

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 999.219.02, СОЗДАННОГО  
НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ  
НАУКИ ПЕРМСКОГО ФЕДЕРАЛЬНОГО ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОГО ЦЕНТРА  
УРАЛЬСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК, ФЕДЕРАЛЬНОГО  
ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
“ПЕРМСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ  
АКАДЕМИКА Е.А. ВАГНЕРА” МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ  
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ, ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ  
СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело № \_\_\_\_\_

решение диссертационного совета от 8 апреля 2022 г. № 76

О присуждении **Лавиной Anne Михайловне**, гражданке России, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация **“Гены-регуляторы синтеза экзополисахаридов в формировании биопленок *Rhizobium leguminosarum*”** по специальности 03.02.03 Микробиология принята к защите 02.02.2022 г. (протокол заседания № 22/1) диссертационным советом Д 999.219.02, созданным на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Пермского федерального исследовательского центра Уральского отделения Российской академии наук, 614099, г. Пермь, ул. Ленина, 13а, Федерального государственного бюджетного учреждения высшего образования “Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера” Министерства здравоохранения Российской Федерации, 614000, г. Пермь, ул. Петропавловская, 26, приказ о создании диссертационного совета № 171/нк от 02 октября 2018 г.

Соискатель Лавина Анна Михайловна, "3" сентября 1991 года рождения, в 2014 году с отличием окончила программу магистратуры по направлению подготовки “Биология” Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования “Башкирский государственный университет”, в 2021 году окончила аспирантуру Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра по направлению подготовки 06.06.01 Биологические науки, работает в должности младшего научного сотрудника «Института биохимии и генетики – обособленного структурного подразделения Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук», г. Уфа.

Диссертация выполнена на базе лаборатории биоинженерии растений и микроорганизмов «Института биохимии и генетики – обособленного структурного подразделения Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук».

**Научный руководитель** – доктор биологических наук, Баймиев Алексей Ханифович, главный научный сотрудник лаборатории биоинженерии растений и микроорганизмов «Института биохимии и генетики Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук».

**Официальные оппоненты:** Гоголев Юрий Викторович, доктор биологических наук, заведующий лабораторией молекулярной биологии Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Казанского института биохимии и биофизики Казанского научного центра Российской академии наук»; Андронов Евгений Евгеньевич, кандидат биологических наук, заведующий лабораторией микробиологического мониторинга и биоремедиации почв Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Всероссийского научно-исследовательского института сельскохозяйственной микробиологии», дали положительные отзывы на диссертацию.

**Ведущая организация** «Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов» - обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра «Саратовский научный центр Российской академии наук», в своем положительном отзыве, подписанном доктором биологических наук, профессором, заведующим лабораторией генетики микроорганизмов Шелудько Андреем Вячеславовичем, указала, что диссертация Лавиной А.М. «Тены-регуляторы синтеза экзополисахаридов в формировании биопленок *Rhizobium leguminosarum*», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук, является законченной научно-квалификационной работой, в которой содержится решение актуальной научной задачи, вносящей вклад в исследования теоретических основ жизнедеятельности микроорганизмов, их взаимодействия с факторами внешней среды и живыми организмами, и соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям.

Соискатель имеет 35 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации 35 работ, из них в рецензируемых научных изданиях опубликовано 13 работ. Объем научных изданий составляет 126 стр., авторский вклад – 80 %. Сведения об опубликованных работах в диссертации соискателя ученой степени достоверны. Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:

1. Нигматуллина, Л.Р. Вклад бактериального адгезина *rapA1* в эффективность формирования симбиоза *Rhizobium leguminosarum* с растениями фасоли / Л.Р. Нигматуллина, А.М. Лавина, З.Р. Вершинина, А.Х. Баймиев // Микробиология. – 2015. – Т. 84. – № 6. – С. 705-711. (WoS/Scopus).
2. Хакимова, Л.Р. Использование штаммов-продуцентов адгезина *RapA1* из *Rhizobium leguminosarum* для создания бинарных биоудобрений / Л.Р. Хакимова, А.М. Лавина, З.Р. Вершинина, А.Х. Баймиев // Прикладная биохимия и микробиология. – 2017. – Т. 53. – № 4. – С. 400-405. (WoS/Scopus).
3. Вершинина, З.Р. Влияние конститутивной экспрессии гена *rapA1* на образование бактериальных биопленок и ростостимулирующую активность ризобий / З.Р. Вершинина, Л.Р. Хакимова, А.М. Лавина, Л.Р. Каримова, Э.Р. Сербаева, В.И. Сафронова, А.Х. Баймиев // Микробиология. – 2019. – Т. 88. – № 1. – С. 62-71. (WoS/Scopus).
4. Вершинина, З.Р. Влияние сверхэкспрессии гена *rosR* на образование биопленок бактериями *Rhizobium leguminosarum* / З.Р. Вершинина, О.В. Чубукова, Ю.М. Никоноров, Л.Р. Хакимова, А.М. Лавина, Л.Р. Каримова, А.Х. Баймиев, А.Х. Баймиев // Микробиология. – 2021. – Т. 90. – № 2. – С. 191-203. (WoS/Scopus).

