

УТВЕРЖДАЮ
Директор Федерального государственного
бюджетного учреждения науки
«Федеральный исследовательский центр
«Казанский научный центр Российской
академии наук»»



Калачев А.А.

2021 г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Казанский научный центр Российской академии наук»»

Диссертация «Роль экстраклеточных полисахаридов фитопатогенной бактерии *Pectobacterium atrosepticum* SCRI1043 в формировании растительно-микробной патосистемы» выполнена в Казанском институте биохимии и биофизики – обособленном структурном подразделении Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центра «Казанский научный центр Российской академии наук»».

В период подготовки диссертации соискатель Исламов Бахтияр Рамилевич работал в Казанском институте биохимии и биофизики – обособленном структурном подразделении Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центра «Казанский научный центр Российской академии наук»», в лаборатории молекулярной биологии, м.н.с. В 2017 г. окончил Казанский (Приволжский) Федеральный Университет по специальности биолог.

Удостоверение о сдаче кандидатских экзаменов выдано в 2021 г.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Федеральный исследовательский центр «Казанский научный центр Российской академии наук»

Научный руководитель – Горшков Владимир Юрьевич, Казанский институт биохимии и биофизики – обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центра «Казанский научный центр Российской академии наук», лаборатория молекулярной биологии, в.н.с.

Диссертация Исламова Б.Р. обсуждалась на заседании расширенного научного семинара в Казанском институте биохимии и биофизики – обособленном структурном подразделении Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Казанский научный центр Российской академии наук»» отделами «Клеточная сигнализация», «Физиология и молекулярная биология растений», «Медико-биологические исследования».

При обсуждении диссертации соискателю были заданы следующие вопросы:

к.б.н. Козлова Л.В.: В чём физиологический смысл в том, что пектобактерии при голодании начинают вырабатывать экстраклеточные полисахариды?

к.б.н. Микшина П.В.: Механизмы образования экзополисахаридов? Образование экзополисахаридов происходит во время синтеза?

к.б.н. Козлова Л.В.: Каким образом из растительных клеточных стенок выщепляется рамногалактуронан I в люмен сосудов? Как это происходит? Известно ли, какие ферменты могут участвовать в этом процессе?

д.б.н. Каюмов А.Р.: На слайде №11 у вас идёт анализ моносахаридного состава гидролизата? Вы проводили анализ супернатантов, которые получали *in vitro*? Почему вы не изучали экзополисахариды пектобактерий *in planta*?

д.б.н. Каюмов А.Р.: Вы культивировали бактерии *in vitro* в без углеродной среде. Это происходило с качанием колбы или в статических условиях?

д.б.н. Каюмов А.Р.: Есть ли основания говорить, что состав экзополисахаридов, которые синтезируются в растении сходен с составом экзополисахаридов, которые вы получаете *in vitro*?

д.б.н. Каюмов А.Р.: Стоит объединить некоторые задачи, представленные в работе.

к.б.н. Мокшина Н.Е.: На сколько универсален процесс биосинтеза экстраклеточных полисахаридов бактериями?

к.б.н. Мокшина Н.Е.: На сколько вы проводили проверку, есть ли минимальное количество углевода в среде, когда бактерия может синтезировать экзополисахариды?

к.б.н. Мокшина Н.Е.: Есть ли кроме голодания, какие-нибудь индукторы синтеза полисахаридов?

к.б.н. Сибгатуллин Т.А.: Диапазон массы экзополисахаридов, которые синтезируют пектобактерии?

к.б.н. Сибгатуллин Т.А.: Может вас следуют объединить выводы № 4 и №5.

к.б.н. Сибгатуллин Т.А.: Следует объединить задачи № 4 и №5.

к.б.н. Сибгатуллин Т.А.: Нужно ли приводить в выводах точные размеры частиц экстраклеточных полисахаридов пектобактерий?

к.б.н. Сибгатуллин Т.А.: Вам важен факт способности экзополисахаридов к агрегации. Определение размеров агрегации частиц экзополисахаридов пектобактерий методом динамического светорассеяния под большим вопросом. На сколько вы уверены, что размеры частиц соответствует реальным?

к.б.н. Сибгатуллин Т.А.: Можно было ли проверить размер агрегатом микроскопическими методами?

к.б.н. Сибгатуллин Т.А.: Влияет ли способность агрегировать частиц экзополисахаридов пектобактерий на изменения вязкости?

д.б.н., проф. Чернов В.М.: Вы пытались или выделяли экзополисахариды пектобактерий из инфицированных растений?

д.б.н., проф. Чернов В.М.: Что такое количественный иммунный ответ?

