

Сведения о результатах публичной защиты

Серовой Татьяны Александровны

Диссертация «Молекулярно-генетические и физиологические механизмы старения симбиотического клубенька гороха посевного (*Pisum sativum* L.)»

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. Слемнев Н.Н., д.б.н. Андреев М.П., 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. Холод С.С., д.б.н. Шереметьев С.Н., д.б.н. Шишова М.Ф., д.б.н. Шнеер В.С.

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 13 ноября 2019 г. № 121

О присуждении Серовой Татьяне Александровне, гражданке Российской Федерации, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Молекулярно-генетические и физиологические механизмы старения симбиотического клубенька гороха посевного (*Pisum sativum* L.)» по специальности 03.01.05 – «Физиология и биохимия растений» принята к защите «_06_» июня 2019 года, протокол № 112 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, приказы Министерства науки и высшего образования РФ № 175/нк от 02.10.18, №335 от 17.04.19.

Соискатель Серова Татьяна Александровна, 1985 года рождения.

В 2008 г. окончила Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Уральский государственный университет им. А. М. Горького» по специальности «Биология», в 2010 г. окончила магистратуру Государственного образовательного учреждения высшего и профессионального образования Пущинского государственного университета по специальности «Биология». В 2013 г. окончила очную аспирантуру 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 доктор биологических наук, Цыганов Виктор Евгеньевич, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии», заведующий лабораторией молекулярной и клеточной биологии.

Официальные оппоненты:

ГОГОЛЕВ Юрий Викторович, доктор биологических наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Казанский институт биохимии и биофизики Казанского научного центра Российской академии наук, заведующий лабораторией молекулярной биологии

ЕМЕЛЬЯНОВ Владислав Владимирович, кандидат биологических

наук, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет», кафедра генетики и биотехнологии, доцент
дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация Институт биохимии и генетики – обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, г. Уфа, в своем положительном отзыве, подписанном Баймиевым Алексеем Ханифовичем, доктором биологических наук, заведующим лабораторией биоинженерии растений и микроорганизмов, указала, что диссертация Т. А. Серовой является оригинальной, самостоятельно выполненной, законченной научно-квалификационной работой, представляющей значительный научно-практический интерес, содержит решение актуальной научной задачи, имеющей существенное значение для физиологии и биохимии растений – исследование механизмов старения азотфиксирующего клубенька гороха посевного. В целом, работу отличает структурированность, наличие наглядных иллюстраций, высокий методический уровень с привлечением обширного спектра методов и подходов.

Автореферат диссертации полностью отражает структуру и основное содержание работы. Материалы диссертации отражены в публикациях автора и апробированы на научных конференциях.

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

Соискатель имеет 17 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации опубликовано 17 работ, из них в рецензируемых научных изданиях опубликовано 4, 3 из них включены в базу Web of Science.

Основные работы, опубликованные по теме диссертации

Статьи, опубликованные в журналах, рекомендованных ВАК РФ

1. **Serova T.A.**, Tsyganova A.V., Tikhonovich I.A., Tsyganov V.E. Gibberellins inhibit nodule senescence and stimulate nodule meristem bifurcation in pea (*Pisum sativum* L.) // *Frontiers in Plant Science*. 2019. V. 10: 285.
2. **Serova T.A.**, Tsyganova A.V., Tsyganov V.E. Early nodule senescence is activated in symbiotic mutants of pea (*Pisum sativum* L.) forming ineffective nodules blocked at different nodule developmental stages // *Protoplasma*. 2018. P.1-17.
3. **Serova T.A.**, Tikhonovich I.A., Tsyganov V.E. Analysis of nodule senescence in pea (*Pisum sativum* L.) using laser microdissection, real-time PCR, and ACC immunolocalization // *Journal of Plant Physiology*. 2017. V. 212. P. 29–44.
4. **Серова Т.А.**, Цыганов В.Е. Старение симбиотического клубенька у бобовых растений: молекулярно-генетические и клеточные аспекты // *Сельскохозяйственная биология*. 2014. Т.5. С.3-15.

