

О Т З Ы В

официального оппонента 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

Аденилатциклазная сигнальная система растений является одной из слабо изученных сигнальных систем, что связано с относительно поздней идентификацией основных участников этой системы. Принимая во внимание, что такая сигнальная система эффективно вовлечена в механизмы взаимоотношения между патогенами и их хозяевами в модельных системах с животными клетками можно полагать, что и на растениях гороха при их взаимоотношениях с симбионтными (*Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae*) и патогенными (*Pseudomonas syringae* pv. *pisi*, *Clavibacter sepedonicus*) микроорганизмами будет наблюдаться активное участие аденилатциклазы, особенно на ранних этапах. В связи с этим диссертационная работа Гончаровой Алены Михайловны, посвященная анализу роли аденилатциклазной сигнальной системы и оценки ее взаимодействия с про-/антиоксидантной системой в проростках гороха подверженных воздействию бактериальных патогенов и мутуалиста на активность и ее взаимосвязь с уровнем пероксида водорода, характеризуется новизной и актуальностью.

Диссертационная работа А.М. Гончаровой изложена на 146-и страницах машинописного текста, включающем список сокращений (2 стр.), введение (6 стр.), обзор литературы (38 стр.), экспериментальную часть, состоящую из описания материалов и методов (8 стр.), результатов и обсуждения (40 стр.), заключения (7 стр.), выводов, списка литературы, включающего 344 источника, из которых 241 изданы в зарубежной печати. Результативная часть работы содержит 5 таблиц и проиллюстрирована 18 рисунками, а также 1-й схемой, описывающей предполагаемый механизм взаимодействия аденилатциклазной и супероксидсинтазной

сигнальных систем в клетках проростков гороха на ранних стадиях взаимодействия с симбионтными и патогенными микроорганизмами. Материалы диссертации апробированы на научных конференциях различного уровня и изложены в 4-х печатных работах (статьях), опубликованных в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК МОН РФ, и соответствующих защищаемой специальности.

Содержание автореферата соответствует материалам диссертации. В автореферате, полученные автором результаты и выводы, приведены полностью.

Научная новизна исследований и полученных результатов заключается в следующем:

1. Автор убедительно показала вовлечение аденилатциклазной сигнальной системы в формирование симбиотических отношений растений гороха с ризобияльными бактериями и вовлеченность экзогенного цАМФ в регуляцию уровня активных форм кислорода в зоне проникновения симбионта в ткани растения.

2. Обнаружена отрицательная корреляция между индуцированным патогенами содержанием активных форм кислорода и активностью аденилатциклаз в корнях проростков, что позволило автору предложить относительно эффективную регуляторную схему взаимодействия, казалось бы, независимых друг от друга сигнальных систем.

Связь диссертационной работы с планами соответствующих отраслей науки и народного хозяйства.

Диссертационная работа выполнена в соответствии с перечнем приоритетных направлений фундаментальных и поисковых научных исследований Российской Федерации на 2021 - 2030 годы по направлению 1.6. Биологические науки, разделу 1.6.7. Экспериментальная биология растений и подразделу 1.6.7.5. Растительно-микробные взаимоотношения и аллелопатия, утвержденному распоряжением Правительства Российской Федерации № 3684-рот 31 декабря 2020 г.

Значимость полученных результатов для науки и практики. Способность корневой системы растений гороха к быстрой и специфической реакции на воздействие симбиотической бактерии *R. leguminosarum* bv. *viciae* предполагает возможность использования этого феномена для экспресс оценки совместимости

штаммов ризобий с соответствующим сортами бобовых. Основные результаты работы могут быть использованы в учебно-исследовательской работе.