**На диссертацию и автореферат поступили отзывы:** от к.б.н., ведущего научного сотрудника, заведующего лабораторией клеточной инженерии растений Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии» Халилуева М.Р. (г. Москва); д.б.н., заведующего лабораторией биохимии азотфиксации и метаболизма азота Федерального государственного учреждения "Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук" Топунова А.Ф. (г. Москва); д.б.н., профессора кафедры экологии и безопасности жизнедеятельности Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Башкирский государственный университет» Гариповой С.Р. (г. Уфа); к.б.н., биолога Межклинической иммунологической лаборатории Централизованной лабораторно-диагностической службы Московского государственного медицинского университета имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет) (г. Москва) Гуменко Р.С.

Все полученные отзывы на автореферат положительные, в них отмечается актуальность, научная новизна, теоретическая и практическая значимость диссертационного исследования, а также высокий общий и методический уровень выполненной работы. В отзыве к.б.н. Халилуева М.Р. имеются замечания, касающиеся сравнения экспрессии гена *rosR* с экспрессией подобных ему генов, а также указывается,

что на рис. 11 (стр. 17) автореферата более корректным было бы представить и контрольный вариант без формирования биопленок экспериментальными штаммами. Во всех отзывах сделано заключение, что диссертация соответствует требованиям Положения о порядке присуждения ученых степеней, а Лавина А.М. заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.03 Микробиология.

**Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается** высоким уровнем профессиональной компетентности д.б.н. Гоголева Ю.В. и к.б.н. Андропова Е.Е. и научными достижениями «Института биохимии и физиологии растений и микроорганизмов» – обособленного структурного подразделения Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра «Саратовский научный центр Российской академии наук», г. Саратов. Гоголев Ю.В. – автор более 140 научных публикаций, является признанным специалистом в области изучения ризосферных микроорганизмов, Андропов Е.Е. является квалифицированным специалистом в области микробиологии, специализирующимся на изучении бобово-ризобияльного симбиоза, имеет свыше 270 публикаций в научных журналах. Официальные оппоненты не имеют совместных публикаций с соискателем.

Коллектив «Института биохимии и физиологии растений и микроорганизмов» – обособленного структурного подразделения Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра «Саратовский научный центр Российской академии наук», имеет публикации в ведущих отечественных и зарубежных научных журналах в области микробиологии, отражающие исследования формирования биопленок ризосферными микроорганизмами. Соискатель и научный руководитель соискателя не работают в данной организации и не являются участниками научно-исследовательских работ, ведущихся в этой организации.

**Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:**

разработана научная идея использования генов-регуляторов путей синтеза экзополисахаридов ризобактерий в качестве модификаторов процессов формирования биопленок ризосферными бактериями на поверхности корней растений в ассоциативных симбиозах и доказана перспективность ее использования;

созданы векторные конструкции pJB658GFPPssA, pJB658GFPRosR и pJB658PssB, содержащие гены, регулирующие биосинтез экзополисахаридов (*pssA*, *pssB* и *rosR*) под управлением индуцибельного промотора P<sub>m</sub>;

получены 12 рекомбинантных по генам *pssA* и *rosR* ризобийных штаммов, меченных флуоресцентным белком GFP, а также 5 штаммов, рекомбинантных по гену *pssB*;

доказано влияние сверхэкспрессии генов *pssA*, *rosR* и *pssB* на изменение биомассы биопленок *R. leguminosarum*;

экспериментально подтвержден ростостимулирующий эффект ризосферных штаммов, синтезирующих модификаторы механизмов формирования биопленок на поверхности корней.

