

Сведения о результатах публичной защиты

Китаевой Анне Борисовне

Диссертация «Сравнительный анализ организации тубулинового цитоскелета в ходе развития симбиотических клубеньков гороха посевного (*Pisum sativum*) и люцерны слабоусеченной (*Medicago truncatula*)»

Члены диссертационного совета Д 002.211.02, присутствовавшие на заседании по защите диссертации: д.б.н. Ярмишко В.Т., д.б.н. Лянгузова И.В., д.б.н. Буданцев А.Л., д.б.н. Горшков В.В., д.б.н. Казнина Н.М, д.б.н. Кислюк И.М., д.б.н. Медведев С.С., д.б.н. Нешатаева В.Ю., д.б.н. Новожилов Ю.К., д.б.н. Потемкин А.Д., д.б.н. Потокина Е.К., д.б.н. Родионов А.В., д.б.н. Сафронова И.Н., д.б.н. Холод С.С., д.б.н. Шереметьев С.Н., д.б.н. Шишова М.Ф., д.б.н. Шнеер В.С., д.б.н. Юрковская Т.К.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 002.211.02 НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ БОТАНИЧЕСКОГО ИНСТИТУТА ИМ. В.Л. КОМАРОВА РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 20 декабря 2018 г. № 92

О присуждении Китаевой Анне Борисовне, гражданке Российской Федерации, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Сравнительный анализ организации тубулинового цитоскелета в ходе развития симбиотических клубеньков гороха посевного (*Pisum sativum*) и люцерны слабоусеченной (*Medicago truncatula*)» по специальности 03.01.05 – «Физиология и биохимия растений» принята к защите «_17_» октября 2018 года, протокол № 85 диссертационным советом Д 002.211.02 на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Ботанического института им. В.Л. Комарова Российской академии наук, 197376, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, дом 2, приказы Рособнадзора № 737-465 от 04.04.2008, № 426-214 от 15.03.2010, приказы

Минобрнауки России № 194/нк от 22.04.2013, № 153/нк от 15.02.2016; № 403/нк от 10.05.2017; № 409/нк от 12.04.2018, приказ Министерства науки и высшего образования РФ № 175/нк от 02.10.18.

Соискатель Китаева Анна Борисовна, 1985 года рождения.

В 2008 г. окончила магистратуру Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Пушкинский государственный естественно-научный институт» по специальности «Биология». В 2011 г. окончила аспирантуру с отрывом от производства Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Всероссийского научно-исследовательского института сельскохозяйственной микробиологии» по специальности 03.02.03 «Микробиология». Работает младшим научным сотрудником в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии».

Диссертация выполнена в лаборатории молекулярной и клеточной биологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии».

Научный руководитель кандидат биологических наук, Цыганов Виктор Евгеньевич, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии», заведующий лабораторией молекулярной и клеточной биологии.

Официальные оппоненты:

ЛУТОВА Людмила Алексеевна, доктор биологических наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет», кафедра генетики и биотехнологии, профессор

ФЕДОРОВА Елена Эриковна, кандидат биологических наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт

физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук, группа растительно-микробных взаимодействий, ведущий научный сотрудник

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов Российской академии наук, г. Саратов, в своем положительном отзыве, подписанном Щеголевым Сергеем Юрьевичем, доктором химических наук, профессором, заведующим лабораторией иммунохимии и Венжик Юлией Валерьевной, кандидатом биологических наук, научным сотрудником лаборатории иммунохимии, указала, что диссертация А. Б. Китаевой является оригинальным законченным научно-квалификационным исследованием. В целом, работу отличает обилие высококачественных иллюстраций, использование разных методов исследования, в том числе успешная попытка количественно охарактеризовать полученные визуально результаты.

Автореферат соответствует содержанию диссертации. Материалы диссертации отражены в публикациях автора и апробированы на научных конференциях.

А.Б. Китаева решила поставленные в работе задачи, обосновала обширными фактическими материалами и анализом полученных данных выводы и положения, выносимые на защиту.

Соискатель имеет 25 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации опубликовано 25 работ, из них в рецензируемых научных изданиях опубликовано 4, 2 из них включены в базу Scopus.

Основные работы, опубликованные по теме диссертации

Статьи, опубликованные в журналах, рекомендованных ВАК РФ

1. Китаева А.Б., Кусакин П.Г., Демченко К.Н., Цыганов В.Е. Методические особенности изучения тубулинового цитоскелета в клубеньках бобовых растений // Сельскохозяйственная биология. – 2018. –Т. 53, – № 3. – С. 634–644.

