

Отзыв

официального оппонента на диссертацию Киричека Евгения Андреевича «Симбиотическая совместимость штаммов *Rhizobium laguerreae* и гороха посевного (*Pisum sativum* L.)», представленную на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.11. Микробиология

Оппонент: Бурыгин Г.Л., к.б.н., доцент, старший научный сотрудник ИБФРМ РАН

Актуальность темы исследования

Диссертационная работа Е.А. Киричека посвящена сравнительному изучению симбиотической совместимости шести близкородственных штаммов вида *Rhizobium laguerreae* и нескольких генотипов гороха посевного. Исследование эффективности симбиоза, формирующегося между клубеньковыми бактериями и бобовыми растениями, обеспечивающего органическим азотом не только макросимбионта, но и экосистему в целом, является актуальной задачей современной микробиологии, нацеленной на повышение продуктивности в агробиотехнологиях с использованием микробных инокулянтов. Скрининг новых бактериальных штаммов рода *Rhizobium* с оценкой их симбиотической совместимости обеспечивает понимание механизмов растительно-микробного взаимодействия. Определение штаммоспецифических особенностей взаимодействия бактерий с растениями проведено с использованием современных методов, включая анализ результатов полногеномного секвенирования, транскриптомных данных и иммуногистохимических исследований. Тема диссертации актуальна и соответствует современным направлениям микробиологических исследований.

Теоретическая и практическая значимость результатов работы

Теоретическая и практическая значимость работы по изучению бобово-ризобиального симбиоза заключается в получении новых данных о штаммовых и сортовых различиях в формировании эффективных клубеньков с активной азотфиксацией. Минорные изменения в генетических детерминантах или физиологической активности как бактерий, так и растений способны повысить продуктивность симбиоза или, наоборот, привести к симбиотической несовместимости. В связи с этим расширение фундаментальных знаний о молекулярных механизмах многоэтапного бобово-ризобиального симбиоза имеет явный прикладной характер, направленный на разработку высокоэффективных бактериальных инокулянтов, совместимых с широко используемыми сортами агрокультур, что в итоге должно привести к росту производительности сельского хозяйства.

В работе Е.А. Киричека показаны биохимические и гистохимические различия в структуре клубеньков при инокуляции шестью штаммами *Rhizobium laguerreae* трёх генотипов гороха посевного, что демонстрирует наличие штаммовых и сортовых особенностей формирования и функционирования бобово-ризобиального симбиоза. Также важное теоретическое и практическое

значение имеют представленные в диссертации результаты по влиянию повышенной температуры на симбиотическую совместимость, что позволит, с одной стороны, изучить роль различных составляющих физиологического состояния макро- и микросимбионтов в продуктивном функционировании клубеньков, а с другой стороны, разрабатывать и рекомендовать эффективные бактериальные инокулянты для различных климатических зон возделывания бобовых культур.

Научная новизна, обоснованность и достоверность научных положений, выводов, сформулированных в диссертации

Диссертация основана на большом экспериментальном материале, выполнена на высоком научном уровне с использованием современных методов и тщательным анализом данных, что обеспечивает достоверность полученных результатов.

Работа представляет собой исследование симбиотической совместимости шести близкородственных штаммов *Rhizobium laguerreae* с горохом посевным сортов Frisson, Rondo и линии SGE, проявляющейся в формировании на корнях растений функционирующих клубеньков. В диссертации впервые были описаны гистологические и ультраструктурные нарушения процессов инфекции и клубенькообразования для конкретных комбинаций штаммов *Rhizobium laguerreae* с сортом/линией гороха. Была выявлена сортовая и штаммовая специфичность аномалий развития клубеньков на корнях гороха.

Особое внимание в диссертационной работе Е.А. Киричека уделено анализу локализации бактериальных липополисахаридов и растительных пектинов, арабиногалактановых белков, суберина и каллозы в клубеньках, сформированных после инокуляции исследованными штаммами *Rhizobium laguerreae*. Данные секвенирования полных геномов бактерий были проанализированы на предмет выявления различий между штаммами в симбиотической совместимости.

