

"УТВЕРЖДАЮ"

Директор Федерального государственного
бюджетного учреждения науки Института
биохимии и генетики Уфимского научного
центра Российской академии наук



д.б.н., проф. Вахитов В.А.
19 мая 2015 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

на диссертацию Омеличкиной Юлии Викторовны
«Ответные реакции растений на действие фитопатогена *Clavibacter michiganensis*
ssp. Sepedonicus при совместимых и несовместимых взаимоотношениях
организмов», представленную на соискание ученой степени кандидата
биологических наук по специальности
03.01.05 – физиология и биохимия растений

Актуальность темы диссертационной работы, научная новизна, практическая значимость, достоверность научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации.

Взаимоотношения растений и патогенных микроорганизмов – одно из успешно развиваемых направлений в современной физиологии и биохимии растений. В рамках этой проблемы особое внимание привлекают ключевые звенья реализации различных типов взаимоотношений в фитопатосистеме, определяющие исход взаимоотношения партнеров, а также параметры возбудителей болезни, определяющих их агрессивные и вирулентные свойства. Результаты таких исследований позволяют наметить подходы к разработке принципиально новых методов оценки устойчивости растений и дают материал для создания и использования в сельском хозяйстве экологически безопасных средств защиты растений. Поэтому диссертация Юлии Викторовны Омеличкиной, в которой представлены данные развития ответных реакций растений на действие фитопатогена *Clavibacter michiganensis ssp. sepedonicus* на уровне клетки и целого растения при совместимых и несовместимых взаимоотношениях организмов, является весьма актуальной.

Четкая постановка цели и, как следствие, решаемые при этом задачи, такие

как анализ развития ответных реакций культур клеток табака на действие фитопатогена *Clavibacter michiganensis*, способности экзометаболитов бактерии индуцировать развитие защитных реакций растений табака и картофеля *in vivo* и *in vitro*, определение участия белков теплового шока в развитии защитных реакций растений на действие патогена, сравнительная оценка влияния растений табака и картофеля на способность фитопатогена *C. michiganensis* и непатогена *E. coli* формировать биопленки, позволили диссертанту получить новые данные. Показано, что при инфицировании табака *C. michiganensis ssp. Sepedonicus* развитие реакции сверхчувствительности происходит на двух уровнях организации растительного организма – культуры клеток и целого растения; СЧ – реакция проявляется не только на листьях, но и на кончиках корней табака; развитие реакций эффектор-активируемого иммунитета у растений вызывает как сама *C. michiganensis ssp. Sepedonicus Cms*, так и ее экзометаболиты; искусственное повышение экспрессии белков теплового шока модулирует развитие реакций специфического эффектор-активируемого иммунитета и обеспечивает повышение жизнеспособности клеток картофеля при действии *C. michiganensis ssp. Sepedonicus*; растения табака и картофеля влияют на способность *C. michiganensis ssp. sepedonicus* формировать биопленки в зависимости от видовой и сортовой резистентности к фитопатогену.

Полученные в работе данные важны и в практическом отношении. Это касается разработки новых экологически безопасных подходов защиты растений посредством активации собственных иммунных систем растения, что позволит отказаться от существующих в настоящее время средств борьбы с патогенами, оказывающих негативное влияние на почвенные микробиоценозы и на здоровье человека.

Анализ диссертации.

Диссертационная работа Ю.В. Омеличкиной изложена на 162 страницах машинописного текста, построена по классической схеме и состоит из введения, обзора литературы, описания объектов и методов исследований, изложения результатов исследований и их обсуждения, заключения, выводов и списка цитированной литературы, включающего 292 источника, из которых 269 иностранных. Диссертация иллюстрирована 37 рисунками, содержит 1 таблицу.

Глава I. «Обзор литературы». Обзор литературы написан хорошим литературным языком и посвящен детальному анализу функционирования многоуровневой иммунной системы растений (паттерн-активируемый иммунитет, эффектор-активируемый иммунитет, «зигзаг модель» врожденной иммунной системы), уделено внимание развитию реакции сверхчувствительности, в том числе, типам клеточной смерти, ферментным системам, участвующим в гибели клеток, системной приобретенной устойчивости, участием белков теплового шока в иммунных реакциях растений, особенностям формирования биопленок бактериями на растениях различной устойчивости. Работы по данным разделам рассматриваются в историческом аспекте, т.е. кроме классических (фундаментальных), Ю.В. Омеличкина анализирует литературные данные последних лет, что свидетельствует о владении научным материалом в исследуемой области. Импонирует, что обзор литературы завершается кратким обобщением тех аспектов в исследуемой области, которые требуют пристального внимания исследователей.

Глава II. «Объекты и методы исследования». Работа выполнена с привлечением современных методов исследования (физиологических, цитохимических, биохимических, молекулярных), что свидетельствует о высоком методическом уровне исследований. Все они изложены достаточно полно, что свидетельствует о хорошей методической подготовке диссертанта. Следует также отметить удачный выбор объектов исследований: картофель, как растение-хозяин и табак, как растение-нехозяин, что позволило выявить закономерности развития ответных реакций на действие фитопатогена *Clavibacter michiganensis ssp. sepedonicus* при совместимых и несовместимых взаимоотношениях организмов, так и особенности, характерные отдельным патосистемам. Несомненным достоинством работы является использование в исследованиях суспензионных культур. Сочетание всех этих подходов позволило получить разносторонние результаты, отражающие сложность исследуемой системы и стимулирующие развитие новых представлений.

