

УТВЕРЖДАЮ:

Директор Федерального
Государственного Бюджетного
Научного Учреждения
«Всероссийский научно-
исследовательский институт
сельскохозяйственной
микробиологии»,
доктор биологических наук



Н. Пров Проворов Н. А.
«04» марта 2020 г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Федерального Государственного Бюджетного Научного Учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии»

Диссертация «Характеристика гена *LycX*, определяющего специфичность взаимодействий гороха посевного (*Pisum sativum* L.) с клубеньковыми бактериями *Rhizobium leguminosarum*» выполнена в лаборатории генетики растительно-микробных взаимодействий Федерального Государственного Бюджетного Научного Учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии».

В период подготовки диссертации соискатель Сулима Антон Сергеевич работал в Федеральном Государственном Бюджетном Научном Учреждении «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии», в лаборатории генетики растительно-микробных взаимодействий, в должности инженера-исследователя с 2012 по 2018 гг., младшего научного сотрудника с 2018 г по настоящее время.

В 2010 г. Сулима А.С. окончил бакалавриат Федерального Государственного Бюджетного Образовательного Учреждения Высшего Образования «Санкт-Петербургский государственный университет» по специальности «Биология».

В 2012 г. окончил магистратуру Федерального Государственного Бюджетного Образовательного Учреждения Высшего Образования «Санкт-Петербургский государственный университет» по специальности «Биология».

В 2015 г. окончил аспирантуру очной формы обучения Федеральном Государственном Бюджетном Научном Учреждении «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии» по специальности 03.02.03 – микробиология.

В 2019 году сдал кандидатский экзамен по специальности 03.02.07 – генетика в Федеральном Государственном Бюджетном Научном Учреждении «Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова».

Справка о сдаче кандидатских экзаменов выдана в 2019 г. Федеральном Государственном Бюджетном Научном Учреждении «Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова».

Научный руководитель: кандидат биологических наук Жуков Владимир Александрович, заведующий лабораторией генетики растительно-микробных взаимодействий Федерального Государственного Бюджетного Научного Учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии».

По итогам обсуждения принято следующее заключение:

Оценка выполненной соискателем работы: цель представленной диссертационной работы – молекулярно-биологическая и генетическая характеристика ранее неизвестного гена *LycX* гороха посевного и установление его функции в клубеньковом симбиозе – была достигнута, все поставленные задачи успешно выполнены.

Актуальность исследования: более 80-ти лет назад у гороха посевного (*Pisum sativum* L.) был описан ген *Sym2*, аллельное состояние которого определяет узкую или широкую специфичность симбиоза с клубеньковыми бактериями (ризобиями). Феномен узкой специфичности был назван «афганским» фенотипом, но нуклеотидная последовательность и точная функция гена *Sym2* до недавнего времени оставались неизвестными. Регион локализации *Sym2* в геноме гороха содержит несколько весьма сходных по последовательности генов рецепторных киназ, возникших, очевидно, в процессе древней мультимпликации предкового гена, и в отсутствие достаточных знаний о геноме работа с ними была затруднена. Ещё одним существенным препятствием в поиске *Sym2* было отсутствие аналога узкой «афганской» специфичности симбиоза у других модельных бобовых растений, в частности, люцерны слабоусечённой (*Medicago truncatula* Gaertn.). В ходе выполнения диссертационной работы был обнаружен и охарактеризован неизвестный ранее ген гороха *LycX*, кодирующий белок из семейства рецепторных киназ. Было показано, что ген *LycX* обладает всем комплексом признаков, характерных для *Sym2*, что позволило признать эти два гена тождественными друг другу. Тема диссертационной работы соответствует магистральному направлению исследований лаборатории генетики растительно-микробных взаимодействий Федерального Государственного Бюджетного Научного Учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии». Результаты диссертационного исследования были получены, в частности, при поддержке следующих грантов:

РФФИ 12-04-32126 мол_а «"Неуловимый" ген *Sym2* гороха посевного (*Pisum sativum* L.), контролирующей специфичность взаимодействия с клубеньковыми бактериями» (2012-2013); руководитель – Жуков В.А.

РФФИ 14-04-32289 мол_а «Рецепторные киназы гороха и их роль в симбиозе и морфогенезе растения» (2014-2015); руководитель – Сулима А.С.

РФФИ 15-29-02737 офи_м «Биоразнообразии бобовых растений по рецепторам веществ, влияющих на эффективность симбиоза с ризобиями» (2015-2017); руководитель – Лутова Л.А.

По теме диссертационного исследования опубликовано 3 статьи в изданиях, индексируемых в базах данных Web of Science и Scopus (Frontiers in Plant Science; PeerJ; Сельскохозяйственная биология). Основные результаты исследования были представлены на российских и зарубежных конференциях: Европейской конференции по азотфиксации (ENFC) в 2012 и 2016 гг., Всемирном конгрессе по азотфиксации (ICNF) в 2015 г., Международной конференции PlantGen в 2015 г, Международной конференции PLAMIC в 2018 г, Международной Пущинской школе-конференции молодых учёных «БИОЛОГИЯ – НАУКА XXI ВЕКА» в 2010 и 2012-2017 гг.

