

## ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

на диссертационную работу СУСЛОВА Максима Алексеевича «Реакция эндоплазматической системы клеток и процесса межклеточного водообмена в растениях на давление», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.02 – биофизика

Все известные формы жизни не могут существовать без воды. Роль воды в организме растений, содержание которой составляет обычно большую часть общей биомассы, весьма многообразна, и можно выделить целый ряд важнейших функций – вода является растворителем и средой для протекания реакций, а также непосредственным их участником, необходима для поддержания правильной конформации макромолекул и надмолекулярных структур, связывает все части организма, образуя непрерывную фазу, является главным компонентом транспортной системы, играет терморегулирующую функцию и др. Вследствие этого, исследование водного обмена является одним из ключевых направлений биофизики и физиологии растений, которое широко представлено на всех крупных конференциях в этой области. Частным, но очень важным и активно изучаемым аспектом водного обмена является транспорт воды в растении.

Представления о дальнем транспорте воды и переносе воды через мембрану клеток растений за длительный период исследований претерпели существенную эволюцию. В качестве основных этапов необходимо отметить формирование представлений о верхнем и нижнем концевых двигателях растений, исследование неспецифической проницаемости липидных мембран для воды, открытие специализированных транспортных белков – аквапоринов, изучение структуры и механизмов функционирования плазмодесм. Особый интерес представляет роль гидравлического континуума растения в передаче сигнала в виде области распространяющегося давления – гидравлической волны. Несмотря на значительный объем знаний, накопленный в данной области, имеется целый ряд нерешенных вопросов. В частности, особый интерес представляет регуляция межклеточного транспорта воды в норме и при действии факторов различной природы.

Диссертационная работа Сулова Максима Алексеевича посвящена изучению влияния давления на межклеточный перенос воды и ультраструктурные изменения клеток корня. Масс-перенос жидкости и его изменения под влиянием давления являются физическими процессами, протекающими в живом организме, что обуславливает полное соответствие диссертационной работы заявленной специальности – 03.01.02-биофизика. Работа выполнена в лаборатории биофизики транспортных процессов Казанского института биохимии и биофизики РАН, для которой проблема транспорта воды в растениях и его исследование методом ЯМР является одним из ключевых направлений на протяжении многих лет. Сохранение научной преемственности подготовило прочную основу для диссертации Сулова М.А. Автор при обсуждении собственных данных опирается на результаты, полученные ранее коллективом лаборатории, что позволяет провести более глубокий анализ и делает работу целостной.

Диссертационная работа структурно построена по традиционному плану и состоит из введения, обзора литературы (глава 1), описания материалов и методов исследования (глава 2), изложения результатов и их обсуждения (глава 3), включающего пять основных подразделов, заключения, выводов и списка цитированной литературы.

Во введении автором убедительно и аргументировано обоснована актуальность проблемы и сформулирован основной вопрос – может ли давление в гидросистеме растения выполнять функции регулятора транспорта воды – ответу, на который посвящена работа.

В главе 1 представлен анализ имеющихся на сегодняшний день данных литературы по теме исследования на основании около 200 источников. Обзор литературы имеет аналитический характер, написан хорошим языком и логично структурирован. Работы, цитирование которых осуществлено в обзоре, опубликованы, преимущественно, в течение последних лет. Это лишний раз подтверждает актуальность темы исследования, выбранной диссертантом.

Глава 2 дает представление о широком наборе методов, использованных при выполнении работы, к которым относятся методика ЯМР, калориметрия, электронная и оптическая микроскопия и др. Отдельно необходимо подчеркнуть участие автора в разработке установки для воздействия давлением на биологические объек-

ты непосредственно во время ЯМР-экспериментов. В разделе имеются незначительные неточности. Так, в автореферате приведено название подраздела «Электронная и конфокальная микроскопия», в то же время работа не содержит результатов, полученных методом конфокальной микроскопии, а в качестве используемого оборудования указан широкопольный оптический микроскоп NU-2. По-видимому, термин «конфокальная» в автореферате применен ошибочно, поскольку в тексте диссертации соответствующий раздел корректно назван «Электронная и световая микроскопия». Некоторые обозначения, использованные в формулах, не расшифрованы.

В главе 3 изложены основные результаты, полученные автором, и проведено их обсуждение. Экспериментальный материал разнообразен и систематизирован. В разделе 3.1 показано, что внешнее давление вызывает обратимое замедление скорости роста растения, а также снижает интенсивность дыхания и тепловыделения, и приводит к структурным изменениям клеток корня. Анализ скорости диффузии воды в растении при действии внешнего давления проведен в разделе 3.2, где исследована роль газовой фазы во влиянии внешнего давления на магнитную релаксацию воды и выявлены особенности диффузионных затуханий намагниченности воды. С этой целью были использованы объекты с различными долями газовой компоненты и различающиеся по наличию плазмодесм, а также выполнены эксперименты по искусственному изменению проницаемости мембраны. В разделах 3.3.-3.4. проанализированы возможные механизмы, лежащие в основе изменения скорости диффузии воды в клетках корня высших растений. Раздел 3.5 посвящен разработке схемы пульсаций тургорного давления на основании данных, полученных в работе.

