

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

на диссертацию Цыгановой Анны Викторовны
на тему: «Симбиотический интерфейс в развитии клубеньков *Pisum sativum* L
и *Medicago truncatula* Gaertn.»,
представленную на соискание ученой степени доктора биологических наук
по специальности 1.5.21. - Физиология и биохимия растений

Диссертационная работа Цыгановой А.В. посвящена очень важной и интересной теме – взаимодействию растительного и бактериального симбионтов в симбиотической азотфиксирующей системе бобового растения, а именно формированию и функционированию так называемого «симбиотического интерфейса». В это понятие включают структуры и механизмы непосредственного контакта и взаимодействия симбионтов, в первую очередь – инфекционную нить в ее развитии, симбиосомы и связанные с ними образования в корнях и клубеньках. А поскольку особенности строения и состава симбиотического интерфейса являются решающими для формирования эффективного азотфиксирующего симбиоза, то **тема диссертации Цыгановой А.В. безусловно является актуальной.**

Рассматриваемая диссертация построена по стандартному для докторских диссертаций плану. Она включает введение, обзор литературы, материал и методы, результаты и обсуждение, заключение, выводы, благодарности и список литературы. Диссертация изложена на 341 странице, содержит 96 иллюстраций и 11 таблиц. Список цитируемой литературы включает 767 наименований из них 19 в отечественных и 748 в зарубежных научных изданиях.

В обзоре литературы очень подробно описано развитие инфекционной нити, в том числе участие различных соединений, как растительной, так и бактериальной природы (в первую очередь белков и полисахаридов), на разных этапах ее формирования и развития. Обсуждается и образование функциональных единиц процесса азотфиксации - симбиосом. Также много внимания уделено роли фитогормонов в развитии симбиотического интерфейса. Хорошо написан и раздел об активных формах кислорода и антиоксидантной защите в развитии интерфейса. Очень интересным является историческое сравнение различных существовавших и существующих теорий по обсуждаемым вопросам. Обсуждается «лектиновая теория», различные теории инициации инфекционной нити, предположения о механизме высвобождения бактерий из инфекционной нити.

Раздел «Материалы и методы» также написан очень подробно и квалифицированно. Широкий спектр использованных современных методов свидетельствует о высокой

квалификации диссертанта и подтверждает **достоверность полученных в диссертации результатов.**

В диссертационной работе Цыгановой А.В. получены новые важные результаты, среди которых можно отметить следующие. Установлено, что развитие симбиотического клубенька бобовых сопровождается модификациями симбиотического интерфейса: в клеточных стенках изменяется степень метилирования гомогалактуронанов, модифицируются боковые цепи рамногалактуронана I. Показано, что арабинаны и арабиногалактановые белки с гликозилфосфатидилинозитоловым якорем могут являться маркерами дифференцировки симбиосом. Показано также, что мутации в генах, кодирующих транскрипционный фактор CYCLOPS/IPD3, обуславливают неэффективный характер симбиоза и активируют защитные реакции, направленных на изоляцию микросимбионта в инфекционных нитях и инфицированных клетках клубеньков гороха. Установлено, что пероксид водорода участвует в росте инфекционной нити и в модификации клеточной стенки при дифференцировке инфицированных клеток клубенька. Сформулированные на основе полученных результатов положения и выводы обладают **несомненной научной новизной.**

Диссертация Цыгановой А.В. имеет и **важное практическое значение.** Изученные механизмы развития защитного ответа при неэффективном симбиозе могут помочь в создании высокоэффективных растительно-микробных взаимодействий.

В то же время к рассматриваемой диссертационной работе можно высказать и несколько незначительных замечаний и пожеланий.

Трудно согласиться с фразой «Пектин, вероятно, является одной из самых сложных макромолекул в природе» (стр. 125, последний абзац). Все-таки ДНК построена сложнее, особенно если учитывать её укладку в хроматине, да и уровни структурной организации многих белков также весьма сложны.

Подписи к рисункам иногда содержат настолько обширные описания, что их было бы логичнее вставить непосредственно в текст диссертации. Так, подпись к рис. 3 занимает целую страницу (стр. 23-24) и по объему превышает сам рисунок.