Научно-методические рекомендации:

5. Цыганов В.Е., **Серова Т.А.** Научно-методические рекомендации по лазерной микродиссекции отдельных клеток или их групп из симбиотических структур бобовых, а также выделение из них нуклеиновых кислот (ДНК/РНК) для дальнейшего анализа // ГНУ ВНИИСХМ РАСХН. 2013. 24 с.

Публикации в сборниках и материалах международных и всероссийских конференций

6. **Serova T.**, Tsyganova A., Tikhonovich I., Tsyganov V. Gibberellins inhibit nodule senescence and stimulate nodule meristem bifurcation in *Pisum sativum*. 13th European nitrogen fixation conference. 18-21 August, 2018, Stockholm, Sweden. P. 165.
7. **Серова Т.А.**, Цыганов В.Е. Анализ негативной регуляции старения симбиотических клубеньков гиббереллинами у гороха (*Pisum sativum* L.). IV(XII) Международная ботаническая конференция молодых ученых. 22-28 апреля 2018, Санкт-Петербург, Россия. С. 183-184.

8. **Serova T.**, Tsyganov V. Molecular-genetic and physiological analysis of senescence of pea (*Pisum sativum* L.) symbiotic nodules. 12th European nitrogen fixation conference and the genomics of nitrogen-fixing organisms. 25-28 August, 2016, Budapest, Hungary. P. 285.
9. **Serova T.A.**, Tsyganov V.E. Analysis of expression of marker “senescence genes” and localization of gibberellins in pea (*Pisum sativum* L.) symbiotic nodules. 4th International Symposium on Plant Signaling and Behavior. 19-23 June, 2016, St.-Petersburg, Russia. P. 151.
10. **Серова Т.А.**, Цыганов В.Е. Анализ экспрессии маркерных «генов старения» и локализации гиббереллинов в симбиотических клубеньках гороха (*Pisum sativum* L.). Годичное собрание общества физиологов растений России и Научная конференция с международным участием и школа молодых ученых «Сигнальные системы растений: от рецептора до ответной реакции организма». 21-24 июня, 2016, Россия, Санкт-Петербург. С. 380-381.
11. **Серова Т.А.**, Цыганов В.Е. Молекулярные и клеточные аспекты старения симбиотических клубеньков у серии неэффективных мутантов гороха (*Pisum sativum* L.). III(XI) Международная ботаническая конференция молодых ученых. 4-9 октября, 2015, Санкт-Петербург, Россия. С. 82.
12. **Серова Т.А.**, Цыганов В.Е. Молекулярно-генетический анализ старения симбиотических клубеньков гороха (*Pisum sativum* L.). Всероссийская научная конференция с международным участием и школа для молодых ученых «Растения в условиях глобальных и локальных природно-климатических и антропогенных воздействий» и VIII Съезд Общества физиологов растений России. 21-26 сентября, 2015, Петрозаводск, Россия. С. 482.
13. **Серова Т.А.**, Цыганов В.Е. Молекулярно-генетический анализ старения симбиотических клубеньков у серии неэффективных мутантов гороха (*Pisum sativum* L.). Международная конференция «Генетическая интеграция про- и эукариот: фундаментальные исследования и современные агротехнологии», 25-27 июня, 2015, Санкт-Петербург, Россия.

14. **Серова Т.А.,** Цыганов В.Е. Исследование характера экспрессии маркерных «генов старения» в эффективных и неэффективных клубеньках гороха (*Pisum sativum* L.). VI всероссийская конференция молодых ученых «Стратегия взаимодействия микроорганизмов и растений с окружающей средой». 24-28 сентября, 2012, Саратов, Россия. С. 127.
15. **Серова Т.А.,** Цыганов В.Е. Анализ экспрессии маркерных «генов старения» в азотфиксирующих клубеньках у серии симбиотических мутантов гороха (*Pisum sativum* L.). II (X) Международная ботаническая конференция молодых ученых. 11-16 ноября, 2012, Санкт-Петербург, Россия. С. 69-70.
16. **Серова Т.А.,** Цыганов В.Е. Молекулярно-генетические механизмы старения симбиотического клубенька гороха (*Pisum sativum* L.). 18-ая международная школа-конференция молодых ученых «Биология – наука XXI века». 21-25 апреля, 2014, Пущино, Россия. С. 277.
17. **Серова Т.А.,** Цыганов В.Е. Выявление молекулярно-генетических механизмов старения симбиотического клубенька гороха (*Pisum sativum* L.). VI Съезд ВОГиС и ассоциированные генетические симпозиумы. 15-20 июня, 2014, Ростов-на-Дону, Россия. С. 203.

