

ОТЗЫВ

председателя диссертационного совета СПбГУ 01.5.21.24.11350, утвержденного приказом No 11350/1 от 15.08.2024, на диссертацию ЦЫГАНОВОЙ Анны Викторовны на тему: «Симбиотический интерфейс в развитии клубеньков Бобовых», представленную на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.21– Физиология и биохимия растений.

Актуальность темы исследования. Основная масса азота, содержащегося в живых организмах, своим происхождением обязана деятельности уникальной группы микроорганизмов, которые ассимилируют молекулярный азот атмосферы, восстанавливая его до аммиака. Некоторые виды растений и папоротники в ходе эволюции приобрели способность к формированию симбиотических отношений с рядом бактерий-азотфиксаторов, образующих клубеньки на корнях бобовых растений, а также некоторыми актиномицетами и цианобактериями.

Наиболее важную роль при формировании такого симбиоза играют процессы *распознавания в системе свой-чужой*, т.е. синтез и рецепция специфических сигнальных молекул, которые продуцируются бактериальным и растительным партнерами. Симбиотические взаимодействия, при которых происходит обмен информацией между растением и микроорганизмами функционирует благодаря обширной контактной поверхности между растением-хозяином и симбионтом — т. наз. *симбиотическому интерфейсу*. Эффективность таких взаимодействий зависит от специфичности гликопротеинов, связанных с симбиосомными и растительными мембранами, Ca²⁺-сенсоров синаптоагминов, а также полисахаридного состава клеточных стенок растения, прежде всего, пектиновых соединений и гемицеллюлоз.

Цель и задачи. Диссертация А.В. Цыгановой посвящена выявлению основных принципов, которые определяют специфичность бобово-ризобияльного симбиоза (интерфейса), а также выяснению мутуалистических механизмов взаимодействия между бактериями и бобовыми растениями в ходе формирования симбиоза.

Основные научные результаты. С помощью методов иммуноцитохимии А.В. Цыгановой проведен детальный анализ динамики пектинов, арабиногалактановых белков и экстенсинов в процессе формирования клубеньков бобовых растений. Изучена роль активных форм кислорода, антиоксидантов и ряда фитогормонов в развитии азотфиксирующих клубеньков гороха.

Установлено, что процесс формирования симбиотического клубенька сопровождается значительными модификациями бобово-ризобияльного интерфейса: изменяется степень метилирования гомогалактуронанов и состава гемицеллюлоз, модифицируются боковые цепи и остов рамногалактуронанов I клеточной стенки растений.

Изучены модификации симбиотического интерфейса у симбиотически неэффективных мутантов растений. Установлено, что неэффективность симбиоза, обусловленная мутациями в генах *PsSym33* и *Pssym42*, связана с защитными реакциями, направленными на изоляцию микросимбионта в инфекционных нитях и/или инфицированных клетках и развитием преждевременного старения клубенька.

Установлено, что пероксид водорода вовлечен в повышение жесткости стенки инфекционной нити в ходе ее роста в клубеньках *P. sativum*, а при неэффективном взаимодействии – в развитии окислительного стресса.

Выявлены новые маркеры дифференцировки симбиосом в клубеньках *P. sativum*, *M. truncatula*, *G. orientalis* и *G. max*. Показано, что маркерами дифференцировки в ювенильных и малодифференцированных симбиосомах могут служить арабинаны а в зрелых симбиосомах – арабиногалактановые белки с гликозилфосфатидилинозитоловым якорем.

Предложена новая модель функционирования инфекционной нити в недетерминированных клубеньках бобовых растений.

Научная новизна исследования. А.В. Цыгановой впервые проведен комплексный анализ компонентов симбиотического интерфейса в азотфиксирующих клубеньках нескольких видов бобовых растений, формирующих клубеньки разных типов. Впервые изучена динамика пектинов, арабиногалактановых белков и экстензинов в процессе развития клубеньков с использованием широкого набора симбиотических мутантов.

