

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор Федерального государственного бюджетного
учреждения науки Института физиологии растений им.
К.А.Тимирязева Российской Академии наук

Член-корреспондент РАН

17 мая 2017г

Кузнецов В.В.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

на диссертационную работу **Мощенской Юлии Леонидовны «Активность сахарозосинтазы в ходе ксилогенеза двух форм *Betula pendula* Roth, различающихся по текстуре древесины»,** представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.05 – физиология и биохимия растений.

Актуальность темы

Основным углеводом, синтезированным в процессе фотосинтеза, является сахароза. Посредством систем ближнего и дальнего транспорта сахароза распространяется по всем органам растения, где является структурной и энергетической основой метаболических процессов в клетках. Однако включиться в метаболизм сахароза может только после расщепления на моносахара с помощью двух ферментов - инвертазы и сахарозосинтазы. Несмотря на то, что физиологическая роль этих ферментов изучалась давно, остается много неясностей относительно их связи с внутриклеточными процессами. Для древесных растений практически отсутствуют сведения даже об активности этих ферментов. Ю.Л. Мощенская изучала роль сахарозосинтазы в образовании структурных элементов ствола у двух форм березы повислой (*Betula pendula*), одна из которых, *Betula pendula* var *carelica*, (карельская береза) обладает аномальным, узорчатым строением древесины. Выяснение процессов, приводящих к отклонениям в формировании древесины, важно для понимания ксилогенеза в норме и патологии. Кроме теоретической актуальности разработки этого вопроса, использование древесины карельской березы в качестве поделочного материала предполагает и практическую ценность данного направления исследований, позволяя обозначить пути повышения декоративности древесины карельской березы.

Новизна исследования, полученных результатов и выводов

Ценность данного исследования обусловлена во многом выбором объекта. Определение активности сахарозосинтазы в тканях флоэмы и ксилемы ствола березы повислой с нормальным строением древесины и сравнение ее с другой формой березы, карельской, характеризующейся аномальным узорчатым строением древесины, проведено впервые. Более высокая активность фермента в тканях ксилемы позволила заключить о непосредственной связи сахарозосинтазы с процессами ксилогенеза. Ценность исследования - в использовании разновозрастных растений, анализируемых в разные

периоды вегетационного развития. Об участии сахарозосинтазы в образовании древесины свидетельствует максимальная активность сахарозосинтазы в период активного камбиального роста. Впервые обнаружена зависимость появления структурных аномалий в древесине карельской березы со значительным снижением активности сахарозосинтазы. Показано, что отличия ферментативной активности в корне и стебле карельской березы проявляются на ранних стадиях развития сеянцев - уже в возрасте 1.5 месяцев. Ценность работы усиливается анализом транскрипции генов *SUS1*, *SUS2*, *SUS3*, также впервые проведенным на деревьях березы повислой. Впервые показано, что более низкая активность сахарозосинтазы в ксилеме и флоэме карельской березы связана с подавлением экспрессии генов *SUS1* и, в меньшей степени, *SUS2*.

Анализ содержания диссертации

Построение диссертации традиционно. Она состоит из следующих разделов: введение, обзор литературы, объекты и методы исследования, результаты, обсуждение, заключение, выводы, список литературы и список сокращений. В работе 108 страниц, 39 рисунков и 2 таблицы. Список литературы включает 200 наименований, в том числе 160 иностранных.

Во **введении** автор обосновал актуальность постановки и состояние разработки проблемы, цель и задачи, а также новизна и значимость исследования. Отдельно обозначены выносимые на защиту положения, места апробации и личный вклад автора. Обстоятельное введение говорит о квалификации диссертанта и умении свободно ориентироваться в различных аспектах проблемы.

Глава 1 содержит **обзор литературы**, посвященный особенностям строения и состава карельской березы по сравнению с обычной березой повислой. В обзоре рассмотрены функции расщепляющих сахарозу ферментов и экспрессия генов, кодирующих сахарозосинтазу. Небольшой раздел посвящен общим вопросам строения клеточных стенок. Хорошо сформулированы основные выводы из обзора литературы, выявляющие перспективу исследования.

Глава 2 - **объекты и методы исследования**, изложены достаточно подробно, позволяя воспроизвести эксперименты. Используются современные методы исследования, включающие биохимические методы анализа ферментативной активности, высокоэффективную жидкостную хроматографию, ПЦР анализ транскрипции генов. Все результаты статистически обработаны.

Глава 3 - **результаты исследования** - логично построена. Проведено сравнение активности СС, содержания Сахаров, крахмала и целлюлозы у растений с неизменной и узорчатой структурой древесины. Глава состоит из четырех разделов.