На диссертацию и автореферат поступили 12 отзывов от:

1. Яруллиной Любове Георгиевны – д.б.н., проф., в.н.с. лаборатории биохимии растений Института биохимии и генетики – обособленного структурного подразделения Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра РАН
2. Федоровой Елены Эриковны – к.б.н., в.н.с., зав. группой растительно-микробных взаимодействий Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН
3. Розова Сергея Михайловича – к.б.н., с.н.с. лаборатории биоинженерии растений Федерального исследовательского центра Институт цитологии и генетики СО РАН

4. Бурыгина Геннадия Леонидовича – к.б.н., доцента, с.н.с. лаборатории иммунохимии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН
5. Демидчика Вадима Викторовича – д.б.н., доцента, декана биологического факультета Белорусского государственного университета (Беларусь).
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).
7. Андропова Евгения Евгеньевича – к.б.н., в.н.с. лаборатории микробиологического мониторинга и биоремедиации почв Федерального государственного бюджетного учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии».
8. Белимова Андрея Алексеевича – д.б.н., заведующего лабораторией ризосферной микрофлоры Федерального государственного бюджетного учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии».
9. Долгих Вячеслава Васильевича – д.б.н., заведующего лабораторией молекулярной защиты растений Федерального государственного бюджетного учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений»
10. Топунова Алексея Федоровича – д.б.н., г.н.с., заведующего лабораторией биохимии азотфиксации и метаболизма азота Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы Биотехнологии» РАН»
11. Додуевой Ирины Евгеньевны – к.б.н., доцента кафедры генетики и биотехнологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургского государственного университета»

12. Лебедевой Марии Александровны – к.б.н., с.н.с. кафедры генетики и биотехнологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургского государственного университета»

Все отзывы положительные. В отзывах отмечено, что диссертационная работа является актуальным, завершенным исследованием, отличается последовательностью и обоснованностью методических подходов, логичностью изложения и высоким уровнем иллюстративного материала. Представленное диссертационное исследование выполнено на высоком теоретическом и методическом уровне с применением современных методов исследования и с использованием обширного фактического материала. Полученные диссертантом результаты отличаются новизной, оригинальностью, практической значимостью и достоверностью. Выводы соответствуют анализу изложенных результатов, хорошо обоснованы и убедительны.

В некоторых отзывах содержатся вопросы и замечания.

Бурыгин Геннадий Леонидович спрашивает: 1) чем обусловлено разделение автором генов *PsCyp1*, *PsCyp15a* и *PsTPP* на гены «цистеиновых» и «тиоловых» протеаз? В связи с тем, что в активных центрах цистеиновых протеаз находится тиоловая группа, термины «цистеиновая протеаза» и «тиоловая протеаза» зачастую считаются синонимичными 2) как автором интерпретируется отсутствие существенных различий в относительной экспрессии генов, предлагаемых на роль молекулярных маркеров старения клубенька, в клетках зон азотфиксации и старения гороха посевного (*Pisum sativum* L.) дикого типа SGE в клубеньках возрастом 4 недели после инокуляции (рис. 3 автореферата)? 3) окрашивались ли митохондрии растительных клеток йодидом пропидия при проведении гистохимических экспериментов по иммунолокализации 1-аминоциклопропан-1-карбоновой и гибберелловой кислот (рисунки 4-7)? Если да, то, каким способом

проводилось разделение инфицированных и неинфицированных клеток? Почему на рисунке 5 Ж, З, К и Л в неинфицированных клетках нет структур, окрашенных йодидом пропидия (ни ядра, ни митохондрий)?

