

ОТЗЫВ

На диссертационную работу **Ивановой Киры Андреевны** «**Роль низкомолекулярных тиолов в развитии и функционировании эффективных и неэффективных симбиотических клубеньков гороха посевного (*Pisum sativum* L.)**», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.21. – физиология и биохимия растений

Диссертационная работа Ивановой Киры Андреевны посвящена изучению формирования и функционировании эффективных симбиотических клубеньков гороха посевного (*Pisum sativum* L.) и выявлению роли системы глутатиона/гомоглутатиона в этих процессах.

Снижение плодородия почв составляет одну из важнейших проблем для современного сельскохозяйственного производства. Поэтому перед исследователями стоит первостепенная задача повысить эффективность взаимодействия растений с симбиотическими микроорганизмами – микоризными грибами и ризосферными бактериями, в том числе азотфиксирующими ризобиями. Симбиотическая азотфиксация, протекающая в клубеньках бобовых растений, вносит огромный вклад в обеспечение почв доступным азотом. Функционирование симбиотического клубенька связано с «кислородным парадоксом», поскольку с одной стороны функционирование основного фермента азотфиксации – нитрогеназы требует ограничения доступа кислорода, в силу ее необратимой инактивации кислородом, а с другой стороны процесс азотфиксации является энергоемким. Очевидно, что в решении данного парадокса важную роль играет антиоксидантная система растений, функционирующая в клубеньке, одним из элементов которой являются глутатион и гомоглутатион. Поэтому актуальность диссертационной работы Ивановой К.А. не вызывает сомнений.

Работа изложена на 160 страницах и построена по традиционной схеме: состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, результатов, их обсуждения, заключения, выводов и приложения. В списке

литературы процитировано 337 источников, из которых только 8 – на русском языке. Список литературы оформлен в соответствии с требованиями ГОСТа. Работа хорошо иллюстрирована схемами, графиками и рисунками, без которых осмысление полученных результатов было бы затруднительно.

Во введении приведено обоснование актуальности изучаемой проблемы, сформулированы цель и задачи исследования, научная новизна, научно-практическое значение, а также сформулированы три положения, выносимые на защиту.

В обзоре литературы проанализированы современные представления о механизмах молекулярного диалога между ризобиями и растением-хозяином при инициации симбиоза, путях формирования и развития азотфиксирующих клубеньков, особенностях фитоиммунитета, а также участии окислительно-восстановительной регуляции и системы глутаниона/гомоглутатиона в этих процессах. В целом, научная сторона обзора литературы производит очень хорошее впечатление, что не удивительно, поскольку диссертант является соавтором двух обзорных статей по теме диссертации.

Работа выполнена с привлечением большого количества современных методов микроскопии, молекулярно-биологического и биохимического анализа растений. Описание комплекса методических подходов, использованных автором, является исчерпывающим. Единственное замечание к разделу «Материалы и методы» – перепутаны ссылки для генов *EFD* и *Cyp15a* (Таблица 1, стр. 70).

Результаты приведены и всеобъемлюще обсуждены в соответствующих разделах работы. Рассматриваемая диссертация представляет собой завершённое экспериментальное исследование, содержащее значительный элемент новизны. Выявлены новые фенотипические проявления мутаций *sym33-3* и *sym40-1*, заключающиеся в индукции сильных защитных реакций – отложении суберина и увеличении экспрессии ряда маркерных защитных генов в тканях неэффективных клубеньков. Впервые было показано, что соотношение глутаниона и гомоглутаниона в корнях и клубеньках гороха

изменяется после выхода бактерий из инфекционных нитей, что является необходимым условием развития симбиотического клубенька и эти изменения нарушены в неэффективных клубеньках. Также впервые было продемонстрировано, что недостаток тиолов в неэффективных симбиотических клубеньках приводит к нарушению развития меристемы, роста инфекционных нитей и деления симбиосом, а в эффективных – к преждевременной деградации симбиотических структур.

Выводы полностью соответствуют цели и задачам работы и базируются на представленных экспериментальных данных.