**Теоретическая значимость исследования обоснована** тем, что: полученные результаты расширяют представление о влиянии генов-регуляторов биосинтеза ЭПС ризобактерий на процессы биопленкообразования и их роли в бобово-ризобийном симбиозе;

применительно к проблематике диссертации результативно использованы современные микробиологические и молекулярно-генетические методы исследования: создание векторных конструкций, трансформация компетентных клеток плазмидной ДНК, автоматическое секвенирование ДНК, флуоресцентная микроскопия;

доказано, что количество адгезированных клеток на абиотических поверхностях и корнях бобовых и небобовых растений у штаммов *R. leguminosarum* с повышенной экспрессией гена *rosR* больше, чем у штаммов дикого типа;

раскрыты закономерности: между наличием в геноме штаммов *R. leguminosarum* генов *pssA*, *pssB*, *rosR*, *prsD*, *prsE* и степенью ослизнения клеточных стенок, между концентрацией  $Ca^{2+}$ , питательных веществ в культуральной среде, а также температурным режимом и толщиной ризобактериальных биопленок, между локализацией ризобактериальных биопленок на корнях растений и штаммом, которым была инфицирована корневая система;

изучены процессы формирования биопленок ризосферными бактериями на инертных поверхностях и на поверхности корней растений.

**Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается** тем, что:

определены перспективы подхода к созданию стабильных ассоциаций экономически ценных видов растений с ризобиями, основанного на модификации процессов инициации и формирования биопленок, путем использования генов-регуляторов биосинтеза экзополисахаридов ризобактерий;

создана коллекция ризосферных штаммов-кандидатов, которые могут быть использованы в основе биоудобрений, стимулирующих повышение продуктивности сельскохозяйственных растений;

результаты диссертационного исследования используются в лекционных курсах для студентов биологического факультета ФГБОУ ВО Башкирского государственного университета и кафедре фундаментальной и прикладной микробиологии ФГБОУ ВО Башкирского государственного медицинского университета Минздрава РФ.

**Оценка достоверности результатов исследования выявила:** для экспериментальных работ результаты исследований получены при использовании современного оборудования (амплификатора, электропоратора, спектрофотометра, микроскопа с флуоресцентным фильтром, лазерного сканирующего конфокального микроскопа, планшетного ридера), достигнута воспроизводимость результатов в различных условиях;

использованы современные, адекватные поставленным задачам, бактериологические, биохимические, микроскопические и молекулярно-генетические методы исследования;

все данные являются результатами не менее чем трех независимых опытов, результаты обработаны с использованием лицензионных программ и современных методов статистического анализа;

идея базируется на обобщении передового опыта, а также полученных ранее экспериментальных данных исследователей из России и других стран;

использовано сравнение авторских данных и данных, полученных ранее по рассматриваемой тематике другими исследователями, касающихся роли экзополисахаридов в бобово-ризобияльном симбиозе;

теория построена на известных, проверяемых сведениях, согласуется с опубликованными экспериментальными данными по теме диссертации.

**Личный вклад соискателя состоит в:** личном участии на всех этапах процесса, непосредственном участии в получении экспериментальных данных, их первичной обработке и интерпретации, подготовке основных публикаций по выполненной работе, участии в апробации полученных результатов на конференциях различного уровня.

Научные положения и выводы диссертации базируются на результатах собственных исследований автора; все исследования проведены на базе «Института биохимии и генетики – обособленного структурного подразделения Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук», Уфа.

В ходе защиты диссертации критических замечаний не высказано. Соискатель Лавина А.М. ответила на все задаваемые в ходе заседания вопросы диссертационного совета.

На заседании **8 апреля 2022** года диссертационный совет принял решение за выполнение научной задачи, связанной с изучением генов-регуляторов синтеза экзополисахаридов в формировании биопленок ризобактериями, имеющей важное значение для микробиологии, присудить **Лавиной А.М.** ученую степень кандидата биологических наук. При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 15 человек, из них 6 докторов наук по специальности 03.02.03 Микробиология (биологические науки), участвующих в заседании, из 21 человека, входящего в состав совета, дополнительно введены в разовую защиту 0 человек, проголосовали: за **15**, против **нет**, недействительных бюллетеней **нет**.

Председатель диссертационного совета

Д 999.219.02, д.б.н., профессор,

академик РАН



Ирина Борисовна Ившина

Ученый секретарь диссертационного совета

Д 999.219.02, д.б.н.

08.04.2022

Юлия Геннадьевна Максимова