

Сведения о результатах публичной защиты

Ахтямова Зарина Асхатовна

Диссертация «Влияние ризосферных бактерий на содержание гормонов, рост и водный обмен растений пшеницы и ячменя в оптимальных условиях и на фоне засоления»

Зам. Председателя д.б.н. Цыганов Виктор Евгеньевич

Присутствовали: д.б.н. Лянгузова Ирина Владимировна (ученый секретарь);

д.б.н. Горшков В. В. (удал.), к.б.н. Демченко К. Н., д.б.н. Ивченко Т. Г., д.б.н. Казнина Н. М. (удал.), д.б.н. Крышень А. М. (удал.), д.б.н. Медведев С. С., д.б.н. Новожилов Ю. К. (удал.), д.б.н. Потемкин А. Д. (удал.), д.б.н. Родионов А. В., д.б.н. Сафронова И. Н., д.б.н. Тарасова В. Н. (удал.), д.б.н. Холод С. С., д.б.н. Шереметьев С. Н. (удал.), д.б.н. Шишова М.Ф. (удал.), д.б.н. Шнеер В.С.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 24.1.002.02,
СОЗДАННОГО НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО
БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ БОТАНИЧЕСКОГО ИНСТИТУТА
ИМ. В.Л. КОМАРОВА РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК, ПО
ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА
НАУК

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 2 февраля 2023 г. № 162

О присуждении Ахтямовой Зарине Асхатовне, гражданке Российской Федерации, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Влияние ризосферных бактерий на содержание гормонов, рост и водный обмен растений пшеницы и ячменя в оптимальных условиях и на фоне засоления» по специальности 1.5.21. Физиология и биохимия растений принята к защите 20 ноября 2022 г. (протокол заседания №160) диссертационным советом 24.1.002.02, созданным на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Ботанического

института им. В.Л. Комарова Российской академии наук, 197376, г. Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, дом 2, приказ Рособнадзора № 737-465 от 04.04.2008 с внесенными изменениями, утвержденными приказами: приказ Рособнадзора № 426-214 от 15.03.2010, приказы Минобрнауки России № 194/нк от 22.04.2013, № 153/нк от 15.02.2016, № 403/нк от 10.05.2017; № 409/нк от 12.04.2018, № 175/нк от 02.10.18, № 335/нк от 18.04.2019, № 661/нк от 30.10.2020, № 561/нк от 03.06.2021, № 458/нк от 07.06.2021, № 573/нк от 09.06.2021, № 1162/нк от 12.10.2022.

Соискатель Ахтямова Зарина Асхатовна, 1 мая 1994 года рождения. В 2016 г. окончила бакалавриат по направлению «Биология» в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Башкирский государственный педагогический университет им. М. Акмуллы». В 2018 г. окончила магистратуру по направлению «Биология» в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Башкирский государственный университет». В 2022 г. окончила очную аспирантуру Уфимского Института биологии — обособленного структурного подразделения Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук по направлению подготовки 06.06.01 Биологические науки.

Справка об обучении в аспирантуре со сведениями о сдаче кандидатских экзаменов выдана в 2022 г. Федеральным государственным бюджетным научным учреждением Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук.

Работает младшим научным сотрудником в Уфимском Институте биологии — обособленном структурном подразделении Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук.

Диссертация выполнена в лаборатории физиологии растений Уфимского Института биологии — обособленного структурного подразделения Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук.

Научный руководитель – доктор биологических наук Веселов Дмитрий Станиславович, Уфимский Институт биологии — обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, и. о. директора.

Официальные оппоненты:

Белимов Андрей Алексеевич – доктор биологических наук, Федеральное

государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии», заведующий лабораторией ризосферной микрофлоры;

Воденеев Владимир Анатольевич – доктор биологических наук, Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского», заведующий кафедры биофизики дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова», г. Москва, в своем положительном отзыве, подписанном **Бибиковой Татьяной Николаевной**, кандидатом биологических наук, старшим научным сотрудником кафедры физиологии растений и **Носовым Александром Михайловичем**, доктором биологических наук, профессором, заведующим кафедрой физиологии растений, указала, что диссертационная работа «Влияние ризосферных бактерий на содержание гормонов, рост и водный обмен растений пшеницы и ячменя в оптимальных условиях и на фоне засоления» представляет собой законченное исследование, содержит новые научные данные и аргументированные выводы. Поставленные цели и задачи выполнены, а исследование представляет, как теоретический, так и практический интерес. Представленная диссертация соответствует требованиям, изложенным в пп. 9–14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 года (№ 842), а её автор, Ахтямова Зарина Асхатовна, заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.21. «Физиология и биохимия растений».

