

**ОТЗЫВ официального оппонента
на диссертацию на соискание ученой степени
доктора биологических наук
Федоровой Елены Эриковны
на тему: «ЭНДОМЕМБРАННАЯ СИСТЕМА КЛЕТОК КОРНЕВОГО
КЛУБЕНЬКА БОБОВЫХ РАСТЕНИЙ В УСЛОВИЯХ
АЗОТФИКСИРУЮЩЕГО СИМБИОЗА»
по специальности 1.5.21. Физиология и биохимия растений**

Диссертационная работа Е.Э. Федоровой посвящена важной теме – изучению эндомембранной системы клеток корневого клубенька в условиях азотфиксирующего бобово-ризобияльного симбиоза. Целью работы было выявление молекулярных механизмов модификаций эндомембранной системы инфицированной клетки, которая обеспечивает поддержание роста и развития симбиотических бактерий – ризобий и клетки в целом на стадии активной азотфиксации. Нормальное функционирование симбиотической системы бобового растения необходимо для осуществления эффективного процесса фиксации атмосферного азота, что важно как для сельскохозяйственной практики, так и для поддержания экологического баланса почвы и биосферы в целом. Поэтому актуальность темы рецензируемой диссертации сомнений не вызывает.

Диссертационная работа Е.Э. Федоровой построена по стандартному для докторских диссертаций плану. Она включает введение, обзор литературы, методические подходы и использованные материалы, результаты и их обсуждение, заключение, выводы и список литературы. Диссертация размещена на 228 страницах, содержит 68 рисунков и 4 таблицы. Диссертант также включила в диссертацию списки таблиц и иллюстраций, что ввиду большого количества последних удобно для читателей. Список цитируемой литературы включает 416 источников на русском и иностранных языках.

В обзоре литературы подробно описаны роль биологической азотфиксации в биосфере, описание азотфиксирующих бактерий, эволюция симбиоза, этапы формирования азотфиксирующего клубенька и роль

различных факторов в этом процессе, в том числе фитогормонов. Подробно описана инфицированная клетка, симбиосома, их мембраны, а также особенности мембранного транспорта. Очень интересен параграф 1.14. «Симбиосома: новая органелла или патогенная вакуоль?», в котором диссертант описывает свой взгляд на этот активно обсуждаемый в последнее время вопрос. В целом эта глава показывает прекрасное знание Е.Э. Федоровой современного состояния исследований в данной области, которое позволило ей четко сформулировать цели и задачи работы, грамотно подобрать необходимые для исследования методы и, в дальнейшем, сформулировать заключение и обоснованные выводы на основании полученных результатов с учетом мировых тенденций в исследованиях симбиотической азотфиксации.

В методической главе подробно описаны методы и подходы, использованные в диссертационной работе Е.Э. Федоровой. Следует особо отметить разнообразные генетические и микроскопические методы, а также иммунодетекцию, методы выделения симбиосом и определения азотфиксирующей активности. Все это показывает хорошую методическую подготовку диссертанта и умение применять широкий спектр необходимых лабораторных техник. Используемые в работе современные методы исследований подтверждают высокий научно-методический уровень рассматриваемой диссертации и достоверность полученных результатов.

В главе 4 диссертант приводит основные результаты, полученные при выполнении диссертационной работы, которые характеризуют широкий охват изучаемой темы и большой вклад диссертанта в изучение процесса симбиотической азотфиксации.

Е.Э. Федоровой были получены многочисленные интересные данные, имеющие несомненную научную новизну. Среди наиболее важных можно отметить следующие. Впервые было показано, что нарушение органеллогенеза вакуолей в инфицированных клетках зависит от репрессии генов комплекса HOPS, который регулирует селективный транспорт и слияние

с мембраной тонопласта, на основании чего был сделан вывод, что репрессия комплекса HOPS в инфицированных клетках является одним из важнейших условий поддержания бактериальной колонии внутри клетки. Было показано, что мембраны симбиосом не приобретают молекулярных маркеров, специфичных для первых этапов эндоцитоза. Была выявлена идентичность мембран симбиосом в онтогенезе, последовательное появление на симбиосомных мембранах белков пути эндоцитоза, белков регуляторов слияния мембран, специфичных для эндосом и тонопласта, и белков пути секреции группы VAMP7. Впервые показано, что последние необходимы для симбиотических отношений в разных типах симбиоза, и обеспечивают доставку ферментов, участвующих в модификации клеточной стенки инфекционной нити, благодаря чему создается мембранный интерфейс, позволяющий выход ризобий в симпласт клетки-хозяина. Впервые были показаны нарушения в распределении белков ионных каналов шейкерного типа, участвующих в переносе ионов калия. Было проведено изучение обмена ионов калия и натрия и показано, что в инфицированных клетках накапливается в 5 раз больше натрия, чем в неинфицированных. Сделан вывод о том, что причины наблюдаемых изменений зависят от нарушения локализации белков ионообменников на мембранах и нарушения их экспрессии в инфицированных клетках.