2. Цыганова А.В., Китаева А.Б., Бревин Н.Дж., Цыганов В.Е. Клеточные механизмы развития симбиотических клубеньков у бобовых растений // Сельскохозяйственная биология. – 2011. – № 3. – С. 34–40

Публикации в изданиях, индексируемых в Scopus

3. Tsyganova A.V., Kitaeva A.B., Tsyganov V.E. Cell differentiation in nitrogen-fixing nodules hosting symbiosomes (review) // Functional Plant Biology. 2018. 45: 47–57.

4. Kitaeva A.B., Demchenko K.N., Tikhonovich I.A., Timmers A.C.J., Tsyganov V.E. Comparative analysis of the microtubular organization in nodules of *Medicago truncatula* and *Pisum sativum*: Bacterial release and bacteroid positioning correlate with characteristic microtubular rearrangements // New Phytologist. 2016. V. 210. N. 1. P. 168-183

Публикации в сборниках и материалах международных и всероссийских конференций

5. Kitaeva A.B., Kusakin P.G., Demchenko K.N., Tsyganov V.E. Actin cytoskeleton organization in symbiotic nodules of *Pisum sativum* L. and *Medicago truncatula* Gaertn. Proceedings of 10th Symposium of the International Society of Root Research. 8-12 July 2018. Israel, Tel-Aviv. P. 160.
6. Tsyganov V.E., Kitaeva A.B., Gorshkov A.P., Tsyganova A.V. Nucleus movement and cytoskeleton rearrangements during infected cell differentiation in symbiotic nodules of *Medicago truncatula* and *Pisum sativum*. Proceedings of the 20th International Congress on Nitrogen Fixation Granada, Spain, 3-7 September 2017, p.172
7. Китаева А.Б., Кусакин П.Г., Демченко К.Н., Цыганов В.Е. Организация актинового цитоскелета в клетках клубеньков гороха (*Pisum sativum* L.) и люцерны (*Medicago truncatula* Gaerth.). Сб. мат. докладов науч. конф. и школы для мол. уч. «Экспериментальная биология растений: фундаментальные и прикладные аспекты», Годичное собрание ОФР, Крым, Судак, 18-24 сентября 2017 г., С. 194.

8. Кусакин П.Г., Китаева А.Б., Цыганов В.Е. Иммунолокализация цитокинина в эффективных и неэффективных клубеньках гороха. Сб. мат. докладов науч. конф. и школы для мол. уч. «Экспериментальная биология растений: фундаментальные и прикладные аспекты», Годичное собрание ОФР, Крым, Судак, 18-24 сентября 2017 г., С. 212.
9. Цыганов В.Е., Китаева А.Б., Горшков А.П., Цыганова А.В. Реорганизация органелл в ходе дифференцировки растительной клетки азотфиксирующего клубенька. Сб. мат. докладов науч. конф. и школы для мол. уч. «Экспериментальная биология растений: фундаментальные и прикладные аспекты», Годичное собрание ОФР, Крым, Судак, 18-24 сентября 2017 г., С. 71.
10. Цыганов В.Е., Китаева А.Б., Цыганова А.В. Клеточные механизмы дифференцировки симбиотического клубенька. Сб. статей межд. науч.-практ. конф. «Вавиловские чтения – 2017», посвященной 130-й годовщине со дня рождения академика Н.И. Вавилова., Саратов, 15-17 ноября 2017 г., С. 175.
11. Kitaeva A.B., Demchenko K.N., Timmers T., Tsyganov V.E. The role of tubulin and actin cytoskeleton rearrangements during pea (*Pisum sativum* L.) symbiotic nodule development. Proceedings of 4th International Symposium on Plant Signaling and Behavior. Saint Petersburg, Russia, June 19 – 23, 2016, pp. 123-124.
12. Kitaeva A.B., Demchenko K.N., Timmers T., Tsyganov V.E. Comparative analysis of tubulin and actin cytoskeleton organization in symbiotic nodules of pea (*Pisum sativum* L.). Proceedings of 12th European Nitrogen Fixation Conference. Budapest, Hungary, 25 – 28 August 2016, p. 221.
13. Serova T.A., Kitaeva A.B., Ivanova K.A., Timmers T., Brewin N.J., Demchenko K.N., Tsyganova A.V., Tsyganov V.E. Molecular and cellular mechanisms of pea symbiotic nodule development. International Symposium on Plant Signaling and Behavior 2015, Paris, France, 29 June - 2 July 2015, P. 113.

