

ОТЗЫВ

председателя диссертационного совета на диссертацию
Кузнецовой Ирины Геннадьевны на тему: «Клубеньковые бактерии
реликтовых бобовых растений байкальского региона, их идентификация и
комплементарное взаимодействие при образовании симбиоза»,
представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук
по научной специальности 1.5.11. Микробиология

Представленная к защите диссертация Кузнецовой Ирины Геннадьевны направлена на решение важной проблемы биологии – эволюции формирования бактериально-растительных симбиозов. Возникновение в эволюции симбиотических diaзотрофов и перенос в их клетки компонентов, вовлеченных в азотфиксацию, от свободноживущих diaзотрофов привело к формированию уникальной системы – корневого клубенька, обеспечивающего бобовые растения способностью к фиксации атмосферного азота. Несмотря на то, что способность бобовых растений вступать в симбиоз с различными группами почвенных бактерий была ранее описана, механизмы ризобиальной синергии изучены пока мало. Вместе с тем, анализ комплементарного взаимодействия ризобиальных симбионтов при формировании и функционировании клубеньков важен как для понимания молекулярных механизмов взаимодействия и интеграции между растениями и бактериями, так и для перспектив возможного создания эффективных бактериально-растительных систем. В этой связи особый интерес представляют микросимбионты реликтовых растений как модель эволюционно более ранних взаимоотношений между бактериями и растениями.

Все вышеперечисленное дает основания констатировать несомненную актуальность исследования Кузнецовой И.Г., главной целью которой была комплексная оценка генетического и таксономического разнообразия, а также способности к комплементарному взаимодействию бактерий-симбионтов

представителей реликтовых растений подсемейства Мотыльковые (Papilionoideae Rudd) Байкальского региона.

Новизна исследования состоит в том, что в его рамках впервые был описан новый вид *Phyllobacterium zundukense* (с типовым штаммом Tri48T), выделенный из клубеньков остролодочника трехлисточкового, а также показано комплементарное взаимодействие, при котором таксономически разные микросимбионты в одном клубеньке могут приводить к формированию нового симбиотического фенотипа, отличного от формируемого каждым из штаммов отдельно.

Диссертация состоит из Введения, трех глав, в которых обсуждаются литературные данные, главы, посвященной используемым результатам, и главы, в которой автор излагает полученные им результаты, а также Выводов, Заключение, Списка литературы и двух Приложений.

Введение включает все необходимые пункты, и продолжается Обзором литературы, составляющим половину от общего объема работы. Обзор литературных данных в целом дает представление о проблеме и основных объектах исследования. На взгляд рецензента, упоминая в работе центры генетического разнообразия растений, следовало бы сказать о Николае Ивановиче Вавилове и его теории центров происхождения культурных растений.

Глава Материалы и методы исследования в рецензируемой диссертационной работе имеет важное значение, поскольку наглядно показывает, что автор в ходе работы над диссертацией овладел самыми разнообразными методическими подходами, начиная от рутинных микробиологических методов, до молекулярных подходов, включая секвенирование. Особенно хотелось бы отметить использование полногеномного секвенирования для характеристики 12 штаммов ризобий.

Основной раздел работы, посвященный полученным диссертантом результатам, показывает, что в ходе работы над диссертацией Кузнецовой И.Г. сделано несколько важных наблюдений, касающихся генетического разнообразия ризобий-симбионтов нескольких реликтовых бобовых растений из разных триб (чина низкая, копеечник щетинистый, остролодочник трехлисточковый, остролодочник Попова и астрагал хоринский). Главная часть диссертационной работы представлена описанием результатов экспериментов, изложенных на 43 страницах, из которых 22 страницы занимают графики и таблицы, причем результаты и обсуждение объединены в рассматриваемой работе. С одной стороны, это вполне оправдано, следуя логике изложения и последовательности решения поставленных задач. Однако, с другой стороны, это привело к тому, что автор в основном описывает результаты, и нет углубленного анализа и обобщения полученных результатов.

