

## ОТЗЫВ

на диссертационную работу **Гончаровой Алены Михайловны**  
**«Влияние бактериальных патогенов и мутуалиста на активность компонентов аденилатциклазной сигнальной системы и ее взаимосвязь с уровнем пероксида водорода в проростках гороха»**, представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.21. – физиология и биохимия растений

Растительные организмы постоянно находятся в сложных взаимоотношениях с разнообразными микроорганизмами, которые могут оказывать как положительное, так и отрицательное воздействие на их рост и развитие. Эти взаимодействия предполагают высокоспецифичную систему узнавания на уровне рецепторов, а также вовлечение целого ряда сигнальных систем, обуславливающих высокую специфичность формирующейся ответной реакции.

Диссертационная работа Гончаровой Алены Михайловны посвящена изучению участия аденилатциклазной сигнальной системы на первичных этапах растительно-микробного взаимодействия. Данные о роли цАМФ и аденилатциклазы у растений еще достаточно фрагментарны. Актуальность исследования основывается также на необходимости расшифровки различий ответных сигнальных каскадов и выявления возможной вариативности вовлечения цАМФ при взаимодействии с симбионтами и патогенами. Особое внимание в диссертации было уделено очень интересному аспекту – взаимодействию аденилатциклазной сигнальной системы и активных форм кислорода (АФК). Последние особенно активно вовлечены в трансдукцию стрессового сигнала при патогенезе. Все перечисленное подчеркивает актуальность и новизну выполненной диссертационной работы.

Работа изложена на 146 страницах и построена по традиционной схеме: состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, результатов и обсуждения, заключения и выводов. В списке литературы процитировано 344 источника, из которых 102 – на русском языке. Список

литературы оформлен в соответствии с требованиями ГОСТа. Работа иллюстрирована 19 графиками и рисунками.

Во введении приведено обоснование актуальности изучаемой проблемы, сформулированы цель и задачи исследования, научная новизна, научно-практическое значение, а также сформулированы два положения, выносимые на защиту. К первому положению имеется вопрос, (1) в чём состоит «специфичность» ответа аденилатциклазной сигнальной системы корня гороха на инфицирование эффективным штаммом клубеньковых ризобактерий?

В обзоре литературы, занимающим значительный объём диссертационной работы, проанализированы современные представления о механизмах молекулярного распознавания и взаимодействия растений с ризобиями и фитопатогенами, а также участия сигнальных систем в этих процессах. Особое внимание уделено рассмотрению роли АФК и аденилатциклаз. В целом, научная сторона обзора литературы производит хорошее впечатление, однако именно этот раздел содержит довольно много стилистических и грамматических ошибок. Следует заметить, что орфографические ошибки в работе практически отсутствуют.

Работа выполнена с привлечением современных методов микробиологии, биохимического и иммуно-ферментного анализа растений. Описание комплекса методических подходов, использованных автором, является исчерпывающим. Особенностью проведенных исследований является дифференцированный анализ ответных реакций в различных зонах корня проростка гороха. Однако, имеется ряд вопросов и замечаний:

(2) В чём заключаются принципиальные различия между зоной зачатков корневых волосков (II) и зоной молодых корневых волосков (III)? Для удобства рисунок 5 диссертации, отражающий зональность корня можно было бы вставить в виде вкладки во все экспериментальные рисунки с данными, что значительно облегчило бы восприятие излагаемого материала.

(3) Почему в качестве хозяин-специфичного патогена выбрали паразита филлосферы *Pseudomonas syringae* pv. *pisi*, а не какого-либо корневого фитопатогена? Чем обусловлен выбор в качестве хозяин-неспецифичного патогена возбудителя болезни картофеля *Clavibacter michiganensis* ssp. *sepedonicus*, а не фитопатогенов родственных гороху бобовых *C. michiganensis* ssp. *insidiosus* или *C. michiganensis* ssp. *phaseoli*?

(4) Насколько релевантно было оценивать действие перекиси водорода на активность аденилатциклаз не в очищенном виде, а в гомогенате? В нём содержится много примесей низкомолекулярных про- и антиоксидантов, включая дитиотрейтол, а также про-/антиоксидантных ферментов.

Полученные данные, содержащее значительный элемент новизны, приведены в разделе «результаты и обсуждение». Показано, что адгезия микроорганизмов на поверхности корня определяется специфичностью их для растения-хозяина и максимальная адгезия характерна для эффективного штамма азотфиксатора. Впервые обнаружены сходные изменения в работе аденилатциклазной системы в корнях гороха на первых этапах взаимодействия со специфическими симбиотическими и патогенными бактериями, что может указывать на общие моменты в регуляции восприятия микроорганизмов. Длительная инкубация с эффективным штаммом симбионта приводила к существенной активации аденилатциклаз, накоплению цАМФ и уменьшению продукции перекиси водорода. Выявлены взаимодействия между аденилатциклазной сигнальной системой и пероксидом водорода. Полученные результаты показывают перспективы дальнейшего развития данного направления исследований. При ознакомлении с разделом возникли вопросы:

(5) Уже в первые 5-15 мин после инокуляции хозяин-неспецифичным патогеном *C. michiganensis* ssp. *sepedonicus* происходила значительная активация аденилатциклазной системы (повышение активности аденилатциклаз, аккумуляция цАМФ), в разы превышающая таковую при действии специфичного патогена *P. syringae* pv. *pisi* и симбионта

*R. leguminosarum* bv. *viciae*. Почему в связи с обнаруженными эффектами не исследовали параметры работы аденилатциклазной системы при длительных сроках инокуляции *C. michiganensis* ssp. *sepedonicus*?

(б) Каков механизм аккумуляции цАМФ в исследованных симбиотических системах? Происходило ли это только в результате активации аденилатциклазы растения, или бактериальные ферменты тоже принимали участие?

В разделе «Заключение» диссертант суммирует все полученные данные и приводит обобщающую схему взаимодействия аденилатциклазной сигнальной системы и АФК (рисунок 19).

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

Следует заметить, что высказанные замечания и вопросы ни в коей степени не умаляют достоинств работы, которая вносит вклад в понимание сигнальных каскадов, участвующих во взаимодействии растения и бактерий, как симбиотических, так и патогенных. Полученные результаты доказывают вовлечение аденилатциклазной сигнальной системы на начальных этапах становления как симбиоза, так и патогенеза. Автору удалось показать участие цАМФ, как вторичного посредника, в регуляции уровня АФК.

Работа выполнена на современном методическом и теоретическом уровне. Результаты работы опубликованы в периодических научных изданиях. 4 статьи опубликованы в журналах из списка, рекомендованного ВАК, из них 3 включены в международную базу цитирования Scopus. Материалы диссертации были представлены на отечественных и международных конференциях, в перечислении которых имеются разночтения между авторефератом и диссертацией.

Также, в отличие от текста диссертации, в автореферате плоды гороха названы стручками, которые, как известно, характерны для представителей семейства крестоцветные. В остальном, автореферат полностью отражает содержание диссертации.

Таким образом, работа Гончаровой Алены Михайловны «Влияние бактериальных патогенов и мутуалиста на активность компонентов аденилатциклазной сигнальной системы и её взаимосвязь с уровнем пероксида водорода в проростках гороха», 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, Гончарова Алена Михайловна заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.21. – физиология и биохимия растений.

28.02.2022

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.*



ЗАМЕСТИТЕЛЬ НАЧАЛЬНИКА  
ПРАВЛЕНИЯ КАДРОВ СИБГУ  
Н. К. КОРЕЛЬСКАЯ

*28.02.22.*