14. Timmers T., Kitaeva A.B., Demchenko K.N., Tsyganov V.E. Hosting of rhizobia in indeterminate-type nodules. Материалы международной конференции «Генетическая интеграция прокариот и эукариот: фундаментальные исследования и современные агротехнологии», Санкт-Петербург, 24-27 июня 2015, С. 53
15. Tsyganova A.V., Kitaeva A.B., Ivanova K.A., Serova T.A., Kusakin P.G., Timmers T., Brewin N.J., Demchenko K.N., Tsyganov V.E. Molecular and cellular aspects of pea symbiotic nodule development. Материалы международной конференции «Генетическая интеграция прокариот и эукариот: фундаментальные исследования и современные агротехнологии», Санкт-Петербург, 24-27 июня 2015, С. 54.
16. Китаева А.Б., Демченко К.Н., Т. Тиммерс, Цыганов В.Е. Сравнительный анализ организации тубулинового цитоскелета в симбиотических клубеньках *Medicago truncatula* Gaerth. и *Pisum sativum* L. Материалы международной конференции «Генетическая интеграция прокариот и эукариот: фундаментальные исследования и современные агротехнологии», Санкт-Петербург, 24-27 июня 2015, С. 78.
17. Китаева А.Б., Демченко К.Н., Тиммерс Т., Цыганов В.Е. Реорганизация тубулинового цитоскелета в процессе дифференцировки клеток симбиотического клубенька *Medicago truncatula* Gaertn. Материалы Всероссийской научной конференции с международным участием и школы для молодых ученых «Растения в условиях глобальных и локальных природно-климатических и антропогенных воздействий», Петрозаводск, 21-26 сентября 2015, С. 256.
18. Китаева А.Б., Иванова К.А., Серова Т.А., Стефанов С.Ю., Кусакин П.Г., Горшков А.П., Чижевская Е.П., Демченко К.Н., Цыганова А.В., Цыганов В.Е. Молекулярно-генетические и клеточные механизмы развития бобово-ризобиального симбиоза. Материалы Всероссийской научной конференции с международным участием и школы для молодых ученых «Растения в условиях глобальных и локальных природно-

- климатических и антропогенных воздействий», Петрозаводск, 21-26 сентября 2015, С. 257.
19. Китаева А.Б., Демченко К.Н., Тиммерс Т., Цыганов В.Е. Материалы III (XI) Международной ботанической конференции молодых ученых, Санкт-Петербург, 4-9 октября 2015, С. 76.
20. Китаева А.Б., Демченко К.Н., Цыганова А.В., Цыганов В.Е. Молекулярно-генетические и клеточные механизмы развития симбиотических клубеньков гороха (*Pisum sativum* L.). Сборник тезисов VI Съезда ВОГИС и ассоциированных генетических симпозиумов. Ростов-на-Дону, 15 – 20 июня 2014 г. С. 190.
21. Kitaeva A.B., Demchenko K.N., Tikhonovich I.A., Timmers A.C.J., Tsyganov V.E. Comparative analysis of the tubulin cytoskeleton organization in nodules of *Medicago truncatula* and *Pisum sativum*: Bacterial release and bacteroid positioning correlate with characteristic microtubular rearrangements. Proceedings of 11th European Nitrogen Fixation Conference. Tenerife, Canary Islands, Spain. September 7 – 10, 2014. P. 219.
22. Китаева А.Б., Цыганов В.Е. Реорганизация микротрубочек в процессе дифференциации клеток клубенька гороха (*Pisum sativum* L.) // Материалы докладов VII съезд Общества физиологов растений России «Физиология растений – фундаментальная основа экологии и инновационных биотехнологий» 4-10 июля. Н. Новгород. 2011г., С. 337-338.
23. Цыганова А.В., Китаева А.Б., Цыганов В.Е. Клеточные механизмы развития эффективных и неэффективных симбиотических клубеньковых бобовых растений // Материалы докладов VII съезд Общества физиологов растений России «Физиология растений – фундаментальная основа экологии и инновационных биотехнологий» 4-10 июля. Н. Новгород. 2011г., С. 736-737.
24. Tsyganov V., Tsyganova A., Kitaeva A., Ivanova K., Brewin N. Molecular and cellular mechanisms of symbiotic nodule development. 7th International

Symposium: Structure and function of roots. Novy Smokovec, Slovakia. 5-9 September, 2011. P.186.