Работа Е.Э. Федоровой имеет и большое практическое значение. Её результаты могут быть использованы для проведения генетических манипуляций с генами, определяющими условия функционирования колонии азотфиксирующих бактерий в инфицированной клетке. Результаты изучения адаптации эукариотической клетки к находящейся в симпласте колонии бактерий могут в перспективе быть использованы для работ по созданию искусственных азотфиксирующих биосистем.

Результаты, полученные диссертантом, достоверны, положения, выносимые на защиту, и выводы – обоснованы. Диссертация написана хорошим литературным языком, очень хорошо иллюстрирована. Особо

следует отметить прекрасные фотографии, дающие наглядное представление о строении клубенька и его тканей. По материалам диссертации опубликовано 36 статей в высокорейтинговых научных журналах, в том числе 31 статья в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных для защиты в диссертационном совете МГУ им. М.В. Ломоносова. Результаты работы были неоднократно доложены на российских и международных научных конференциях. Автореферат и опубликованные диссертантом работы полностью отражают содержание диссертации.

На основании всего вышеизложенного можно сделать заключение, что диссертация Е.Э. Федоровой на тему: «Эндоплазматическая система клеток корневого клубенька бобовых растений в условиях азотфиксирующего симбиоза» является законченной научно-квалификационной работой, в которой решена важная научная проблема регуляции изменения эндоплазматической системы в клетках клубенька, что объясняет роль этих клеток в активном поддержании внутриклеточных колоний азотфиксирующих бактериоидов. Эта проблема имеет большое научное и хозяйственное значение и вносит существенный вклад в развитие физиологии и биохимии растений и биологической науки в целом.

В то же время к рассматриваемой диссертации можно высказать несколько незначительных замечаний.

Написанная диссертантом фраза «Процессы адаптации инфицированных клеток к их необычному образу жизни» (стр. 11) не является удачной, поскольку для инфицированных клеток клубеньков бобовых их «образ жизни» является как раз обычным.

На стр. 15 в обзоре литературы написано: «Источники азота биосферы включают симбиотическую азотфиксацию, фиксацию азота в морях и океанах одноклеточными микроорганизмами, а также производство удобрений с помощью химического синтеза». В этом перечне пропущены свободноживущие прокариоты-азотфиксаторы, живущие на суше. Причем это безусловно просто техническая ошибка, поскольку через несколько страниц

диссертант упоминает «свободноживущие почвенные бактерии, такие как *Azotobacter*» (стр. 17).

На стр. 20 в разделе 1.4. «Наиболее распространенные и экономически важные виды бобовых растений» в списке этих видов отсутствует такое широко используемое растение, как соя (*Glycine max*).

В выводах (стр. 184) диссертант дважды использует слово «вероятно» (выводы 1 и 4). В выводах это слово лучше не использовать, тем более, несколько раз.

Заключительный вывод 9 (стр. 185) выглядит несколько противоречиво, хотя и вытекает из проведенных исследований. Читая его, не совсем понятно, считает ли всё-таки диссертант симбиотическую фиксацию азота полезной или вредной для растения, особенно учитывая несомненную практическую значимость работы по изучению этого процесса.

В тексте диссертации иногда встречаются стилистические неточности, например, во введении на стр. 6 в фразе «...недостаток ряда минеральных элементов и микроэлементов, необходимых ризобий в почве» пропущено слово «для».

Вместе с тем, указанные замечания не умаляют значимости диссертационного исследования Федоровой Е.Э. Диссертация отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В. Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует специальности 1.5.21. Физиология и биохимия растений (по биологическим наукам), а также критериям, определенным пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В. Ломоносова. Диссертационное исследование оформлено согласно требованиям Положения о совете по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова.

Таким образом, соискатель Федорова Елена Эриковна заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.21. Физиология и биохимия растений.

Официальный оппонент:

Доктор биологических наук,
заведующий лабораторией биохимии азотфиксации и метаболизма азота,
Федеральное государственное учреждение «Федеральный исследовательский
центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии
наук» (ФИЦ Биотехнологии РАН)

ТОПУНОВ Алексей Федорович

12 мая 2026 г.

Контактные данные:

тел.: , e-mail:

Специальность, по которой официальным оппонентом
защищена диссертация:

03.00.04 – Биохимия (сейчас 1.5.4)

Адрес места работы:

119071, г. Москва, Ленинский проспект, дом 33, строение 2,
Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы
биотехнологии» Российской академии наук,
лаборатория биохимии азотфиксации и метаболизма азота,

Тел.: ; e-mail:

Подпись заведующего лабораторией биохимии азотфиксации и метаболизма
азота Федерального исследовательского центра «Фундаментальные основы
биотехнологии» Российской академии наук

А.Ф. Топунова удостоверяю

Ученый секретарь ФИЦ Биотехнологии РАН:

К.б.н. Орловский Александр Федорович

Тел.: ; e-mail:

12 мая 2026 г.