Научная новизна работы: в ходе выполнения диссертационного исследования с помощью скрининга ВАС-библиотеки гороха в регионе локализации гена *Sym2* была впервые

выявлена полная последовательность уникального для гороха гена рецепторной киназы из семейства LysM-RLK, получившего название *LykX*. Было продемонстрировано, что данный ген имеет два характерных аллельных состояния, коррелирующих с проявлением «афганского» фенотипа (узкой специфичности клубенькового симбиоза, связанной с особым восприятием бактериальных сигнальных молекул) и влияющих на аминокислотный состав кодируемого белка. Впервые было показано, что две группы гороха с узкой специфичностью к микросимбионту, различающиеся аллельным состоянием гена *LykX* (т.н. «афганская» и «таджикская» группы), сформировались независимо друг от друга, и что признак широкой (т.н. «европейской») специфичности симбиоза является не менее древним, чем признак узкой специфичности. Впервые был описан симбиотический фенотип мутантов по гену *LykX*; сделан вывод о важности гена *LykX* для успешного проникновения бактерий в клетки корневых волосков гороха. Тест на аллелизм мутаций в гене *LykX* и природных аллелей гена *Sym2* (коррелирующих с широкой и узкой специфичностью симбиоза) подтвердил гипотезу о тождественности генов *LykX* и *Sym2*. Была предложена модель, подразумевающая наличие у гороха сразу двух специфичных рецепторов к Nod-фактору (*Sym37* и *Sym2*), взаимодействующих с противоположными концами бактериальной сигнальной молекулы.

Личное участие соискателя в получении результатов, изложенных в диссертации: основные результаты, изложенные в диссертации, получены автором самостоятельно в лаборатории генетики растительно-микробных взаимодействий Федерального Государственного Бюджетного Научного Учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии» в период с 2011 по 2019 гг. Автор лично осуществлял анализ литературных данных по теме работы, планирование экспериментов, проведение полевых опытов и лабораторных исследований, обработку и интерпретацию полученных данных, подготовку материалов для публикации статей и докладов на конференциях. В случаях задействования в работе сторонних организаций (скрининг ВАС-библиотеки гороха, поиск мутаций методом TILLING) автор принимал непосредственное участие в подготовке проб для анализа. Рукопись диссертации подготовлена лично автором.

Степень достоверности полученных результатов: обоснованность и достоверность полученных результатов и сделанных выводов подтверждается большим объемом экспериментальных данных. Полученные данные базируются на общепризнанных молекулярно-генетических методах и согласуются с данными литературы. Обработка данных проведена актуальными и адекватными методами статистического и биоинформатического анализа с помощью современных компьютерных программ.

Ценность полученных результатов и их практическая значимость: обнаружение гена *LykX* и доказательство его тождественности гену *Sym2* вносят вклад в изучение фундаментальной проблемы межорганизменных взаимодействий по принципу «ген-на-ген», лежащих в основе клубенькового симбиоза бобовых растений. Выявление двух групп гороха, проявляющих одинаково узкую специфичность симбиоза, но различных по аллельному состоянию гена *LykX* (*Sym2*), уточняет представления об эволюции клубенькового симбиоза гороха в контексте его окультуривания и активного распространения. Показано неоднократное, и, по-видимому, независимое появление узкоспецифичных аллелей *Sym2* («афганской» и «таджикской») на основе широкоспецифичной «европейской» аллели, обнаруженной также у диких родственников гороха посевного, *P. sativum* ssp. *elatius* и *P. fulvum*. Понимание молекулярно-генетических процессов, определяющих специфичность бобово-ризобиального симбиоза, является основой для направленного конструирования комплементарных пар симбионтов, эффективно осуществляющих процесс биологической азотфиксации. В связи с этим выявление и описание гена *LykX* (*Sym2*) представляет

практическую ценность для создания новых сортов гороха. Знания о последовательностях разных аллелей *LykX* (*Sym2*) могут лечь в основу молекулярного маркера для селекции по признаку специфичности симбиоза.

Специальность, которой соответствует диссертация: диссертация «Характеристика гена *LykX*, определяющего специфичность взаимодействий гороха посевного (*Pisum sativum* L.) с клубеньковыми бактериями *Rhizobium leguminosarum*» Сулимы Антона Сергеевича является завершённой научно-исследовательской работой и соответствует специальности 03.02.07 – генетика (биологические науки).

Полнота изложения материалов диссертации в работах, опубликованных соискателем: все основные положения диссертации изложены в трех научных статьях, а также в тезисах международных конференций.

Диссертация «Характеристика гена *LykX*, определяющего специфичность взаимодействий гороха посевного (*Pisum sativum* L.) с клубеньковыми бактериями *Rhizobium leguminosarum*» Сулимы Антона Сергеевича рекомендуется к защите на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – генетика (биологические науки).

Заключение принято на заседании Учёного совета Федерального Государственного Бюджетного Научного Учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии». Присутствовало на заседании 48 человек, в том числе 19 членов Учёного совета. Результаты голосования: «за» – 19 чел., «против» – нет, «воздержалось» – нет, протокол № 8 от «18» декабря 2018 г.

Алисова Светлана Михайловна,
кандидат биологических наук,
старший научный сотрудник,
секретарь Учёного совета, учёный секретарь института
E-mail: arriam2008@yandex.ru; тел.: 8 (812) 470-51-00



Федеральное Государственное Бюджетное Научное Учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии»

Адрес: 196608, Санкт-Петербург-Пушкин, шоссе Подбельского, 3.