При рассмотрении диссертационной работы возникли некоторые **замечания и вопросы**, на которые хотелось бы получить ответ:

1. Автор отмечает, что «Объектами исследования служили трехсуточные проростки гороха (*Pisum sativum*, сорт Рондо) и планктонные культуры *Rhizobium leguminosarum* bv. *vicea* (*Rlv*) (эффективный по азотфиксации штамм RCAM 1022, неэффективные высококонкурентные штаммы RCAM 1064 и RCAM 1065), *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* (*Psp*) (вирулентный штамм 1845) и *Clavibacter sepedonicus* (*Cs*) (вирулентный, мукоидный штамм 6889)». Вместе с тем в диссертации нет подкрепления ни ссылкой на литературные данные, ни на собственные экспериментальные, что действительно штамм *R. leguminosarum* bv. *vicea* (*Rlv*) RCAM 1022 эффективен по азотфиксации или формированию азотфиксирующих клубеньков. Мы видим по рисунку 2 автореферата, только то, что коэффициент адгезии клеток этого штамма выше, чем у других использованных в эксперименте штаммов. Я считаю, что высокий коэффициент адгезии клеток штамма на поверхность корней гороха никак не может быть связан с эффективностью азотфиксации. Точно также, никак не подкреплено утверждение, что штаммы RCAM 1064 и RCAM 1065 неэффективны и, отдельно, высококонкурентны.

2. В обзорной части работы автор упоминает, что «единственный вид в составе данного рода, *Clavibacter michiganensis*, в зависимости от растения-хозяина и симптомов заболевания, разделяется на шесть подвидов» среди которых есть подвид *C. michiganensis* spp. *sepedonicus* (*C. sepedonicus*), вызывающий кольцевую гниль у картофеля и подвид *Clavibacter michiganensis* spp. *phaseoli* subsp. nov., вызывающий гнили у бобовых. Мне понятно, что штамм *C. sepedonicus* 6889 был использован диссертантом как неспецифический в экспериментах. Может ли диссертант сказать что-либо о том, как бы физиологически повели бы себя корни гороха на инфицирование штаммом подвида *C. phaseoli*, специфическим к бобовым.

3. В разделе 3.2 автор описывает изменения в активности трансмембранной и «растворимой» аденилатциклазы в корнях гороха. На рис. 9 диссертации (рис. 4 автореферата). Показано, что в зависимости от контроля активность этого фермента при инфицировании штаммом *C. sepedonicus* 6889 резко повышается уже

на 5 мин и поддерживается до 15 мин эксперимента. Мне не понятно почему на 120 мин и 360 мин эксперимента нет данных по активности фермента в корнях инфицированных этой бактерией. И еще, я понимаю, что наука физиологии и биохимии является сравнительной наукой и все познания мы получаем, сравнивая параметры экспериментального материала с таковым в контроле. Но понятно, что и сам контроль во временной динамике подвержен изменениям. Однако я не обнаружил в разделе данных по активности аденилатциклаз в контрольных образцах, относительно чего в последствии были проведены вычисления и построены графики. В каких единицах измерялась активность аденилатциклаз? В целом, такое же замечание касается подраздела 3.6.

4. В разделе 3.3 автор отмечает, что по содержанию цАМФ отрезки анализируемого корня «незначительно отличалось во всех участках, за исключением I зоны (меристемы), где данный показатель был выше (табл. 2)». И эти данные «В дальнейших экспериментах служили контролем». Но, при анализе таблицы 2 обнаружилось, что в ней речь ведется о содержании пероксида водорода. Контрольные цифры по уровню цАМФ были обнаружены мной в таблицах 3 и 4 диссертации, касающихся экспериментов по использованию экзогенных концентраций цАМФ (табл. 3) и сурамина (табл. 4). Интересно было бы знать в каких единицах измеряли концентрацию цАМФ. В таблице 3 нет данных по этому вопросу. Они есть только в таблице 4.

5. В некоторых случаях автор работы не указала в подрисуночных надписях и в таблицах конечную точку фиксации, где были сняты представленные результаты. Читателю приходится догадываться о дате наблюдений, представленных в наглядном материале, так как это время есть только в тексте диссертации (например, табл. 3 - вероятно 15 мин эксперимента, рис. 15 - вероятно 5 мин).