Глава III. «Результаты и их обсуждение». В данной главе излагаются и обсуждаются результаты, полученные при выполнении диссертационной работы. Это касается анализа ответных реакций растений табака и картофеля *in vitro* и *in*

vivo на действие фитопатогена *Clavibacter michiganensis*. Диссертантом показано, что при несовместимых взаимоотношениях (*N. tabacum*-*C. michiganensis*), а также при воздействии экзометаболитов бактерии, происходит индукция специфического эффектор-активируемого иммунитета, обусловленного накоплением пероксида водорода, развитием реакции сверхчувствительности, формированием системной приобретенной устойчивости. Причем, развитие реакции сверхчувствительности происходит на уровне культуры клеток и целого растения.

Несомненный интерес вызывают результаты действия патогенной бактерии *C. michiganensis* на устойчивый сорт картофеля, приводящее к двухфазному повышению уровня пероксида водорода, индукции эффектор-активируемого иммунитета, характерного для несовместимого типа взаимоотношений, выяснения роли белков теплового шока в формировании и развитии иммунитета растений при совместимых и несовместимых взаимоотношениях организмов, способности бактерии *C. michiganensis* формировать биопленки в зависимости от вида и резистентности растения.

Закключение суммирует полученные результаты. Было бы интересно дополнить его обсуждением практических перспектив исследований.

Замечания.

1. Из данных, представленных на рис. 3.5 диссертации видно, что нанесение суспензии, как и инъекция, нетипичного для растений табака патогена *E. coli* не вызывало развитие некроза на листе. Так, на стр. 77: «Это свидетельствует о том, что ... *E. coli* не вызывает развитие видимых ответных реакций, а именно СЧ реакцию у растений табака. Полученные результаты согласуются с основными положениями теории фитоиммунитета: развитие реакции сверхчувствительности возможно при наличии у патогена эффекторов, а у растения – рецепторов, специфически их распознающих и появившихся в ходе длительной эволюции. В системе нетипичный для растений патоген *E.coli* – табак сопряженной эволюции не происходило». Однако инъекция *E. coli* в листья растений табака, предварительно зараженных бактерией *C. ichiganensis* приводила к появлению локальных некрозов (развитие СЧ - реакции) в месте вторичной обработки (Рис. 3.6.). Каков механизм развития

- СЧ реакции в данном случае? Является ли некроз при этом ответной реакцией на воздействие *E. coli*, либо на метаболиты *C. michiganensis*?
2. Было бы логично дополнить работу схемой, отражающей ответные реакции растений на действие *C. michiganensis ssp. sepedonicus* при совместимых и несовместимых взаимоотношениях организмов.
 3. В качестве технических замечаний по оформлению работы следует указать наличие ошибок и опечаток в тексте диссертации.

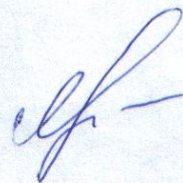
Несмотря на отмеченные замечания, в целом работа производит хорошее впечатление. Виден большой личный вклад соискателя в разработку научной проблемы. Диссертация Ю.В. Омеличкиной в равной степени интересна в научно-теоретическом и практическом планах. Ее результаты могут быть использованы как при чтении лекций по физиологии и биохимии растений в университетах и сельскохозяйственных ВУЗах, так и учреждениях, занимающихся поиском и созданием препаратов, стимулирующих устойчивость и повышающих урожайность растений. Обоснованность и достоверность полученных результатов базируется на достаточном объеме проведенных экспериментальных исследований и их высоком методическом уровне. Материалы диссертации обсуждены на научных конференциях разного уровня. Результаты исследований полностью отражены в 12 научных изданиях, среди которых 5 статей из перечня ВАК.

Заключение. На основании представленной диссертации и автореферата, можно заключить, что настоящая работа Ю.В. Омеличкиной базируется на собранных ею оригинальных экспериментальных данных, обработанных материалах, сделанных обобщениях и представляет собой завершённую квалификационную научно-исследовательскую работу, в которой содержится решение задачи развития ответных реакций растений на действие фитопатогена *Clavibacter michiganensis ssp. sepedonicus* на уровне клетки и целого растения при совместимых и несовместимых взаимоотношениях организмов, имеющей существенное значение для физиологии и биохимии растений. Результаты, полученные диссертантом, имеют важное значение для науки и практики. **Выводы,** сделанные на основании полученных результатов, конкретны и обоснованы. Автореферат полностью отражает основное содержание диссертации. По

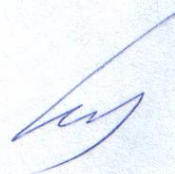
актуальности темы, новизне полученных данных и научно-практической значимости диссертационная работа Ю.В. Омеличкиной «Ответные реакции растений на действие фитопатогена *Clavibacter michiganensis ssp. Sepedonicus* при совместимых и несовместимых взаимоотношениях организмов», отвечает требованиям «Положения о порядке присуждения учёных степеней» ВАК Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 г. а ее автор, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.05. — «Физиология и биохимия растений».

Отзыв обсужден на объединенном семинаре лабораторий биохимии иммунитета растений и молекулярных механизмов устойчивости растений к стрессам Федерального государственного бюджетное учреждение науки Института биохимии и генетики Уфимского научного центра Российской академии наук (протокол № 4 от 19 мая 2015 г.).

Ведущий научный сотрудник
лаборатории биохимии иммунитета растений,
доктор биологических наук
Любовь Георгиевна Яруллина



Заведующая лабораторией молекулярных
механизмов устойчивости растений к стрессам,
доктор биологических наук, профессор
Фарида Миннихановна Шакирова



450054, г. Уфа, проспект Октября, 71
Тел. 8(347)235-60-88, E-mail: molgen@anrb.ru

Подписи Л.Г. Яруллиной и Ф.М. Шакировой заверяю:
Ученый секретарь ИБГ УНЦ РАН, д.б.н.



Ф.Р. Гималов