

## ОТЗЫВ

члена диссертационного совета на диссертацию Цыгановой Анны Викторовны  
на тему: «Симбиотический интерфейс в развитии клубеньков Бобовых»,  
представленную на соискание ученой степени доктора биологических наук по  
научной специальности 1.5.21. Физиология и биохимия растений

Диссертация посвящена одному из наиболее важных с практической для сельского хозяйства точки зрения вопросу - растительно-микробным взаимодействиям, в частности формированию микробно-растительных систем (МРС). Несмотря на обширное и глубокое изучение механизмов симбиотического взаимодействия бобовых растений и почвенных бактерий ризобий, таких как сигнальный каскад, активируемый Nod факторами, функционирование транскрипционных сетей, гормональную регуляцию и авторегуляцию развития азотфиксирующих клубеньков, еще недостаточно изучено влияние среды, в которой происходят большинство изучаемых процессов, т.е. симбиотический интерфейс. Детальное понимание молекулярно-генетических и клеточных механизмов развития и модификации симбиотического интерфейса, лежащих в основе формирования симбиосом в растительной клетке, обеспечивающих появление важнейшей для растения адаптации - способности использовать молекулярный азот атмосферы, необходимо для контроля и использования этой способности в сельскохозяйственной практике. Формирование временных органелл сопровождается целым рядом процессов, который включают идентификацию партнеров в весьма густо населенной ризосфере, разграничение симбиотических и паразитических обитателей и т.д. В основе взаимодействия лежат, таким образом, противоположные для растения процессы создания временных органелл, их размещения в клетке с одной стороны и обеспечения биоконтроля развития патогенеза, для которого открываются новые возможности в связи с подавлением иммунных реакций в процессе формирования временных органелл. Изучение способов разрешения этого противоречия является важным, как для фундаментальной биологии, так и для практики сельскохозяйственного производства. Поэтому не вызывает сомнений высокая актуальность представленной диссертации.

Оценивая новизну проведенного исследования, следует отметить следующие ключевые моменты:

Большим достижением явилось всестороннее изучение различных видов пектинов и других полисахаридов в клеточных стенках растительных клеток у бобовых, формирующих разные типы клубеньков. Проведенный иммуноцитохимический анализ диких типов и симбиотически неэффективных мутантов у этих растений позволил выявить видоспецифичность локализации и распределения в клубеньках низко метилэтерифицированного и связанного с  $\text{Ca}^{2+}$  гомогалактуронана, боковых цепей рамногалактуронана I.

Интересными представляются результаты по выявлению зависимости наличия и локализации арабинановых эпигенетиков от степени зрелости симбиосомной мембраны и видоспецифичности молекулярных маркеров ее созревания у гороха, козлятника и сои. Эти данные показали возможности влияния симбиотических генов на важнейшие процессы образования симбиотического аппарата.

Исследования неэффективного симбиоза позволили выявить строгий контроль со стороны растения за развитием инфекции и способность воспринимать ризобии в качестве патогенов. Особенно интересным проявлением иммунного ответа у неэффективного

мутанта гороха SGEFix<sup>-</sup>2 по гену *Sym33-3* было формирование клеточной стенки в вакуоли, явление, крайне редко встречающееся среди растений. Логично предположить, что важной функцией симбиотического гена *CYCLOPS (IPD3)* является подавление защитной реакции.

Автору удалось связать поведение эпитопов арабиногалактанпротеин-экстенсивов с особенностями мутантов по гену *sym40* и *sym33-3*, которые, вероятно, действуют комплементарно. Однако были получены данные и о том, что эти два гена могут работать и в ином порядке. Интересно отметить, что в исследованиях института, где работает докторант, были получены данные о том, что одни и те же гены, работающие в разных генетических программах, могут различаться по порядку своего действия. В данном случае это положение подтверждилось при анализе гликопротеиновых компонентов. Вообще, данный подход выглядит многообещающим, в частности он может расшифровать механизм запирания бактерий в инфекционных нитях, что является одной из сторон проявления защитного ответа.

В диссертации рассматриваются также аспекты формирования стресса на патогенез при участии перекиси водорода, антиоксидантов и фитогормонов. В частности, было показано, что глутатион является важным маркером состояния клубенька, накапливаясь при его формировании и исчезая при старении.

Диссертация Цыгановой А.В. является цельной научной работой с четко поставленными целью и задачами. Основные положения диссертации и выводы, основываются на значительном объеме проведенных молекулярно-генетических и морфологических исследований, результаты которых опубликованы в ведущих российских и высокорейтинговых международных изданиях, что подтверждает их достоверность (представлен список 25 работ, опубликованных по теме диссертации). Материал изложен последовательно, снабжен информативными иллюстрациями. Выносимые на защиту положения диссертации достаточно подробно обсуждены в публикациях, а также на международных и российских конференциях. Таким образом, степень обоснованности положений и заключения, сформулированных в диссертации, не вызывают сомнений.

В качестве фундаментального аспекта работы следует указать то, что экспериментальный материал, накопленный докторантом, является важным вкладом в понимание тонких процессов формирования симбиотического аппарата, встраивания бактериальной составляющей в общий «концерт» (это вполне устоявшийся в литературе термин) интеграции процессов про- и эукариот. Реализация прикладного аспекта связана с тем, что общие и видоспецифичные признаки модификации симбиотического интерфейса бобовых растений, как при росте инфекционной нити, так и при формировании симбиосом могут быть использованы как для повышения эффективности симбиотической азотфиксации, так и для усиления устойчивости растений к патогенам.

При знакомстве с работой возникли следующие вопросы и комментарии:

- 1) В какой мере выявление локализации эпитопа деэтерифицированного гомогалактуронана (LIM5-маркер) является причиной, а не следствием неэффективного симбиоза.
- 2) В качестве пожелания можно отметить чрезвычайно осторожную интерпретацию полученных данных. Это, в общем положительное свойство при интерпретации полученных данных. Хотелось бы, чтобы этот недостаток был преодолен в дальнейшей работе, которая несомненно приведет к новым интересным результатам.

Таким образом, диссертация Цыгановой Анны Викторовны на тему: «Симбиотический интерфейс в развитии клубеньков Бобовых» соответствует основным требованиям, установленным Приказом от 19.11.2021 № 11181/1 «О порядке присуждения ученых степеней в Санкт-Петербургском государственном университете», соискатель Цыганова Анна Викторовна заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по научной специальности 1.5.21. Физиология и биохимия растений. Пункты 9 и 11 указанного Порядка диссертантом не нарушены.

Член диссертационного совета

Профессор кафедры генетики и биотехнологии биологического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования Санкт-Петербургского государственного университета, доктор биологических наук, специальность 03.00.15 — Генетика.

20.11.2024 г.

  
Лутова Людмила Алексеевна

Россия,  
196606, г. Санкт-Петербург, Пушкин, ул. Пихтовая, д. 5,  
тел.: +7 (921) 6575644; e-mail: la.lutova@gmail.com  
Санкт-Петербургский государственный университет; <https://spbu.ru/>

Подпись Лутовой Л.А. заверяю:

