

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

на диссертацию Ивановой Киры Андреевны на тему:
«Роль низкомолекулярных тиолов в развитии и функционировании эффективных и неэффективных симбиотических клубеньков гороха посевного (*Pisum sativum* L.)»,
представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук
по специальности 1.5.21. - Физиология и биохимия растений.

Диссертационная работа Ивановой К.А. посвящена важной и интересной теме – изучению роли низкомолекулярных тиолов (цистеина и гомоцистеина) в развитии и функционировании симбиотических клубеньков гороха посевного (*Pisum sativum* L.), в том числе различающихся по эффективности. Тема диссертации безусловно является актуальной, поскольку низкомолекулярные тиолы, являясь необходимой составляющей окислительно-восстановительной и антиоксидантной биологических систем, у бобовых растений принимают активное участие как в формировании симбиоза, так и в защите от патогенов, что необходимо для нормального протекания такого важнейшего процесса, как биологическая азотфиксация.

Рассматриваемая диссертация построена по стандартному для кандидатских диссертаций плану. Она включает введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты исследований, заключение, выводы, список литературы и приложение. Достаточно редким является выделение обсуждения в отдельный раздел, отделенный от результатов исследований. Однако поскольку раздел «Результаты исследований» содержит большое количество представленного материала, такое выделение кажется вполне оправданным. Диссертация изложена на 160 страницах, содержит 23 рисунка и 6 таблиц. Список литературы включает 337 наименований, из них 329 – на иностранном языке.

В обзоре литературы диссертант описывает развитие симбиотического клубенька, иммунитет растений с точки зрения контроля иммунного ответа, в том числе двойственную роль Nod-факторов, роль активных форм кислорода. Особое внимание уделено тиоловым трипептидам – глутатиону и гомоглутатиону. С интересом читается обсуждение вопроса о происхождении гена, отвечающего за синтез гомоглутатиона у растений, в частности, времени дупликации гена *GSHS*, которая и привела к появлению гена *hGSHS*. В целом обзор написан очень обстоятельно и показывает хорошее знание диссертантом научной литературы по изучаемой теме.

Раздел «Материалы и методы» также написан очень подробно, подтверждает разнообразие использованных методов и хорошее владение диссертантом современным арсеналом приборов и методик, в том числе методом, дающим очень наглядные результаты – лазерной сканирующей конфокальной микроскопией. Можно отметить, что рисунки, в

которых приведены данные, полученные с помощью данного метода, являются настоящим украшением рассматриваемой диссертации.

В диссертационной работе Ивановой К.А. получен ряд важных результатов, которые можно рассматривать как научную новизну работы. Выявлены новые фенотипические проявления мутаций *sym33-3* и *sym40-1*, связанные с индукцией защитных реакций – отложением суберина в неэффективных клубеньках и усилением экспрессии генов маркеров защитных реакций. Показано, что соотношение цистеина и гомоцистеина в клубеньках *P. sativum* изменяется после выхода бактерий из инфекционных нитей и это необходимое условие для развития эффективного клубенька. Очень важным является установление факта, что в неэффективных клубеньках недостаток тиолов приводит к нарушению развития меристемы, роста инфекционных нитей и деления симбиосом, а в эффективных – к деградации симбиотических структур. Результаты изучения роли цистеина и гомоцистеина в азотфиксирующих клубеньках бобовых имеют и общебиологическое значение, поскольку важнейшая роль тиолов в биологических системах становится все более очевидной. В биохимии даже появился термин «цистеиновый протеом», который описывает состояние цистеинов в различных белках организма. Следует также отметить, что изучение параллелей между симбиозом и патогенезом позволяет выявить механизмы защиты растения, использованные в ходе эволюции для развития симбиотических отношений и функционируют не только у бобовых.

Диссертация Ивановой К.А. имеет и несомненную практическую значимость. Изученное диссертантом регулирование метаболизма тиолов в клубеньках и корнях бобовых растений может быть использовано как для повышения эффективности симбиотической азотфиксации, так и для усиления устойчивости растений к патогенам.

В то же время к рассматриваемой диссертационной работе можно высказать несколько незначительных замечаний и пожеланий.

В диссертации Ивановой К.А. недостаточно внимания уделено такому важнейшему участнику симбиотической азотфиксирующей системы, как леггемоглобин (леггемоглобин - Lb) – симбиотический гемоглобин бобовых. Lb не являлся непосредственным объектом исследований в диссертации, однако его состояние часто используют для характеристики азотфиксирующего симбиоза. Содержание Lb в клубеньках чрезвычайно велико (до 40% от всех растворимых белков инфицированной зоны) и этот показатель, как и окислительно-восстановительное состояние, является важнейшей характеристикой эффективности симбиоза и функционального состояния клубенька. А поскольку в диссертации обсуждается вопрос антиоксидантной защиты в клубеньке, то следует отметить еще один факт. Lb, как и другие гемоглобины, обладает пероксидазной активностью, причем у Lb она

выше, чем у эритроцитарного гемоглобина и миоглобина. В научной литературе обсуждается вопрос о вкладе пероксидазной активности Lb в антиоксидантную защиту. Особенно важным этот вклад может быть в стареющих клубеньках. В то же время это замечание я бы хотел рассматривать как пожелание для будущей работы. Учет упомянутых факторов может существенно расширить взгляд на исследуемые диссертантом вопросы.

Достаточно подробное описание клубеньков мутантных линий *sym40-1* и *sym33-3* (стр. 61-62) не совсем оправданно приведено в пункте 2.1 «Материалов и методов». Оно бы логичнее смотрелось в обзоре литературы или в результатах исследований.

В работе встречаются опечатки и ошибки в пунктуации, а также стилистически неудачные выражения, например «Тиол-дисульфидный статус также участвует в контроле мастер-регулятора NRP1...» (стр. 55).

Однако отмеченные недочеты носят частный характер или являются пожеланиями. Они ни в коей мере не снижают общей положительной оценки диссертации Ивановой К.А.

Использованные в работе современные методы исследований подтверждают высокий научно-методический уровень рассматриваемой диссертации. Результаты, полученные диссертантом, достоверны, сформулированные положения и выводы обоснованы. По материалам диссертации опубликовано 19 работ, в том числе 4 статьи – в журналах из списка, рекомендованного ВАК, и включенных в международную библиографическую и реферативную базу данных «Scopus». Данные, представленные в диссертации, неоднократно докладывались на представительных российских и международных научных конференциях. Опубликованные печатные работы и автореферат правильно отражают содержание рассматриваемой диссертации.

Заключение

Таким образом, можно сделать заключение, что диссертация Ивановой Киры Андреевны на тему: «Роль низкомолекулярных тиолов в развитии и функционировании эффективных и неэффективных симбиотических клубеньков гороха посевного (*Pisum sativum* L.)», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук, является научно-квалификационной работой, в которой решена задача определения выявления роли низкомолекулярных тиолов в развитии и функционировании эффективных и неэффективных симбиотических клубеньков гороха посевного (*Pisum sativum* L.), имеющая важное значение для развития физиологии и биохимии растений.

По актуальности, объёму проведенных исследований, научно-методическому уровню, новизне и практической значимости полученных результатов настоящая работа полностью соответствует критериям п. 9, установленным «Положением о присуждении