При написании экспериментального раздела диссертации Суслов М.А. не использовал «описательный подход», а широко привлекал данные литературы для квалифицированной интерпретации полученных результатов. Разработка схемы пульсаций тургорного давления выходит за рамки конкретных задач исследования, что, несомненно, повышает научную ценность диссертационной работы и имеет существенное значение для понимания механизмов водного транспорта в растениях. При этом, выводы диссертации, как и положения, выносимые на защиту, кор-

ректно сформулированы автором исключительно на основании результатов, полученных в работе.

Давая в целом положительную оценку полученным результатам и сделанным выводам, хотел бы остановиться на некоторых моментах, которые мне представляются не вполне убедительными.

1. В качестве одного из механизмов увеличения проницаемости мембраны для воды автор рассматривает ПОЛ. В работе не были выполнены измерения уровня ПОЛ в объектах исследования при использованных внешних давлениях, что позволило бы аргументировано обосновать или опровергнуть высказанное предположение. В то же время не рассмотрены альтернативные варианты увеличения проницаемости мембраны, например, индуцированные повышением давления фазовые переходы (Геннис, 1997). Также не проанализировано возможное изменение водной проницаемости за счет изменения активности аквапоринов, в частности при их кальций-зависимом фосфорилировании (Maurel et al., 1995; Prak et al., 2008). При этом предполагается, что происходит увеличение концентрации внутриклеточного кальция, которое модулирует работу плазмодесм.
2. Почему при стрессовом воздействии (повышение внешнего давления) происходит снижение интенсивности дыхания? Типичной реакцией клеток на действие стрессоров является увеличение интенсивности дыхания (Тарчевский, 2001; Пятыгин и др., 2008 и др.).
3. В работе не проведена оценка корреляции интенсивности дыхания и интенсивности тепловыделения при действии внешнего давления, что затрудняет сопоставление изменения этих параметров. Приведенные данные (рис. 3.1.3 и рис. 3.1.4 диссертации) указывают, что максимальное снижение уровня дыхания имеет место через 2 часа после воздействия, а снижение интенсивности тепловыделения относительно постоянно в диапазоне от 1-го до 3-х часов. Чем обусловлено несогласованное изменение этих показателей?
4. В диссертации приведены различные величины водной проницаемости мембранной системы клеток корня кукурузы. Различия в проницаемости

варьируют более чем на порядок:  $\sim 3 \cdot 10^{-6}$  м/с на рис. 3.3.3 и  $3 \cdot 10^{-5}$  м/с на рис. 3.4.1. Указанный диапазон варьирования величины проницаемости превышает максимальную величину изменения этого параметра под влиянием давления. Характер изменения проницаемости при действии давления, приведенный на указанных рисунках, также различен.

5. Что можно сказать об индукции повышением давления сигналов другой природы, в частности электрических? Из литературы известно (например, Stahlberg, Cosgrove, 1997), что повышение давления может активировать ионные каналы, вызывая тем самым деполяризацию и, возможно, являясь одним из механизмов распространения электрических сигналов. Учитывая значительное влияние электрических сигналов на физиологическое состояние растения (например, Fromm, Lautner, 2007), данный вопрос представляется весьма интересным, в том числе для анализа наблюдаемых изменений метаболизма.

6. В работе присутствует незначительное количество опечаток и неточностей в оформлении списка литературы, ряд используемых сокращений не расшифрованы при первом введении.

Несмотря на высказанные замечания, диссертационная работа М.А. Сулова в целом заслуживает высокой положительной оценки. Критические комментарии вызваны интересом к представленным материалам и предложенным объяснениям. Проведенный автором анализ вносит существенный экспериментальный и теоретический вклад в понимание механизмов регуляции водного транспорта в растениях и роли давления в этом процессе.

Содержание автореферата и сделанных по работе публикаций полностью отражают основные положения диссертации. Заключение и выводы работы соответствуют цели и задачам проводившихся исследований, конкретны, адекватны полученным результатам и не вызывают сомнений. При написании диссертации Сулов М.А. корректно использовал ссылки на литературу при привлечении для обсуждения результатов, полученных другими авторами, а также в тексте диссертации и автореферата указал лиц, совместно с которыми выполнял отдельные этапы работы. Материалы диссертационной работы Сулова М.А. апробированы на ряде кон-

ференций. Полученные в работе результаты могут найти применение в научной работе, а также в лекционных курсах для студентов, обучающихся в университетах по специальностям биофизика и физиология растений.

Актуальность и новизна полученных данных, высокий методический уровень работы, ее теоретическая значимость позволяют сделать заключение о том, что диссертационная работа Сулова Максима Алексеевича «Реакция эндомембранной системы клеток и процесса межклеточного водообмена в растениях на давление» соответствует требованиям ВАК, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, а её автор заслуживает искомой степени по специальности 03.01.02-биофизика.

Воденев Владимир Анатольевич

доктор биологических наук

Заведующий кафедрой биофизики

Нижегородский государственный университет

им. Н.И. Лобачевского

603950, г. Н. Новгород, пр. Гагарина, д. 23, корпус 1

биологический факультет

[v.vodeneev@mail.ru](mailto:v.vodeneev@mail.ru)

+7(831)465-43-90

В.А. Воденев