Андронов Евгений Евгеньевич спрашивает: 1) есть ли у Автора соображения о природе факторов, запускающих процесс старения в симбиотическом клубеньке? 2) можно ли предположить, что в случаях естественного старения и неэффективного симбиоза процесс запускается одним и тем же фактором по сходному механизму? 3) в чем биологический смысл старта старения после цветения в природных условиях? 4) аббревиатура ГА₃ (с.3 Цель №5) и ГК₃ (с.4 Теоретическая и практическая ценность) – это одно и то же или нет?

Белимов Андрей Алексеевич обращает внимание, что в первом выводе следовало кратко сформулировать в чем конкретно заключалась оптимизация методик лазерной микродиссекции и проведения экспрессионного анализа полученного материала.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается тем, что Гоголев Юрий Викторович является специалистом – физиологом и биохимиком растений, имеющим публикации в области биологии растительно-микробных взаимодействий, Емельянов Владислав Владимирович является специалистом – физиологом и биохимиком растений, имеющим публикации в области гормональной регуляции у растений и биологии растительно-микробных взаимодействий. Ведущая организация Институт биохимии и генетики – обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук известна своими достижениями в области взаимодействий азотфиксирующих бактерий с растениями, что позволяет организации определить научную и практическую значимость диссертации.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований: внесен существенный вклад в более глубокое

понимание процесса старения симбиотического клубенька *Pisum sativum* и его гормональной регуляции; проанализирована экспрессия генов, ассоциированных со старением, как в целых клубеньках *P. sativum*, так и в отдельных зонах клубеньков дикого типа и мутантов, блокированных на различных стадиях развития симбиоза; выявлена локализация предшественника этилена, 1-аминоциклопропан-1-карбоновой кислоты (АЦК), в клубеньках дикого типа и мутантных линий *P. sativum*; выявлена локализация биоактивной формы гиббереллина (ГА₃) в клубеньках *P. sativum* дикого типа и мутантных линий. Впервые проведен комплексный анализ влияния экзогенной ГА₃ на развитие и функционирование симбиотических клубеньков растений *P. sativum*.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что: выявлены гены (*PsCyp15a*, *PsTPP*, *PsATB2*, *PsGA2ox1*, *PsACO1*, *PsNCED2* и *PsAO3*), которые могут являться адекватными молекулярными маркерами старения симбиотического клубенька *P. sativum*; показано, что гиббереллины способствуют задержке старения симбиотического клубенька *P. sativum* и участвуют в функционировании меристемы клубенька; показано, что этилен способствует старению симбиотического клубенька *P. sativum* и участвует в функционировании меристемы клубенька; показано, что старение симбиотического клубенька является универсальной реакцией на его неэффективность, индуцированную мутациями в генах макросимбионта.

При решении задач, поставленных в диссертации, эффективно (то есть с получением результатов, обладающих новизной) использовано современное оборудование для получения изображений, получения исходного материала для экспрессионного анализа различных зон симбиотического клубенька, проведения количественного анализа экспрессии генов.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики определяется тем, что: полученные данные могут быть использованы в фундаментальных исследованиях при изучении развития

симбиотического клубенька; оптимизированная в ходе исследования методика лазерной микродиссекции фиксированных тканей симбиотического клубенька может быть применена при анализе экспрессии генов в различных клетках и тканях симбиотического клубенька *P. sativum*; выявленные закономерности необходимо учитывать при создании высокоэффективных растительно-микробных систем с оптимальным периодом активной фиксации азота.

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 трех линий дикого типа и шести мутантных линий *P. sativum*; 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 препаратов для микроскопии и лазерной микродиссекции, получении и обработке изображений, пробоподготовке материала для экспрессионного анализа, проведении экспрессионного анализа, обобщил и интерпретировал результаты исследования, участвовал в подготовке основных публикаций по выполненной работе.

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 «Молекулярно-генетические и физиологические механизмы старения симбиотического клубенька гороха посевного (*Pisum sativum* L.)»

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 13 ноября 2019 г. диссертационный совет принял решение присудить Серовой Т. А. ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 18 человек, из них 10 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
д.б.н.

Ярмишко Василий Трофимович

Ученый секретарь

диссертационного совета
д.б.н.

Лянгузова Ирина Владимировна

13 ноября 2019 г.