В результате ознакомления с экспериментальной частью работы возникло несколько вопросов:

1. Почему в качестве референсного гена был выбран ген *GapC1*? Проводилась ли предварительная его проверка на предмет стабильной экспрессии у разных генотипов и в разных тканях гороха?
2. Почему у растений дикого типа возрастает экспрессия гена *PR-10* (*ABR17*) после 6 НПИ? Означает ли это развитие защитных реакций?
3. Чем обусловлен выбор разных генов *PR-10* (*ABR17* = Z15128.1 и U31669.1) для оценки экспрессии у разных генотипов при нодуляции и модуляции тиолового обмена? И как можно объяснить, что после 2 НПИ на рис. 12 экспрессия гена *PR-10* (*ABR17*) максимальна у мутанта *sym40-1*, но не *sym33-3*, а на рис. 21 (теплокарта) *PR-10* (U31669.1) – у *sym33-3*, но не *sym40-1*?
4. Почему влияние обработки экзогенным глутатионом на уровень тиолов (ДТ, *sym33-3* и *sym40-1*), ультраструктуру клубеньков (ДТ, *sym33-2* и *sym33-3*) и экспрессию генов (ДТ и *sym33-3*) изучали на разных линиях мутантов, а не на всех сразу?
5. Почему значения экспрессии генов различались у контрольных растений дикого типа в экспериментах с разными типами обработок? Например, для гена *Cyp15a* – 0,716 в экспериментах с BSO и 0,315 в

экспериментах с GSH (приложение 1, стр. 155 и приложение 2, стр. 158).

Следует заметить, что высказанные замечания ни в коей степени не умаляют достоинств работы, которая вносит существенный вклад в понимание молекулярно-генетических механизмов формирования клубенька и координации его развития с защитными системами растения, осуществляемой, в том числе, посредством окислительно-восстановительного баланса с участием низкомолекулярных тиолов, а регуляция метаболизма глутатиона и гомоглутатиона в клубеньках и корнях бобовых растений может быть важным инструментом не только повышения эффективности симбиотической азотфиксации, но также устойчивости растений к патогенам.

В целом работа выполнена на высоком методическом и теоретическом уровне. Результаты работы опубликованы в периодических научных изданиях, в том числе 4 статьи из списка, рекомендованного ВАК, которые включены в международную базу Scopus. Следует отметить, что материалы диссертации активно представлялись на отечественных и международных научных конференциях.

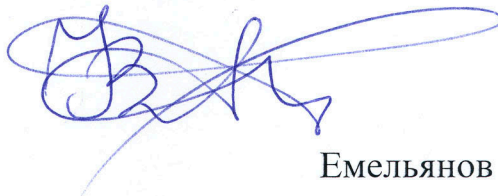
Автореферат полностью отражает содержание диссертации.

Таким образом, работа Ивановой Киры Андреевны «Роль низкомолекулярных тиолов в развитии и функционировании эффективных и неэффективных симбиотических клубеньков гороха посевного (*Pisum sativum* L.)», представленная на соискание степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.21. – физиология и биохимия растений, является законченной научно-квалификационной работой, полностью соответствующей критериям пп.9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденных постановлением Правительства РФ № 842 от 24 сентября 2013 г., а ее автор, Иванова Кира Андреевна заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.21. – физиология и биохимия растений.

29.10.2021

Официальный оппонент

Доцент кафедры генетики и селекции
Санкт-Петербургского
государственного университета,
кандидат биологических наук
(специальность 1.5.21. – физиология и биохимия растений)



Емельянов В.В.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет»

Россия, 199034, Санкт-Петербург, Университетская наб., д. 7–9

тел. +7(812) 36 36 105

E-mail: v.yemelyanov@spbu.ru

<https://spbu.ru/>

ЛИЧНУЮ ПОДПИСЬ

ЗАВЕРЯЮ

Емельянов В.В.



НАЧАЛЬНИКА
КАДРОВ СЛУЖБЫ
Ж. КОРЕЛЬСКАЯ