Приоритетные данные получены при изучении влияния среды на развитие симбиотических структур. Так, для штамма AMPS23 показано позитивное, а для штамма AMPS34 – негативное влияние повышенной температуры на формирование и функционирование бобово-ризобиального симбиоза. В целом исследование Е.А. Киричека вносит существенный вклад в понимание механизмов формирования и функционирования симбиоза между бактериями *Rhizobium laguerreae* и горохом.

Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации, заслуживает самой высокой оценки.

Надежность результатов подкреплена использованием воспроизводимых экспериментов и достоверного статистического анализа. Уровень публикаций в рецензируемых журналах и наличие докладов на международных (PLAMIC2022, Санкт-Петербург, 2022) и всероссийских (5-й Микробиологический Конгресс, Волгоград, 2025) конференциях с апробацией

диссертационного исследования подтверждают высокий уровень работы и её признание научным сообществом.

Характеристика разделов работы

Диссертационная работа Е.А. Киричека оформлена по стандартному образцу, написана в научном стиле, текст логичен и хорошо структурирован. Материал диссертации изложен на 164 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, результатов и их обсуждения, заключения, выводов, списка литературы и приложения. Библиографический список состоит из 373 наименований. Диссертация содержит 5 таблиц и 45 рисунков (из них 18 в приложении).

Цели и задачи исследования сформулированы достаточно ясно и соответствуют заявленной в названии диссертационной работы теме. Цель работы – изучение симбиотической совместимости шести штаммов *Rhizobium laguerreae* и трёх генотипов гороха посевного – достигнута через проведение полногеномного секвенирования исследуемых бактерий, гистологического и транскриптомного анализа клубеньков гороха, полученных после инокуляции штаммами *Rhizobium laguerreae*.

Литературный обзор занимает 32 страницы диссертации и посвящён описанию ризобий как микросимбионтов растений семейства Fabaceae с подробной характеристикой таксономии *Rhizobium leguminosarum* complex, в который входит вид *Rhizobium laguerreae*. Рассмотрены особенности структуры геномов исследуемых бактерий, а также их ферментативные и генетические механизмы, вовлечённые в формирование эффективного симбиоза с растениями. Отдельный раздел литературного обзора посвящён описанию всех этапов установления бобово-ризобиального симбиоза с информацией об анатомических, морфологических и метаболических изменениях в бактериях и растении-хозяине на этапах от обмена сигнальными молекулами до отмирания клубеньков. Особое внимание в главе 1 уделено рассмотрению феномена симбиотической совместимости между бактериями и растениями.

Методы, описанные в диссертационной работе, включают секвенирование и сборку бактериальных геномов, процедуры выращивания растений и их инокуляции клубеньковыми бактериями, электронную и конфокальную микроскопию, иммуноцитохимический, гистохимический и транскриптомный анализ клубеньков корней гороха. Подробности изложения методик проведения экспериментов, использованных реактивов и материалов достаточны для воспроизведения и заслуживают доверия.

Глава 3 разделена на четыре подраздела, в которых последовательно обсуждаются полученные результаты. В первой части приведён анализ результатов полногеномного секвенирования шести штаммов *Rhizobium laguerreae* и таксономическое определение на основании сравнения средних нуклеотидных идентичностей (ANI) хромосомных и нехромосомных репликонов (контигов). Во второй части главы приведены сравнительные результаты инокуляции шестью штаммами *Rhizobium laguerreae* трёх генотипов гороха посевного. Представлены данные морфометрического и биохимического