Соискатель имеет 24 опубликованные работы, в том числе по теме диссертации опубликовано 7 работ, из них в рецензируемых научных изданиях опубликовано 3 статьи, из них 2 – в изданиях, индексируемых в базах данных Web of Science.

Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:

1. **Ахтямова З.А.**, Архипова Т.Н., Мартыненко Е.В., Нужная Т.В., Иванов Р.С., Кузьмина Л.Ю. Влияние штамма *Bacillus subtilis* на содержание абсцизовой кислоты у дефицитного по этому гормону мутанта ячменя и растений его родительского сорта // Таврический вестник аграрной науки. 2021. Т. 2. № 26. С. 28-40.
2. **Akhtyamova Z.A.**, Arkhipova T.N., Martynenko E.V., Nuzhnaya T.V., Kuzmina L.Yu., Kudoyarova G.R., Veselov D.S. Growth-Promoting Effect of Rhizobacterium (*Bacillus*

subtilis IB-22) in Salt-Stressed Barley Depends on Abscisic Acid Accumulation in the Roots // International Journal of Molecular Sciences. 2021. V. 22(19). P. 10680.

3. Martynenko E., Arkhipova T., Safronova V., Seldimirova O., Galin I., **Akhtyamova Z.**, Veselov D., Ivanov R., Kudoyarova G. Effects of Phytohormone-Producing Rhizobacteria on Casparian Band Formation, Ion Homeostasis and Salt Tolerance of Durum Wheat // Biomolecules. 2022. V. 12. № 2. P. 230.

В диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных соискателем ученой степени работах, в которых изложены основные научные результаты диссертации.

На диссертацию и автореферат поступило 6 отзывов от:

1. **Ткаченко Оксаны Викторовны** – кандидата сельскохозяйственных наук, доцента кафедры «Растениеводство, селекция и генетика» Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии имени Н.И. Вавилова».

2. **Евсеевой Нины Васильевны** – кандидата биологических наук, старшего научного сотрудника лаборатории иммунохимии Института биохимии и физиологии растений и микроорганизмов – обособленного структурного подразделения Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра «Саратовский научный центр Российской академии наук».

3. **Платонова Андрея Викторовича** – кандидата биологических наук, доцента Федерального казенного образовательного учреждения высшего образования «Вологодский институт права и экономики Федеральной службы исполнения наказаний» (ВИПЭ ФСИН России).

4. **Лысенко Евгения Анатольевича** – кандидата биологических наук, старшего научного сотрудника лаборатории экспрессии генома растений Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института физиологии растений им К.А. Тимирязева Российской академии наук.

5. **Цыгановой Анны Викторовны** – кандидата биологических наук, ведущего научного сотрудника лаборатории молекулярной и клеточной биологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Всероссийского научно-исследовательского института сельскохозяйственной микробиологии».

6. **Яруллиной Любови Георгиевны** – доктора биологических наук, ведущего научного сотрудника лаборатории биохимии иммунитета растений Института биохимии и

генетики – обособленного структурного подразделения Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук.

Все отзывы положительные. В отзывах отмечено, что диссертационная работа является комплексным, системным и актуальным исследованием, отличается структурным единством и системностью подходов, четкостью и логичностью изложения. Цели и задачи исследования выполнены полностью. Работа имеет большую теоретическую и практическую значимость.

В ряде отзывов имеются замечания, вопросы и комментарии.

Платонову Андрею Викторовичу хочется услышать мнение автора по поводу перспектив применения полученных научных данных в практике сельскохозяйственного производства.

Лысенко Евгения Анатольевич отмечает, что в тексте автореферата автор сообщает об обнаружении 20 нг/мл АБК в культуральной среде *Bacillus subtilis* IB-22, но не сообщает о возможных контролях.

У **Цыгановой Анны Викторовны** возник вопрос, почему автор не провел отдельную локализацию этих макромолекул, используя для этого дифференциальную окраску. Известно, что аккумуляция суберина при растительно-микробном взаимодействии служит отражением защитных реакций, направленных на изоляцию внутренних тканей растения от бактериальных агентов.

