

ОТЗЫВ

члена диссертационного совета Кильчевского Александра Владимировича, доктора биологических наук, профессора, академика НАН Беларуси 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 специальности 1.5.11 – микробиология.

Симбиотическая азотфиксация является одним из наиболее важных факторов развития систем экологически сбалансированного сельского хозяйства. Бобовые растения, благодаря широкому спектру применения и своим способностям использовать ресурсы симбиотических микроорганизмов, в наибольшей степени соответствуют концепции адаптивного земледелия.

Для изучения эволюционно более ранних растительно-микробных взаимоотношений было предложено использовать в качестве модельных объектов симбиотические системы с участием реликтовых бобовых растений, которые являются промежуточным звеном между исчезнувшими и ныне живущими видами. Получение информации о биоразнообразии штаммов-микросимбионтов реликтовых бобовых растений с использованием современных методов определения таксономических отношений и филогенетического родства микроорганизмов позволяет совершенствовать систематику клубеньковых бактерий и обнаруживать новые виды микроорганизмов, которые могут обладать симбиотическим потенциалом.

Целью диссертационной работы Кузнецовой И.Г. является исследование генетического и таксономического разнообразия микросимбионтов бобовых реликтовых растений Байкальского региона и их способности к комплементарному взаимодействию при образовании многокомпонентного симбиоза. Сформулированные автором задачи в полной мере отражают пути достижения поставленной цели.

Диссертационная работа Кузнецовой И.Г. изложена на 161 странице машинописного текста и содержат 14 таблиц и 21 рисунок и 207 ссылок на использованные источники литературы. Структура диссертации включает введение; два раздела: 1) обзор и анализ научно-технической и патентной информации, 2) научно-экспериментальную часть; заключение и два

приложения. Во введении автором обоснована актуальность проблемы, четко сформулированы цель и задачи исследования. Отражены научная новизна и практическая значимость работы. В первом разделе представлен аналитический обзор литературы данных о роли симбиотических микроорганизмов в жизни растений, приведены основные методы идентификации микроорганизмов и сведения о генетическом разнообразии реликтовых бобовых Байкальского региона и их микросимбионтов. Второй раздел включает описание материалов и методов, используемых в работе, а также результаты исследований генетического разнообразия микросимбионтов реликтовых бобовых растений и комплементарного взаимодействия ризобияльных микросимбионтов при формировании и функционировании симбиоза.

Автором создана коллекция микросимбионтов реликтовых бобовых растений Прибайкальского региона, включающая 195 штаммов. Коллекция депонирована в Ведомственной коллекции полезных микроорганизмов сельскохозяйственного назначения.

Впервые изучено генетическое разнообразие микросимбионтов реликтовых бобовых растений, произрастающих в Байкальском регионе (чина низкая, копеечник щетинистый, остролодочник трехлисточковый, остролодочник Попова, астрагал хоринский).

Описан новый вид *Phyllobacterium zundukense*, выделенный из клубеньков остролодочника трехлисточкового. 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.

Впервые проведено полногеномное исследование 12 штаммов микросимбионтов реликтовых бобовых растений и определены генные системы, ответственные за становление растительно-микробных взаимоотношений.

Впервые описано явление комплементарного взаимодействия, при котором совместная инокуляция растений таксономически различными микросимбионтами, которые занимают одни и те же клубеньки, приводит к симбиотическим фенотипам, отличающимся скоростью образования корневых клубеньков, их количеством, уровнем азотфиксации и/или значением биомассы растений.

Теоретическая значимость работы состоит в том, что получены новые данные об микросимбионтах реликтовых бобовых растений, изучены симбиотические функции микроорганизмов-партнеров и определены роли каждого из них в формировании микробно-растительного симбиоза. Дальнейшие

исследования будут способствовать раскрытию механизмов эффективной интеграции между партнерами и использованию феномена ризобияльной синергии для повышения эффективности биологических систем на основе бобовых растений и их микросимбионтов. Кроме того, учитывая преемственность эволюционного развития всех растительно-микробных взаимодействий, в дальнейшем эти знания могут быть использованы для изучения механизмов интеграции генетических систем не бобовых культур с ризосферными микроорганизмами.

Практическая значимость работы: наиболее удачные комбинации геномов симбиотических ризобий могут быть использованы для направленного конструирования эффективных комплексных микробиологических препаратов с целью дальнейшего применения в сельскохозяйственной практике. Изучение уникального генетического материала депонированной коллекции позволит совершенствовать систематику клубеньковых бактерий, которые являются одной из важнейших и агрономически ценных групп почвенных микроорганизмов.

Научные положения, заключение и выводы вытекают из результатов проведенных исследований, объективны и обоснованы. Данные подкреплены наглядными иллюстрациями и табличными данными. Достоверность результатов работы обеспечивается адекватностью применяемых молекулярно-биологических технологий и методов биоинформатической и статистической обработки данных. По теме диссертационного исследования опубликованы шесть печатных работ соискателя в журналах, индексируемых в международных базах данных Web of Science и Scopus.

Необходимо отметить, что диссертационная работа Кузнецовой И.Г. выполнена на высоком методическом уровне, применены современные технологии молекулярной биологии, обсуждение результатов проведено с использованием данных литературы последних лет. Однако при анализе диссертационной работы возникли следующие вопросы и замечания дискуссионного характера:

1) В таблице 5 (стр.76) отсутствуют данные о сходстве последовательности гена *recA* между штаммами, выделенными из клубеньков *O. трехлисточкового* и типовым штаммом *P. Sophorae* LMG27899T.

2) В части 2.2(стр. 97) указано, что подбор шести пар штаммов для анализа симбиотических генов определялся по локации выделения из одного клубенька и принадлежности к разным бактериальным таксонам, но это не охватывает весь многочисленный пул выделенных штаммов. Возможно, эти избранные штаммы обладали какими-то важными дополнительными характеристиками, которые

можно было бы указать в этой части диссертации.

3) Почему не проводилось полногеномное секвенирование штаммов Tri-36 и Tri-53, отнесенных автором наряду со штаммами Tri-38 и Tri-48 к новому виду *Phyllobacterium zundukense*? Достаточно ли только результатов сравнения спектра жирных кислот с референтными штаммами и изучения фенотипических свойств для отнесения штамма к новому виду?

Высказанные замечания не являются принципиальными, а носят скорее рекомендательный характер для дальнейших исследований автора.

Заключение. Учитывая важность поставленных целей и задач, несомненную научную ценность проведенных исследований и достоверность полученных результатов, диссертация Кузнецовой Ирины Геннадьевны на тему: «Клубеньковые бактерии реликтовых бобовых растений байкальского региона, их идентификация и комплементарное взаимодействие при образовании симбиоза» соответствует основным требованиям, установленным Приказом от 19.11.2021 № 11181/1 «О порядке присуждения ученых степеней в Санкт-Петербургском государственном университете», соискатель Кузнецова Ирина Геннадьевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по научной специальности 1.5.11 – микробиология. Нарушения пунктов 9 и 11 указанного Порядка в диссертации не установлены.

Член диссертационного совета
доктор биологических наук, профессор,
академик НАН Беларуси
Заместитель Председателя
Президиума НАН Беларуси

Кильчевский А.В.

Личную подпись Кильчевского А. В.
(фамилия, инициалы)

удостоверяю:
начальник Главного
управления кадров и кадровой политики
аппарата НАН Беларуси

И. В. Кильчевская
(подпись) (инициалы, фамилия)
21.03 2022