анализа инокулированных растений, а также подробное описание морфологии, гистологической и ультраструктурной организации клубеньков для каждой из комбинаций штамма *Rhizobium laguerreae* с генотипом гороха. В третьей части проанализированы результаты сравнения штаммов *Rhizobium laguerreae* в их способности вызывать при формировании симбиоза с растениями гороха изменение поверхностных маркеров макропартнёра. Также в этой части работы приведено обсуждение различий штаммов с привлечением анализа полногеномного секвенирования, иммунолокализации липополисахаридов, а также транскриптомного анализа клубеньков, полученных после инокуляции штаммами AMPS04 и AMPS05, максимально контрастными по способности формировать эффективные клубеньки. В заключительной четвертой части раздела приведены результаты эксперимента инокуляции гороха сорта Rondo штаммами *Rhizobium laguerreae* с культивированием в условиях, когда температура превышала 30°C. В этой части работы на примере штаммов *Rhizobium laguerreae* AMPS23 и AMPS34 убедительно показано, что неблагоприятные факторы среды (повышенная температура) могут как улучшать, так и ухудшать симбиотическую совместимость ризобий с бобовыми растениями.

Обсуждение результатов проведено на высоком уровне с привлечением данных из литературы и сравнением с аналогичными системами. Выводы обобщают основные результаты исследований, полностью соответствуют поставленным задачам и подкреплены представленными экспериментальными результатами. Положения, выносимые на защиту, также обоснованы представленными в работе экспериментальными результатами.

Существенных замечаний к работе не имеется, однако следует отметить, что при описании изменений, происходящих в бактериальных клетках при переходе в бактериоиды, возможно более подробное описание перестроек надмолекулярных структур поверхности клеток, таких как клеточная стенка, жгутики и пили. Также анализ участия бактериальных липополисахаридов в симбиотической совместимости ограничился демонстрацией иммунохимических различий с модельным штаммом и выявлением генетических различий в модификации О-полисахарида без дальнейшего изучения их химического состава и структуры или влияния изолированных молекул на развитие симбиоза. Также в тексте диссертации имеется небольшое количество опечаток. Указанные замечания не снижают научной ценности работы.

В целом, диссертация представляет собой завершённую научно-исследовательскую работу, выполненную на высоком научном уровне, по актуальной теме исследования. По объёму выполненных исследований и практической значимости полученных результатов диссертационная работа вносит значительный вклад в развитие микробиологии клубеньковых бактерий. Содержание автореферата соответствует основным положениям и выводам

диссертационной работы. Диссертация соответствует паспорту специальности 1.5.11. Микробиология.

Заключение

Диссертация Киричека Е.А. на тему «Симбиотическая совместимость штаммов *Rhizobium laguerreae* и гороха посевного (*Pisum sativum* L.)» представляет собой завершённое исследование, вносящее значительный вклад в микробиологию клубеньковых бактерий и полностью соответствует требованиям и критериям, предъявляемым ВАК к работам на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.11. Микробиология (пункты 9-14 «Положения о порядке присуждения учёных степеней»), утверждённого постановлением правительства Российской Федерации №842 от 24 сентября 2013), а её автор, Киричек Е.А., заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.11. Микробиология.

Официальный оппонент

Бурыгин Геннадий Леонидович, кандидат биологических наук по специальностям 1.5.11. Микробиология и 1.5.4. Биохимия (ранее 03.00.07. микробиология и 03.00.04. биохимия), доцент по специальности «Микробиология», старший научный сотрудник 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».

Г.Л. Бурыгин

08.05.2026

Адрес: 410028, г. Саратов, ул. Рабочая, 24,
Телефон: +7(8452)970474, 970383
Электронная почта: buryingl@gmail.com

Я, Бурыгин Геннадий Леонидович, даю согласие на размещение моих персональных данных на официальном сайте ФИЦ «Фундаментальные основы Биотехнологии» РАН и в Федеральной информационной системе государственной научной аттестации, включение их в аттестационное дело и дальнейшую обработку.

Г.Л. Бурыгин

08.05.2026

Подпись к.б.н., доцента Бурыгина Г.Л. заверяю:
Директор ФИЦ «Саратовский научный центр РАН»
д.ф.н.



Б.Н. Хлебцов

8 мая 2026 г.