Яруллина Любовь Георгиевна отмечает, что автору следует внимательнее относиться к оформлению работы. Так, непонятно, что обозначают прописные буквы А, Б на рисунках.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается тем, что **Белимов Андрей Алексеевич** является крупным специалистом, имеющим публикации в области почвенной микробиологии, физиологии растений, устойчивости растений и микроорганизмов к биотическим и абиотическим стрессовым факторам. **Воденев Владимир Анатольевич** – известный специалист-биофизик, имеющий публикации в области биофизики, физиологии растений и молекулярной биологии. **Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова»** известно своими достижениями в области физиологии и биохимии основного обмена растений, физиологических ответов растений на экстремальные условия минерального питания и системах реализации онтогенетических программ при развитии растений, что позволяет

ведущей организации определить научную и практическую значимость диссертации.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований изучено влияние ризосферных бактерий на содержание цитокининов, ауксина и абсцизовой кислоты в растениях в оптимальных условиях и на фоне засоления, как благодаря способности к их биосинтезу, так и за счет влияния на уровень транскрипции генов, контролирующих метаболизм гормонов, что показано на примере абсцизовой кислоты; предложен способ оценки вклада ризосферных бактерий в формирование апопластных барьеров для повышения солеустойчивости растений; доказана способность бактерий штамма *Bacillus subtilis* IB-22 снижать уровень индуцированного стрессом накопления абсцизовой кислоты в побегах растений ячменя (*Hordeum vulgare* L.), при этом повышая уровень данного гормона в корнях, что связано с поддержанием оводненности растений при засолении. Обнаружено, что влияние штамма *Pseudomonas mandelii* IB-K14 на формирование апопластных барьеров в корнях растений твердой пшеницы (*Triticum durum* Desf.) сопровождалось и, очевидно, было причиной пониженного накопления токсичных ионов натрия при засолении; предположены новые механизмы влияния ризосферных бактерий на гормональный баланс однодольных растений.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что: доказаны положения, вносящие вклад в существующие представления о механизмах действия ризосферных бактерий на растения в оптимальных условиях и на фоне засоления; применительно к проблематике диссертации результативно использованы современные методы иммунохимии, микроскопии, оптимально подобранные для решения поставленных задач; изложены положения о влиянии бактерий на показатели водного обмена, являющегося фактором, определяющим эффект стимуляции роста растений под влиянием бактерий; раскрыты механизмы повышения солеустойчивости растений под влиянием бактерий за счет стимуляции бактериями формирования апопластных барьеров; изучена связь формирования апопластных барьеров с регуляцией ионного гомеостаза; проведена модернизация подходов к поиску потенциальных штаммов полезных ризосферных бактерий для применения в сельском хозяйстве на основе анализа их влияния на распределение абсцизовой кислоты между побегом и корнем растений.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что: определены особенности ростовой и гормональной реакций растений, оценка которых позволяет оптимизировать биотехнологию применения продуцирующих гормоны ризосферных бактерий для повышения солеустойчивости растений; созданы теоретические предпосылки для разработки новых подходов к

повышению солеустойчивости растений; представлен способ отбора штаммов ризобактерий, перспективных для повышения солеустойчивости растений с помощью простого метода окрашивания препаратом берберина приготовленных вручную срезов корней растений, обработанных бактериями.

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

для экспериментальных работ использовалось сертифицированное оборудование, подтверждающее воспроизводимость результатов исследования в различных условиях; теория основана на проверяемых данных и согласуется с опубликованными данными по теме диссертации. Положения, выносимые на защиту, выводы и практические рекомендации хорошо аргументированы, полностью отвечают поставленной цели и задачам; идея базируется на обобщении имеющихся литературных сведений и результатов собственных исследований; использовано сравнение авторских данных о продуцируемых бактериями гормонах и механизмах солеустойчивости растений и данных, полученных ранее по рассматриваемой тематике; установлено качественное совпадение авторских результатов о поддержании ионного гомеостаза цитокининами при солевом стрессе, что согласуется с результатами, представленными в мировой литературе.

Личный вклад соискателя состоит в анализе литературного материала по тематике исследований, планировании и проведении экспериментальной работы, в статистической обработке, анализе, обобщении и интерпретации полученных данных, а также в написании статей, опубликованных по теме диссертационной работы, и представлении результатов на научных конференциях. Диссертация написана автором самостоятельно.

В ходе защиты диссертации были высказаны следующие критические замечания. Некорректно применен термин «скорость». Скорость в данной работе не изучалась. Можно говорить только о тех или иных суммарных повышениях концентрации суберинов. Имеется ряд вопросов в методологическом плане. В частности, для идентификации лигнина и суберина целесообразнее использование специфических красителей и для определения фитогормонов имеются более новые методы, позволяющие оценить их видоспецифичное содержание в тех или иных формах. Все высказанные замечания носили рекомендательный характер.