к.б.н. Козлова Л.В.: На слайде №28 показаны результаты динамического светорассеяния. Там показаны три типа частиц: большие, средние, маленькие. Что происходит с маленькими частицами при изменении концентрации?

к.б.н. Козлова Л.В.: Полученные данные по светорассеиванию соответствуют хроматографическим данным?

к.б.н. Микшина П.В.: Сравнили ли вы данные полученные методом хроматографии и динамического светорассеяния? Какая концентрация хроматографических данных соотносится с концентрацией данных динамического светорассеяния?

д.б.н. Каюмов А.Р.: Не пробовали сравнить размеры частиц экзополисахаридов пектобактерий с другими экзополисахаридами?

к.б.н. Мокшина Н.Е.: Только *Pectobacterium atrosepticum* способен синтезировать экзополисахариды или другие пектобактерии тоже способны синтезировать их?

к.б.н. Мокшина Н.Е.: Если лишить фитопатогенную бактерию *Pectobacterium atrosepticum* способности синтезировать экстраклеточные полисахариды то, что произойдет с бактериями и их способностью формировать эмболы?

к.б.н. Сибгатуллин Т.А.: Обобщающее заключение? Как способности экзополисахаридов пектобактерий увеличивать вязкость, влиять на иммунитет и предохранять клетки бактерий от активных форм кислорода могут участвовать во взаимодействии бактерий с растениями?

Соискатель дал исчерпывающие ответы на все вопросы.

С рецензией на работу выступила д.б.н. Миннибаева Ф.В.

Диссертационная работа Б.Р. Исламова посвящена детальной расшифровке механизмов взаимодействия бактерии *Pectobacterium atrosepticum* с растениями,

опосредованного экстраклеточными полисахаридами (ЭПС). Несмотря на длительную историю изучения проблемы взаимоотношения патоген/растение-хозяин, до настоящего времени углеводам патогена отводилась довольно узкоспецифичная роль. Появляющиеся новые данные свидетельствуют о неоднозначности характера взаимоотношений между патогеном и растением с многими малоизученными компонентами. В связи с этим, актуальность работы Б.Р. Исламова и ее соответствие тенденциям мировой науки не вызывает сомнений.

Обзор литературы, сделанный диссертантом, подробно описывает состояние научной проблемы, автор критически обсуждает имеющиеся данные. В заключении к Обзору автор отмечает, что пектобактерии обладают внушительным арсеналом факторов вирулентности, которые обеспечивают возможность взаимодействия этих микроорганизмов с растениями-хозяевами. Автор особо подчеркивает роль экстраклеточного матрикса, объединяющего микробные клетки в единую систему. Основным компонентом такого матрикса служат продуцируемые бактериями ЭПС. В связи с этим, диссертационная работа Б.Р. Исламова посвящена идентификации ЭПС пектобактерий, расшифровке их молекулярной структуры и оценке возможности участия этих полимеров в формировании растительно-микробной патосистемы.

Экспериментальная часть работы начинается с описания объекта исследования и методов, использованных в диссертации. Для достижения поставленных задач автором применялся широкий круг классических и современных методов физиологии, биохимии, биофизики и микроскопии. Результаты изложены последовательно и раскрывают суть выполненного исследования. Одним из основных достижений настоящей работы является факт обнаружения ЭПС в составе экстраклеточного матрикса бактериальных эмболов, образующихся в сосудах первичной ксилемы растений, инфицированных фитопатогенными бактериями *P. atrosepaticum*. Автором расшифрована химическая структура этих полимеров, а также выяснено их функциональное значение по обеспечению структурной целостности бактериальных эмболов, защите клеток бактерий от действия окислителей и подавлении фитоиммунных ответов растений-хозяев. Эти результаты определяют научную новизну работы.

Практическая значимость диссертационной работы Б.Р. Исламова заключается в том, что результаты работы могут служить основой для создания новых способов контроля мягких гнилей, вызываемых пектобактериями. Физико-химические свойства

ЭПС свидетельствуют о перспективах их использования в различных отраслях промышленности, медицины и сельского хозяйства.

Результаты проведенного исследования представляются достоверными, они иллюстрированы рисунками и таблицами. Выводы обоснованы и соответствуют задачам проведенного исследования.

При общем благоприятном впечатлении о диссертационной работе и положительной оценке диссертации Б.Р. Исламова хотелось бы отметить, что необходима осторожность в интерпретации данных о свойствах ЭПС в культивируемых бактериях и бактериях, колонизировавших растение. Кроме того, есть замечания по некоторым неудачным выражениям, некорректным ссылкам в обзоре литературы, недостаточно тщательной пунктуации, опечаткам. Высказанные замечания, впрочем, не носят принципиального характера и не умаляют оригинальности и достоверности полученных данных.