25. Kitaeva A.B., Tsyganov V.E. Microtubular rearrangements during cell differentiation in root nodules of *Pisum sativum* L. // The joint 5th Postgraduate Course and Minisymposium of AB-RMS, 16th Biotechnology Summer School of University of Gdansk, and 2nd Workshop of PAS and RAAS on Plant Molecular Biotechnology “Adaptation to Climate Change in the Baltic Sea Region: Contributions from Plant and Microbial Biotechnology” July 12 – 17, 2010, Mikkeli, Finland P.53.

На диссертацию и автореферат поступили 9 отзывов от:

1. Пановой Гаянэ Геннадьевны – к.б.н., в.н.с. Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Агрофизический научно-исследовательский институт»
2. Ганнибала Филиппа Борисовича – к.б.н., врио директора Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений»
3. Дейнеко Елены Викторовны – д.б.н., профессора, зав. лабораторией биоинженерии растений Федерального исследовательского центра Институт цитологии и генетики СО РАН и Сидорчука Юрия Владимировича – к.б.н., н.с. лабораторией биоинженерии растений Федерального исследовательского центра Институт цитологии и генетики СО РАН
4. Гармаш Елены Владимировны – к.б.н., с.н.с. лаборатории экологической физиологии растений Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт биологии Коми НЦ УрО РАН
5. Вишняковой Маргариты Афанасьевны – д.б.н., профессора, гл.н.с., и.о. зав. отд. генетических ресурсов зернобобовых культур Федерального государственного бюджетного научного учреждения

«Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова»

6. Будкевич Тамары Амвросиевны – к.б.н., с.н.с. отдела научно-технической информации и маркетинга Государственного научного учреждения «Институт экспериментальной ботаники имени В.Ф. Купревича НАН Беларуси» (Беларусь) и Домаш Валентины Иосифовны – д.б.н., зав. сектором метаболизма и функции белков растений Государственного научного учреждения «Институт экспериментальной ботаники имени В.Ф. Купревича НАН Беларуси» (Беларусь).
7. Егоровой Натальи Юрьевны – к.б.н., с.н.с. отдела экологии и ресурсоведения растений Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Всероссийского научно-исследовательского института охотничьего хозяйства и звероводства им. профессора Б.М. Житкова»
8. Топунова Алексея Федоровича – д.б.н., зав. лабораторией азотфиксации и метаболизма азота Федерального государственного учреждения Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН
9. Емельянова Владислава Владимировича – к.б.н., доцент кафедры генетики и биотехнологии ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургского государственного университета

Все отзывы положительные. В отзывах отмечено, что диссертационная работа является фундаментальным, актуальным, завершённым исследованием, отличается четкой структурой и логичностью изложения. Представленное диссертационное исследование выполнено на высоком теоретическом и методическом уровне с применением современных микроскопических и статистических методов, на обширном фактическом материале. Полученные диссертантом результаты отличаются новизной и оригинальностью. Выводы и положения, выносимые на защиту,

соответствуют полученным результатам, обоснованы и всецело раскрывают поставленные автором задачи.

В некоторых отзывах содержатся замечания, предложения, пожелания.

Емельянов Владислав Владимирович спрашивает: 1) почему в работе были использованы представители двух видов бобовых растений, обладающих одинаковым типом клубеньков? 2) в чем была необходимость у разных объектов использовать антитела к различным белкам для визуализации инфекционных капель и нитей? Кроме этого, Владислав Владимирович обращает внимание, что по тексту встречается ряд англицизмов, рис. 9 не переведен на русский язык, подписи к рисункам располагаются на нескольких страницах (что затрудняет чтение автореферата). Также Владислав Владимирович не соглашается с тем, что бобовые растения с помощью ризобий «накапливают атмосферный азот». По его мнению, бобовые растения трансформируют атмосферный азот в органический.

Дейнеко Елена Викторовна отмечает, что автореферат перегружен иллюстративным материалом, так как это затрудняет чтение. Также Елена Викторовна, обращает внимание на не корректную формулировку «для визуализации микротрубочек использовали репортерное слияние гена...», так как правильнее писать, что для визуализации микротрубочек использовали слияние фрагмента гена ... с геном зеленого флуоресцентного белка (GFP). Также Елена Викторовна отмечает наличие опечатки на стр. 3.