Соискатель Ахтямова З.А. ответила на задаваемые ей в ходе заседания вопросы и привела собственную аргументацию.

Вопрос д.б.н. Медведева С.С. Мутант по какому элементу синтеза АБК использовали?

Ответ: Мы использовали мутант по молибденовому кофактору.

Вопрос д.б.н. Медведева С.С. Должна ли быть разница в содержании ауксинов в корнях и наземной части?

Ответ: Ауксинов больше в побеге.

Вопрос д.б.н. Медведева С.С. В корнях ауксинов должно быть на два на три порядка меньше, чем в наземной части. Тогда почему у Вас не сильно отличается содержание ИУК в корнях и побегах?

Ответ: Потому что бактерии стимулировали синтез ауксина в корнях.

Вопрос д.б.н. Медведева С.С. А как будет действовать ауксин, если будет накапливаться в корнях?

Ответ: При излишней концентрации он будет вызывать торможение роста корней.

Вопрос д.б.н. Медведева С.С. Вы считаете, что ризосферные бактерии оказывают влияние на содержание всех гормонов: 1. Сами синтезируют эти гормоны, выделяют в среду, а дальше эти гормоны из среды растением поглощаются и накапливаются. 2. Действуют на синтез гормонов. Действие на синтез Вы показали только по одному гормону, АБК, а вывод делаете еще и по цитокининам и ауксинам. Почему?

Ответ: Правильно было говорить только об АБК. Насчет остальных гормонов мы можем только предполагать.

Вопрос д.б.н. Медведева С.С. Как Вы доказываете, что те гормоны, которые выделяют бактерии, способствуют изменению уровня гормонов в растении?

Ответ: Поскольку нам известен уровень гормонов до обработки бактериями и нет другого дополнительного фактора, кроме обработки, способствующего увеличению гормонов не было, мы можем это предположить.

Вопрос д.б.н. Медведева С.С. Не могут ли бактерии каким-то другим способом активировать гормональный обмен? Другими соединениями, которые бактерии выделяют. А гормоны, которые они выделяют, могут просто разрушиться.

Ответ: Мы, к сожалению, не рассматривали другие вещества, которые могли бы повлиять на количество гормонов, но не исключаем вероятность того, что они были.

Вопрос д.б.н. Медведева С.С. Вы говорите, что у вас два микроорганизма: *Bacillus subtilis* и *Pseudomonas mandelii*. И Вы говорите, что один из них выделяет цитокинины (*Bacillus subtilis*), а про *Pseudomonas mandelii* Вы говорите, что ауксины. В статье Egamberdieva, 2017 года есть таблица и в этой таблице есть 7 случаев, когда бациллы синтезируют ауксины. Почему у Вас *B. subtilis* не синтезирует ауксины?

Ответ: На самом деле у нас есть данные по поводу бацилл, что они также могут синтезировать ауксины. Но это количество значительно меньше продуцируемых ими

цитокининов. Цитокинины они продуцируют в районе 720 нг/мл, а ауксины около 20 нг/мл.

Вопрос к.б.н. Демченко К.Н. Вернёмся к вашему седьмому слайду. Что означает $n=6$?

Ответ: Биологическая повторность эксперимента.

Вопрос к.б.н. Демченко К.Н. Сколько всего у Вас было растений в контрольной группе?

Ответ: Сто. Но для отдельного эксперимента использовали не все из них.

Вопрос к.б.н. Демченко К.Н. Вы регулярно используете термин «обработка бактериями», что Вы в это вкладываете?

Ответ: Обработку бактериальной суспензией, которая содержит культуральную жидкость и клетки.

Вопрос к.б.н. Демченко К.Н. Какой англоязычный термин слов «бактериальная обработка» Вы используете?

Ответ: Inoculation – инокуляция. Реже treatment.

Вопрос к.б.н. Демченко К.Н. В конце Вашего автореферата Вы делаете выводы, что в отличие от работы Porcel, в которой было зарегистрировано отсутствие рост-стимулирующего действия, у Вас что происходило?

Ответ: У нас стимулировался рост как у мутантных растений, так и у родительской формы. А в работе у Rosa Porcel было ингибирование роста растений.

Вопрос к.б.н. Демченко К.Н. Но Вы делаете вывод, что это было связано с особенностями штамма бактерий и видом растений. Какие-то механизмы Вы могли бы раскрыть? Это слишком общий вывод, что все растения разные, все штаммы бактерий тоже разные.