Личный вклад соискателя. Автором диссертационной работы проведен анализ данных литературы, выполнена большая экспериментальная работа. Автор принимал участие в получении, обработке и анализе данных, подготовке материалов для публикаций, апробации результатов работы. Исламов Б.Р. является автором трех статей в журналах, рекомендуемых ВАК, а также материалов трудов научных конференций.

Таким образом, учитывая актуальность и научную значимость проблемы, новизну полученных результатов, высокий экспериментальный уровень исследования, считаю, что диссертационная работа Исламова Бахтияра Рамилевича «Роль экстраклеточных полисахаридов фитопатогенной бактерии *Pectobacterium atrosepticum* scri1043 в формировании растительно-микробной патосистемы» является завершенной научно-квалификационной работой, отвечает требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, и может быть рекомендована к официальной защите по специальности 1.5.21 – Физиология и биохимия растений; 1.5.11 – «Микробиология».

По итогам обсуждения принято следующее **Заключение:**

Диссертационная работа Исламова Б.Р. «Роль экстраклеточных полисахаридов фитопатогенной бактерии *Pectobacterium atrosepticum* SCRI1043 в формировании растительно-микробной патосистемы» соответствует пунктам паспорта специальности 1.5.21 – «Физиология и биохимия растений»; 1.5.11 – «Микробиология».

В диссертации автор ссылается на собственные опубликованные данные. В тексте диссертации отсутствуют материалы без ссылки на автора или источники заимствования.

По материалам диссертации опубликованы тезисы 9 докладов на международных и всероссийских конференциях и 2 статьи в рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК для размещения материалов диссертаций:

1. Gorshkov, V. Pectobacterium atrosepticum exopolysaccharides: identification, molecular structure, formation under stress and in planta conditions / V. Gorshkov, **B. Islamov**, P. Mikshina, O. Petrova, G. Burygin, E. Sigida, A. Shashkov, A. Daminova, M. Ageeva, B. Idiyatullin, V. Salnikov, Y. Zuev, T. Gorshkova, Y. Gogolev // Glycobiology. – 2017a. – Vol. 27. – N. 11. – P. 1016-1026.
2. Gorshkov, V. The modification of plant cell wall polysaccharides in potato plants during Pectobacterium atrosepticum-caused infection / V. Gorshkov, I. Tsers, **B. Islamov**, M. Ageeva, N. Gogoleva, P. Mikshina, O. Parfirova, O. Gogoleva, O. Petrova, T. Gorshkova, Y. Gogolev // Plants. – 2021c. – Vol. 10. – N. 7. – P. 1407.

Расширенный научный семинар отделов Клеточной сигнализации, Физиологии и молекулярной биологии растений и Медико-биологических исследований КИББ - обособленного структурного подразделения ФИЦ КазНЦ РАН считает, что по актуальности, научной и практической значимости, достоверности полученных результатов, объёму, целостности и законченности диссертационная работа Исламова Бахтияра Рамилевича «Роль экстраклеточных полисахаридов фитопатогенной бактерии *Pectobacterium atrosepticum* SCRI1043 в формировании растительно-микробной патосистемы» соответствует требованиям, предъявляемым к диссертационным работам на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальностям 1.5.21 – «Физиология и биохимия растений»; 1.5.11 – «Микробиология»

Расширенный научный семинар отделов Клеточной сигнализации, Физиологии и молекулярной биологии растений и Медико-биологических исследований (протокол №1 от 05.10.2021 г.) рекомендовал Ученому совету выдать Заключение по диссертационной работе Исламову Б.Р. Присутствовали: 31 человек. Итоги голосования: «за»- 31 чел., «против»- нет, «воздержались» - нет.

Заключение рекомендовано к утверждению на заседании Ученого совета КИББ - обособленного структурного подразделения ФИЦ КазНЦ РАН принято на заседании (протокол №8 от 11.10.2021г.). Из 13 членов списочного состава Ученого совета присутствовали 13 человек. Рекомендации и замечания, высказанные на научном семинаре,

соискателем учтены, и соответствующие изменения внесены в текст диссертации. Итоги голосования: «за»- 13 чел., «против»- нет, « воздержались» - нет.

Руководитель КИББ –
обособленного структурного подразделения
ФИЦ КазНЦ РАН
дотор биологических наук, профессор

Чернов В.М.

Председатель расширенного научного семинара
КИББ - обособленного структурного
подразделения ФИЦ КазНЦ РАН,
кандидат биологических наук

Микшина П.В.

Ученый секретарь КИББ –
обособленного структурного
подразделения ФИЦ КазНЦ РАН,
кандидат биологических наук

Карпилова И.Ю.