В работе встречаются стилистически неудачные выражения, например, «играть роль» без дополнительного эпитета: «Еще одним из классов белков, играющих роль во время ранних стадий ризобиального симбиоза...» (стр. 27, 2-й абзац) или «КПС могут играть роль в случае недетерминированного клубенькообразования...» (стр. 57, 2-й абзац). Обычно принято писать «играть важную роль» или «играть большую роль», что диссертант в других случаях абсолютно правильно использует (например, на стр. 27, 3-й абзац). В первом же случае лучше писать «участвует».

И, конечно, вызывает некоторое удивление полное отсутствие упоминания о таком важнейшем компоненте симбиотической азотфиксирующей системы, как гемоглобин бобовых – леоглобин (леггемоглобин, Lb). Этот белок не являлся непосредственным объектом исследования диссертанта, однако он настолько важен для взаимодействия симбиотических партнеров, что в некоторых случаях просто напрашивается его упоминание, например, в обзоре литературы. Именно он обуславливает красный цвет центральной части азотфиксирующего клубенька, что является одной из важнейших характеристик эффективности симбиоза. Одним же из признаков старения клубенька является позеленение его центральной зоны, что связано с деградацией Lb. Интересно, что цвет клубеньков упоминается в диссертации: «Данный мутант способен образовывать два типа клубеньков: белые с «заблокированными» инфекционными нитями и без выхода бактерий ... и розоватые клубеньки с недифференцированными бактериоидами ...» (стр. 169). Однако без упоминания Lb читателю может быть непонятно, почему одни клубеньки белые, а другие – розоватые. Хотелось бы пожелать диссертанту при написании будущих обзоров и монографий не забывать об этом интереснейшем белке.

В то же время отмеченные недочеты носят частный характер или являются пожеланиями и не снижают общей высокой оценки диссертации Цыгановой А.В.

Использованные в работе современные методы исследований подтверждают высокий научно-методический уровень рассматриваемой диссертации. Результаты, полученные диссертантом, достоверны, выводы – обоснованы. Диссертация написана хорошим литературным языком, почти не содержит опечаток, прекрасно иллюстрирована. По материалам диссертации опубликовано 30 статей в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК РФ, из них 27 включены в международную базу Scopus. Данные, представленные в диссертации, неоднократно докладывались на представительных российских и международных научных конференциях. Опубликованные печатные работы и автореферат правильно отражают содержание рассматриваемой диссертации.

Заключение

Таким образом, можно сделать заключение, что диссертация Цыгановой Анны Викторовны на тему: «Симбиотический интерфейс в развитии клубеньков *Pisum sativum* L и *Medicago truncatula* Gaertn.», представленная на соискание ученой степени доктора биологических наук, является законченной научно-квалификационной работой, в которой решена научная проблема развития и функционирования симбиотического интерфейса в азотфиксирующей системе: бобовое растение – клубеньковые бактерии, имеющая большое

хозяйственное значение и играющая важную роль для развития физиологии и биохимии растений и биологической науки в целом.

По актуальности, объёму проведенных исследований, научно-методическому уровню, новизне и практической значимости полученных результатов рецензируемая диссертация полностью соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842 (в действующей редакции), предъявляемым к докторским диссертациям, а её автор – Цыганова Анна Викторовна заслуживает присуждения ей искомой учёной степени доктора биологических наук по специальности 1.5.21. - Физиология и биохимия растений.

Официальный оппонент

Топунов Алексей Федорович

«3» октября 2022 г.

Топунов Алексей Федорович,
доктор биологических наук,
заведующий лабораторией биохимии азотфиксации и метаболизма азота
Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр
«Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук»,
профессор научно-образовательного центра по биоинженерии

Почтовый адрес: Россия, 119071, Москва, Ленинский проспект, д. 33, стр. 2

Телефон: +7(916)157-6367

Эл. почта: aftopunov@yandex.ru

Подпись А.Ф. Топунова заверяю

Ученый секретарь
Федерального государственного учреждения
«Федеральный исследовательский центр
«Фундаментальные основы Биотехнологии»
Российской академии наук»,
Кандидат биологических наук
Тел.: +7(495)954-40-07; эл. почта: orlovsky@inbi.ras.ru


Александр Федорович Орловский