Ответ: В работе Porcel тоже использовали бациллы, но другого вида. Также мы использовали однодольные растения, а не двудольные.

Вопрос к.б.н. Демченко К.Н. В чем разница между однодольными и двудольными растениями в Вашем случае? Какие-то особенности в ответ на инокуляцию.

Ответ: По-другому инокулируется ризосфера. Разные типы корневых систем. По другому бактерии колонизируют ризосферу.

Вопрос к.б.н. Демченко К.Н. Вы получили различия в двух штаммах по влиянию на растения. Вы считаете, что эти различия вызваны именно генетической структурой штаммов или, если мы возьмем разные виды, различия будут еще больше?

Ответ: Это можно объяснить различием самих штаммов, поскольку они очень разные по своей природе.

Вопрос д.б.н. Шишовой М. Ф. У Вас происходит инокуляция растений различными штаммами. Скажите, пожалуйста, были ли Вами проведены какие-то первичные эксперименты, которые не вошли в саму работу, но которые Вам позволяют ответить, какая концентрация должна быть у инокулята и как меняется реакция Ваших бактерий, поскольку Вы их изучаете еще и в условиях стресса. Можно ли предположить, что бактерии, будучи в стрессовом состоянии, могут менять интенсивность синтеза фитогормонов и из-за этого будет меняться их действие на растительный организм. Возможно, какие-то литературные данные?

Ответ: Конкретное взаимодействие гормонов, которое может случиться при обработке разными концентрациями, нужно изучать дополнительно. Поскольку, когда мы делали предварительные опыты по концентрации псевдомонад, мы наблюдали, что высокие концентрации (10⁹ КОЕ/г и выше) вызывали ингибирующий рост эффект. То есть в том случае включалась другая гормональная реакция, которую мы тогда, к сожалению, не зафиксировали – мы оценивали только ростовые параметры. Поэтому я могу предположить, что нужно исследовать данный вопрос более детально.

Вопрос д.б.н. Медведева С.С. Что такое суммарное содержание цитокининов? Что Вы измеряли?

Ответ: В нашем случае мы измеряли суммарное содержание зеатина, зеатин-рибозида и зеатин-нуклеотида. Изопентенил не измеряли.

Вопрос д.б.н. Медведева С. С. Для чего оценивали содержание зеатин-нуклеотида, если это запасная форма цитокининов, а не активная?

Ответ: Мы оценивали общее содержание данного гормона.

Вопрос д.б.н. Медведева С. С. Вы смотрели цис- и транс-формы зеатина?

Ответ: Нет. Мы оценивали содержание цитокининов методом иммуноферментного анализа, а у цис- и транс- зеатина одинаковые антитела.

Вопрос д.б.н. Цыганова В. Е. Скажите, пожалуйста, Вы изучали или, может планируете изучить, что происходит со штаммами после инокуляции? Они колонизируют корни?

Ответ: Это не мои данные, это данные, полученные в нашей лаборатории. Изучали, как бактерии колонизируют корни, в том числе в полях. В частности, *B. subtilis* IB-22 сохраняется в полевых условиях на растениях пшеницы до стадии колошения.

Вопрос д.б.н. Казниной Н. М. Инокуляция бактериями в условиях засоления в большей степени повлияла на побег. Как Вы можете это объяснить?

Ответ: Выделяемые бактериями гормоны положительно влияли именно на рост

побега.

Вопрос д.б.н. Казниной Н. М. Экспрессия генов синтеза АБК в большей степени происходила в корнях, а содержание больше в побегах. Как Вы это объясните?

Ответ: АБК и синтезируется, и сохраняется в корнях для поддержания гидравлической проводимости на фоне засоления, поскольку важно избежать избыточной потери воды в результате транспирации.

На заседании 2 февраля 2023 г. диссертационный совет принял решение: за высококвалифицированное выполнение научного исследования и успешное решение научной задачи, имеющей значение для развития физиологии и биохимии растений присудить Ахтямовой З.А. ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования с использованием информационно-коммуникационных технологий диссертационный совет в количестве 17 человек (9 очно, 8 удаленно), из них 8 докторов наук (5 очно, 3 удаленно) по специальности 1.5.21. Физиология и биохимия растений, участвовавших в заседании, из 21 человека, входящих в состав совета, дополнительно введены на разовую защиту 0 человек, проголосовали: за 17, против 0.

Зам. председателя диссертационного совета



Цыганов Виктор Евгеньевич

Ученый секретарь диссертационного совета

Лянгузова Ирина Владимировна

02.02.2023