Особую ценность по мнению рецензента представляет то, что в работе получено дополнительное подтверждение о, по крайней мере, двух-компонентности симбиотических систем реликтовых растений, что создает потенциальную возможность для эффективного обмена генетическим материалом между бактериями, которые совместно обитают в корневых клубеньках.

Завершают экспериментальную часть Выводы, после которых идет раздел Заключение. Хотелось бы отметить, что выводы (которые названы самим автором «полученными результатами» (с. 114) сформулированы не очень удачно и по стилю соответствуют скорее Заключению. В частности в выводах следует избегать описания методов как, например, *«для видового разделения изолятов и референтных штаммов использовали метод ANI, проводили сравнение спектра жирных кислот с референтными штаммами и изучение фенотипических свойств с помощью системы мультисубстратного тестирования GENIII MicroPlate (BioLog)»* (вывод 3) или неопределенности

формулировок, как, например, «сделано предположение» (вывод 5), «вероятно, к новым видам,....» (вывод 2).

Однако в целом достоверность и обоснованность результатов исследований и научных положений, сформулированных автором сомнений не вызывает. Результаты работы опубликованы в шести статьях в научных изданиях, индексируемых в базах данных Web of Science и Scopus, включая статью в таком журнале как *Frontiers in Microbiology* с импакт-фактором 5.2.

У рецензент возник ряд вопросов к работе:

-Автором проделана значительная по объему работа по анализу видового состава микросимбионтов пяти реликтовых бобовых растений. Из какого числа растений были взяты в анализ клубеньки (от 10 клубеньков для копеечника щетинистого до 40 - для остролодочника Попова), приведенные в табл.1., стр. 45-46? И можно ли сказать, от каких факторов зависит выявленный в работе бактериальный состав в клубеньках проанализированных реликтовых растений, например у узколокального эндемика - остролодочника трехлисточкового?

- В работе описан новый вид *Phyllobacterium zundukense*, выделенный автором из клубеньков остролодочника трехлисточкового. Однако в геноме бактерии не выявлено генов *nodABC*, которые кодируют ферменты необходимые для формирования Nod-фактора. В этой связи вопрос: каков возможный механизм проникновения и какова локализация в клубеньках *Phyllobacterium zundukense*? Проверялись ли в экспериментах по совместной инокуляции эффективность проникновения и локализация каких-либо изолированных в работе бактерий, не содержащих *nodABC*, с образующими клубеньки ризобиями?

-Из клубеньков анализируемых реликтовых растений автором выделено значительное число изолятов, принадлежащих к разным родам и семействам. В этой связи возникает вопрос, можно ли утверждать, что все бактерии,

присутствовавшие в клубеньках, действительно являются симбионтами растений и случайно попав в клубеньки не дифференцировались в покоящиеся стадии, например, в персистеры, и т.о. до момента их изоляции и высева находились в «спящем» состоянии и не вступали в какие-либо взаимодействия с другими организмами?

С учетом всего вышесказанного полагаю:

Содержание диссертации Кузнецовой Ирины Геннадьевны на тему: «Клубеньковые бактерии реликтовых бобовых растений байкальского региона, их идентификация и комплементарное взаимодействие при образовании симбиоза» соответствует специальности 1.5.11. Микробиология;

Диссертация является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение научной задачи, имеющей значение для развития микробиологии ризобиальных симбионтов и создания эффективных бактериально-растительных систем.

Нарушений пунктов 9, 11 Порядка присуждения Санкт-Петербургским государственным университетом ученой степени кандидата наук, ученой степени доктора наук соискателем ученой степени мною не установлено.

Диссертация соответствует критериям, которым должны отвечать диссертации на соискание ученой степени кандидата наук, установленным приказом от 19.11.2021 № 11181/1 «О порядке присуждения ученых степеней в Санкт-Петербургском государственном университете» и рекомендована к защите в СПбГУ.

Председатель диссертационного совета,
доктор биологических наук, профессор,
профессор кафедры микробиологии
Санкт-Петербургского государственного университета


Ермилова Е.В.

14.03.2024г.