этим процессом с целью создания сортов с повышенным уровнем азотфиксации. Многие ключевые вопросы формирования ризобияльной симбиотической системы, начиная с момента инфицирования, и в ходе ее последующих модификаций остаются неразрешенными. Лишь на начальной стадии находятся исследования взаимодействия мембран макро – и микро- партнеров, каждый из которых вносит свой вклад в формирование симбиосом, недостаточно изучены процессы регуляции биогенеза симбиотической системы. Из сказанного выше следует, что цель, поставленная в диссертационной работе Е.Э. Федоровой, – выявление молекулярных механизмов модификаций эндоплазматической системы инфицированной клетки, является актуальной. Используя молекулярно-биологические и иммунологические подходы и методы, трансгенез, разные виды микроскопии, включая электронную и лазерную конфокальную микроскопии, а также рентгеновский микроанализ, Е.Э. Федорова исследовала взаимодействие партнеров, регуляцию транспорта мембранных везикул в клетках клубеньков бобовых растений, инфицированных ризобиями, изучила влияние солевого стресса на симбиосомальную мембрану. Работа выполнена на высоком научно-методическом уровне. Важно, что, исследование проводилось в динамике развития симбиотической системы.

Получены новые данные, значительно расширившие имеющиеся представления о формировании, созревании и старении симбиосом. К существенным достижениям соискателя можно отнести следующие результаты: (1) По распределению мембранных белков-маркеров, специфичных для мембран эндосом, тонопласта и формирующейся симбиосомальной мембраны, продемонстрированы эндоцитозный, экзоцитозный (секреторный) и вакуолярный пути транспорта мембранных везикул в инфицированных клетках клубеньков. (2) Показано, что на начальных этапах взаимодействия макро-симбионта и микро-симбионта происходит репрессия генов, продукты которых маркируют мембранные везикулы для их слияния с тонопластом. В результате этого предотвращается вакуолярная деградация формирующихся симбиосом. Этот процесс сопровождается зашелачиванием вакуолей и потерей ими литических свойств. Биогенез вакуолей подавляется, создавая пространство для пролиферации симбиосом в симпласте инфицированной клетки. (3) В работе четко показано,

что ризобияльная инфекция переориентирует потоки мембранных везикул от вакуоли к симбиотическому интерфейсу. Ключевая роль в этом процессе принадлежит белкам групп VAMP71 и Arp2/3. И те, и другие являются необходимыми компонентами симбиотических отношений. Первые обеспечивают доставку к симбиосомам ферментов, участвующих в модификации клеточной стенки инфекционной нити, вторые вовлечены в изменения актинового цитоскелета. (4) Показана важная роль сенсоров Ca^{2+} , синаптотагминов в перенаправлении потока мембранных везикул к формирующейся симбиосомальной мембране. Поток изменяется в направлении изменения вектора напряжения мембраны-донора, обеспечивая рост мембраны-реципиента. (5) Важным в исследованиях симбиоза бобовых растений с ризобиями является источник мембранного материала для формирования симбиосом. Автору удалось показать существенный вклад эндоплазматического ретикулума (ЭР) клетки растения-хозяина в формирование мембранного интерфейса между партнерами. Была продемонстрирована активация синтеза мембран ЭР в зонах развития симбиоза. (6) Еще одним важным аспектом отношений двух партнеров, рассматриваемых в диссертации, является старение симбиосом, скорость этого процесса определяет продолжительность их функционирования и в целом эффективность симбиоза. Этому вопросу посвящен большой раздел в работе. В качестве инструмента, вызывающего ускоренное старение симбиосом, автором был выбран солевой стресс и вызываемое им нарушение Na^+/K^+ гомеостаза и гомеостаза ряда других ионов. На большом числе генов ионных переносчиков и ионных каналов, вовлеченных в транспорт Na^+ и K^+ , а также, используя рентгеновский микроанализ, автору удалось продемонстрировать NaCl -индуцированное нарушение ионного гомеостаза инфицированных клеток и показать, что эти нарушения связаны с подавлением экспрессии генов ионного транспорта и с вакуолярной деградацией кодируемых белков. Впервые в диссертационной работе рассматривался столь широкий круг процессов, происходящих в инфицированных ризобиями клетках бобовых растений на разных стадиях симбиоза. В результате проведенного исследования выявлены гены, продукты которых оказывают существенное влияние на симбиотические отношения двух партнеров.

Выводы обоснованы и соответствуют полученным автором экспериментальным данным. Диссертационная работа Е.Э. Федоровой является фундаментальным исследованием и вносит существенный вклад в понимание процессов, происходящих в инфицированных ризобиями клетках. Следует отметить также важное прикладное значение диссертационной работы. Полученные на двух видах бобовых растений данные могут быть использованы в генетических манипуляциях, направленных на повышение эффективности симбиоза бобовых растений с ризобиями.

Таким образом, диссертационная работа Елены Эриковны Федоровой «Эндоплазматическая система клеток корневого клубенька бобовых растений в условиях азотфиксирующего симбиоза» соответствует требованиям,

установленным Московским государственным университетом имени М.В. Ломоносова для работ на соискание ученой степени доктора биологических наук. Содержание диссертационной работы соответствует паспорту специальности «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 приложениям № 5, 6 Положения о диссертационном совете Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова.

Я, Балнокин Юрий Владимирович, автор отзыва согласен на включение моих персональных данных в документы, связанные с работой диссертационного совета, и их дальнейшую обработку.

Ведущий научный сотрудник лаборатории транспорта ионов и солеустойчивости Федерального Бюджетного Государственного Учреждения Науки Института физиологии растений имени К.А. Тимирязева Российской Академии Наук, доктор биологических наук по научной специальности 03.00.12 – Физиология растений, профессор

Балнокин Юрий Владимирович

Адрес: 127276, г. Москва, ул. Ботаническая, д. 35,
тел.: ; e-mail:

Подпись Юрия Владимировича Балнокина удостоверяю:

Начальник отдела кадров ИФР РАН

 05.05.2016г.