В первом разделе представлены данные, полученные на молодых, 6-10-летних растениях. Первый существенный вывод - у обоих видов берез активность СС в тканях ксилемы намного превышает активность в тканях флоэмы. Это позволило заключить о наличии прямой связи активности фермента с ксилогенезом. Более высокая активность СС во флоэме карельской березы по сравнению с обычной березой коррелировала со снижением в ней содержания сахарозы. В результате разница в содержании сахарозы

между флоэмой и ксилемой у карельской березы снижена. Поэтому автор полагает снижение потока сахарозы в ткани ксилемы и торможение по сравнению с обычной березой образования в них древесины одновременно с активацией развития флоэмы. Нарушение ксилогенеза в ксилеме карельской березы подтверждается снижением содержания целлюлозы.

Второй раздел посвящен изменениям активности СС в течение вегетационного периода. Убедительно показано, что СС активна в ксилеме практически только при активном оттоке фотосинтатов из листьев, когда стимулирована активность камбия и происходит образование тканей флоэмы и ксилемы, т.е. получено подтверждение связи активности фермента деятельностью камбия, с формированием проводящей системы. Во флоэме невысокая активность СС регистрировалась и в октябре, при торможении физиологических процессов, когда в ксилеме она отсутствовала.

Результаты изучения активности СС на самых ранних этапах развития (1.5- и 5-мес) выделены в третий раздел диссертации. Диссертант впервые показал, что различия в активности СС наблюдаются уже у столь молодых сеянцев.

Наконец, в четвертом оригинальном разделе анализируется экспрессия генов, кодирующих синтез СС. Во всех исследованных образцах ксилемы обнаружены транскрипты генов *SUS1*, *SUS2* и *SUS3*. Впервые показана тесная корреляция между экспрессией гена *SUS1*, синтезом целлюлозы и дифференцировкой волокон и сосудов ксилемы

Теоретическая и практическая значимость работы

Полученные диссертантом данные имеют как фундаментальное, так и прикладное значение. Выявленные корреляционные отношения между активностью СС, накоплением крахмала и целлюлозы углубляют фундаментальные знания о синтезе и дифференциации клеточной стенки растений. Сравнение ситуации при нормальном развитии древесины с аномальными процессами развивает наши представления о возможных причинах атипичного развития древесины и выявляет значение СС в соотношении роста и развития ксилемы и флоэмы, обеспечения их углеводами в соответствии с их акцептирующей способностью. Исследование может быть полезным в разработке путей повышения поделочной стоимости древесины карельской березы. В этом отношении важны полученные диссертантом данные о более низкой активности СС и низкой экспрессией гена *SUS1* в ксилеме карельской березы с узорчатым строением древесины.

Замечания

Значительное внимание автор уделяет отношению содержания фруктозы к глюкозе, признавая его как показатель ростовых процессов. Основываясь на более быстром включении глюкозы в метаболизм, диссертант полагает, что высокое отношение фруктоза/глюкоза свидетельствует о более интенсивных метаболических и ростовых процессах. Однако необходимо учитывать не только расход гексоз, но и соотношение их образования в тканях. В то время как СС образует только фруктозу (помимо УДФГ), основным источником глюкозы является инвертаза, высоко активная в растущих тканях. Поэтому оценка интенсивности ростовых процессов на основе отношения

фруктоза/сахароза невозможна без учета активности инвертазы. К сожалению, автор не привлекает к обсуждению роль инвертаз в развитии аномального строения древесины.

Несмотря на это, авторы сделали интересные предположения о более активной у карельской березы флоэме и преобладающем развитии паренхимы в ксилеме, о переориентации деятельности камбия на формирование ксилемы при нормальном строении древесины к образованию флоэмы при формировании узорчатой древесины. Эти предположения нуждаются в экспериментальном подкреплении.

В заключение желательнее представить схему специфики углеводного метаболизма в древесине карельской березы на основании результатов, полученных диссертантом.

Мелкие погрешности, ошибки и опечатки не могут повлиять на значение исследования.

Заключение

Представленная диссертация Ю.Л. Мощенской содержит большой достоверный экспериментальный материал, имеющий фундаментальное и практическое значение и представляет собой серьезное научное исследование, значимость которого выходит за рамки конкретной темы.

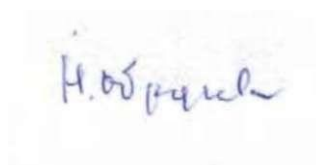
Заключение и выводы работы соответствуют заявленным целям и задачам. Исследования проведены на хорошем методическом уровне.

Работа обсуждена на 12 конференциях, результаты изложены в 4 статьях, опубликованных в рекомендованных ВАК РФ изданиях. Содержание автореферата полностью отражает положения диссертации.

Актуальность исследования, новизна и значимость полученных результатов, логичность и обоснованность выводов позволяют заключить, что диссертация Ю.Л. Мощенской «Активность сахарозосинтазы в ходе ксилогенеза двух форм *Betula pendula* Roth, различающихся по текстуре древесины» соответствует требованиям «Положения о порядке присуждения ученых степеней» ВАК, а её автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.05 - физиология и биохимия растений.

Отзыв обсужден на расширенном семинаре лаборатории сигнальных систем контроля онтогенеза 14 мая 2017 г.

Ведущий научный сотрудник,
доктор биологических наук,
академик РАН



Н.В.Обручева