Установлено, что в процессе формирования клубеньков наблюдаются значительные модификации интерфейса, которые различаются в клубеньках детерминированного и недетерминированного типов. К особенностям симбиотического интерфейса *детерминированных* клубеньков (на примере *Glycine max*) относится присутствие галактановой боковой цепи у рамногалактуронана I в клеточных стенках неинфицированных клеток и преимущественное накопление фукозилированного ксилоглюкана в клеточных стенках инфекционных нитей. Симбиотический интерфейс клубеньков *недетерминированного* типа отличается наличием линейной галактановой боковой цепи рамногалактуронана I в стенках инфекционных нитей у *P. sativum*, *Galega orientalis* и *Vavilovia formosa*.

Предложены новые маркеры дифференцировки симбиосом в клубеньках *P. sativum*, *M. truncatula*, *G. orientalis* и *G. max*. Установлено, что маркерами ювенильных и малодифференцированных симбиосом могут служить арабинаны а зрелых симбиосом – арабиногалактановые белки с гликозилфосфатидилинозитоловым якорем.

Впервые установлена роль пероксида водорода в регуляции развития азотфиксирующих клубеньков.

Значимость для науки и практики полученных автором. Перспективным направлением современного экологического земледелия является использование симбиотических ассоциаций бобовых сельскохозяйственных культур с ризобиями. А.В. Цыгановой впервые выявлены общие принципы и видоспецифичность модификаций симбиотического интерфейса в процессах роста инфекционной нити и формировании симбиосом. Изучены механизмы формирования защитного ответа при неэффективном симбиотическом взаимодействии. Предложена модель функционирования инфекционной нити в зрелом клубеньке, которая может использоваться не только для анализа механизмов формирования бобово-ризобиального симбиоза, но также для создания симбиотических ассоциаций у небобовых растений. Представленные в диссертационной работе результаты и выводы расширяют представления о механизмах эволюции бобово-ризобиального симбиоза.

Диссертация А.В. Цыгановой является научно-квалификационной работой, в которой разработаны теоретические положения, совокупность которых можно квалифицировать как научное достижение, которое имеет важное хозяйственное значение, поскольку имеет отношение к обеспечению продовольственной безопасности страны.

Степень обоснованности научных положений и выводов. Диссертация Цыгановой А.В. является цельной научной работой, положения диссертации и выводы, основываются на значительном объеме проведенных физиолого-биохимических, молекулярно-генетических и электронно-микроскопических исследований, результаты которых опубликованы в рейтинговых российских и международных изданиях. Положения диссертации, выносимые на защиту подробно обсуждены в публикациях, а также на международных и российских конференциях. Поэтому обоснованность положений и выводов, сформулированных в диссертации, не вызывают сомнений.

Вопросы:

1. Симбиотический интерфейс — это область (граница) взаимодействия двух субъектов. В работе А.В. Цыгановой анализировалась, в основном, роль полисахаридов *растительной* клеточной стенки в специфичности бобово-ризобиального симбиоза. А что известно о том, как *ризобии* распознают своего растения-хозяина?
2. Хорошо известно, что Са-сигнальная система включается на самых ранних этапах взаимодействия ризобий с корневыми волосками клубеньковых бактерий. Са-осцилляции

регистрируются уже через минуты и продолжаются несколько часов после взаимодействия бактерий с корневым волоском. Какую роль играет Са-сигнальная система в специфичности и регуляции бобово-ризобиального симбиоза?

Заключение.

Диссертационная работа 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», а соискатель Цыганова Анна Викторовна заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности специальность 1.5.21 – физиология и биохимия растений. Пункты 9 и 11 указанного Порядка диссертантом не нарушены.

Председатель диссертационного совета —

профессор, исполняющий обязанности заведующего кафедрой физиологии и биохимии растений биологического факультета Санкт-Петербургского государственного университета, доктор биологических наук, специальность 1.5.21 – физиология и биохимия растений.

17.11. 2024 г.



Медведев Сергей Семенович