6. При первом упоминании вида организма следует дать полную таксономическую расшифровку вида и желательно с указанием автора, описавшего вид (например, *Pisum sativum* L.), а затем сокращение (например, *P. sativum*), а не наоборот. Например, на стр. 8 строка 4 представлены сокращенные варианты видов, а далее (стр. 9 строки 4 и 5) полная их расшифровка.

7. В обзорной части, а также при обсуждении полученных данных автор часто забывает о соблюдении хронологии в «обойме» ссылок в случае их приведения вместе. Следует всегда впереди указывать более ранние работы, а затем современные. Например, на стр. 16 строка 2 или стр. 20 строка 17.

8. В ходе анализа диссертации и автореферата обнаружил, что есть различия в тексте по разделу «Апробация работы». В диссертации указано, что автор работы апробировала ее в международной научной конференции «Растения и микроорганизмы: биотехнология будущего», «PLAMIC2018» (Уфа, 13–17 июня 2018 г.). Всероссийской научной конференции «Механизмы устойчивости растений и микроорганизмов к неблагоприятным условиям среды», VIII съезде общества физиологов растений России, (Иркутск, 10–15 июля 2018), Всероссийской научной конференции «Физиология растений – основа создания растений будущего», IX съезд Общества физиологов растений России, (Казань, 19–21 сентября 2019 г.). А в автореферате указано, что материалы диссертации были представлены только на VI конференции «ЭкоБиоТех 2019». Кроме того, в автореферате в списке научных трудов не показано, что автором диссертационной работы опубликованы тезисы (а это тоже научные труды) докладов, подтверждающих, что действительно автор диссертационной работы апробировала свою работу на этих конференциях.

Приведенные замечания не снижают новаторский характер исследований Гончаровой А.М., а сама работа позволяет в полной мере оценить поведение аденилатциклазной сигнальной системы растений гороха в условиях взаимоотношения корневой системы с симбиотическими и патогенными бактериями.

Выводы, приведенные в диссертационной работе, на мой взгляд, обоснованы и логично вытекают из представленных экспериментальных данных. Работа хорошо оформлена, иллюстративный материал вполне достаточен для того, чтобы помочь читателю оперативно ознакомиться с ее содержанием.

Заключение

Заключая рассмотрение работы, можно констатировать, что в целом диссертация Гончаровой Алены Михайловны «Влияние бактериальных патогенов и мутуалиста на активность компонентов аденилатциклазной сигнальной системы

и ее взаимосвязь с уровнем пероксида водорода в проростках гороха» представляет собой законченный научно-исследовательский труд, выполненный на актуальную тему, имеющую важное значение для физиологии и биохимии растений. По своей актуальности, научной новизне, объему выполненных исследований и практической значимости полученных результатов диссертационная работа удовлетворяет требованиям п. 9 – 14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г., №842 (с изменениями, внесенными постановлениями Правительства РФ на 11.09.2021года), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор Гончарова Алена Михайловна заслуживает присвоения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.21 – физиология и биохимия растений.

Отзыв предоставил:

Заведующий лабораторией биохимии иммунитета
Института биохимии и генетики – обособленного структурного
подразделения Федерального государственного бюджетного
научного учреждения Уфимского федерального
исследовательского центра Российской академии наук,
доктор биологических наук, профессор,
(1.5.21. (03.01.05) - физиология и биохимия растений).
450054, г. Уфа, пр. Октября, 71, 8(347)235-60-88
E-mail: igor.mak2011@yandex.ru

20.02.2022 г.

Игорь Владимирович Максимов

Подпись И.В. Максимова заверяю:

Ученый секретарь ИБГ УФИЦ РАН, д.б.н.

Ф.Р. Гималов