Ганнибал Филипп Борисович отмечает незначительные недочеты в оформлении автореферата и лаконичное заключение.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается тем, что Лутова Людмила Алексеевна является специалистом – генетиком и физиологом растений, имеющей публикации в области фитогормонального и генетического контроля латеральных меристем, Федорова Елена Эриковна является специалистом – физиологом и биохимиком растений, имеющего публикации в области растительно-микробных взаимодействий. Ведущая организация Федеральное

государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов Российской академии наук известна своими достижениями в области физиологии и биохимии растений и изучения взаимодействий высших растений и агробактерий, что позволяет организации определить научную и практическую значимость диссертации.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований: внесен существенный вклад в понимание клеточных механизмов дифференцировки клеток и развития инфекционных структур симбиотического клубенька; проанализирована организация тубулинового цитоскелета в клетках азотфиксирующих клубеньков *Pisum sativum* и *Medicago truncatula*; получены трехмерные изображения тубулинового цитоскелета для каждой гистологической зоны клубенька в клетках линий дикого типа и симбиотических мутантов обоих исследованных видов бобовых; выявлены различные паттерны тубулинового цитоскелета в инфицированных и неинфицированных клетках; показано, что выход ризобий в цитоплазму растительной клетки препятствует реорганизации кортикальных микротрубочек в упорядоченный паттерн, характерный для неинфицированных клеток, способствуя изодиаметрическому росту инфицированной клетки в процессе ее дифференцировки в клубеньках *P. sativum* и *M. truncatula*.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что: доказано, что эндоплазматические микротрубочки направляют развитие инфекционных структур (инфекционных нитей и капель) и организуют пространственное расположение симбиосом в клубеньках *P. sativum* и *M. truncatula*; выявлены видоспецифичные различия между паттернами эндоплазматических микротрубочек, вовлеченных в распределение симбиосом в цитоплазме клеток клубеньков *P. sativum* и *M. truncatula*.

При решении задач, поставленных в диссертации, эффективно (то есть с получением обладающих новизной результатов) использовано современное оборудование для получения изображений и проведен количественный анализ

изображений.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики определяется тем, что: полученные данные могут быть использованы в фундаментальных исследованиях при изучении растительной клетки; разработанная в ходе исследования методика визуализации тубулинового цитоскелета может быть применена при изучении различных клеточных структур; выявленные закономерности необходимо учитывать при создании высокоэффективных растительно-микробных систем.

Оценка достоверности результатов исследования выявила, что: идея исследования основана на анализе и обобщении литературных источников и обширного авторского материала; полученные автором теоретические выводы основаны на репрезентативном эмпирическом материале, полученном при анализе двух линий дикого типа и четырех мутантных линий *P. sativum* (по 250 клубеньков каждого генотипа) и линии дикого типа и трех мутантных линий *M. truncatula* (по 200 клубеньков каждого генотипа); установлено непротиворечие полученных результатов с результатами, представленными в независимых источниках; случаи несовпадения результатов подвергнуты аргументированному анализу.

Личный вклад автора состоит в том, что он принимал участие в получении растительного материала, пробоподготовке микроскопических препаратов, получении и обработке изображений, в применении количественного анализа полученных изображений, обобщил и интерпретировал результаты исследования.

Диссертация охватывает основные вопросы поставленной научной задачи и соответствует критерию внутреннего единства, что подтверждается наличием последовательного плана исследований, непротиворечивой методологической платформы, следованием основной идейной линии, концептуальностью и взаимосвязью выводов.

Диссертационным советом сделан вывод о том, что диссертация «Сравнительный анализ организации тубулинового цитоскелета в ходе

развития симбиотических клубеньков гороха посевного (*Pisum sativum*) и люцерны слабоусеченной (*Medicago truncatula*)» представляет собой научно-квалификационную работу и соответствует критериям, установленным в п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842.

На заседании 20 декабря 2018 г. диссертационный совет принял решение присудить Китаевой Анне Борисовне ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 18 человек, из них 8 докторов биологических наук по специальности 03.01.05 – «Физиология и биохимия растений», участвовавших в заседании, из 21 человека, входящих в состав совета, дополнительно введены на разовую защиту 0 человек, проголосовали: за 18, против нет, недействительных бюллетеней нет.

Председатель

диссертационного совета

Ярмишко Василий Трофимович

Ученый секретарь

диссертационного совета

Лянгузова Ирина Владимировна

20 декабря 2018 г.

