



МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
Уфимский федеральный исследовательский центр Российской академии наук
(УФИЦ РАН)

450054, г. Уфа, проспект Октября, 71. Тел./факс: (347) 235-60-22, 284-56-52, e-mail: presidium@ufaras.ru, presid@anrb.ru
Код организации 81, ОГРН 1030204207582, ИНН 0274064870, КПП 027601001

23.11.2021

На №

№

17101-93p.1-2006

УТВЕРЖДАЮ:

Руководитель федерального государственного бюджетного научного
учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской
академии наук,

доктор химических наук, профессор,
Захаров Вадим Петрович



« » 2021 г.

МП

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Федерального государственного бюджетного научного учреждения
Уфимский федеральный исследовательский центр Российской академии
наук по диссертационной работе Лавиной Анны Михайловны

«Гены-регуляторы синтеза экзополисахаридов в формировании
биопленок *R. leguminosarum*»

Диссертация Лавиной Анны Михайловны на тему «Гены-регуляторы синтеза экзополисахаридов в формировании биопленок *R. leguminosarum*» выполнена в Институте биохимии и генетики – обособленном структурном подразделении Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук (ФГБНУ ИБГ УФИЦ РАН).

Научный руководитель – Баймиев Алексей Ханифович, доктор биологических наук, заведующий лабораторией биоинженерии растений и микроорганизмов ИБГ УФИЦ РАН.

В 2014 г. Лавина Анна Михайловна окончила магистерскую программу «биохимия и биотехнология» (направление «Биология») ФГБОУ ВО «Башкирский государственный университет».

В период подготовки диссертации соискатель обучалась в очной аспирантуре в ИБГ УФИЦ РАН. Диплом об окончании выдан в октябре 2021г.

По итогам обсуждения принято следующее **заключение:**

Актуальность темы. В настоящее время в качестве альтернативы химическим удобрениям для повышения продуктивности важных сельскохозяйственных культур, а также их защиты от фитопатогенов, применяются биопленочные биоудобрения, которые представляют собой стимулирующие рост растений ризобактерии (PGPR), образующие биопленки на поверхности корней растений. Формирование биопленок ризобактериями позволяет им защищать себя от внешнего стресса и микробной конкуренции характерной для ризосферы. Важную роль в биопленкообразовании ризобий играют экзополисахариды (ЭПС) – бактериальные поверхностные полисахариды, которые влияют на процессы адгезии ризобактерий к корням растений, а также образование клубеньков. Более того ростостимулирующий эффект ризобий связан с биосинтезом ЭПС. Тем не менее, многие механизмы формирования биопленок

ризосферными бактериями и их адгезии на корнях растений недостаточно изучены. Выяснение процессов образования биопленок ризобактериями позволит регулировать их формирование и в искусственных симбиотических системах, где большую роль играет колонизация корней растений.

Личное участие соискателя в получении результатов, изложенных в диссертации. При выполнении диссертационной работы Лавина А. М. проявила себя как ответственный, организованный и способный к решению практических задач исследователь, который обладает хорошими теоретическими знаниями в области микробиологии. Определение направления диссертационной работы, цели и задачи исследования проводились автором совместно с научным руководителем доктором биологических наук Баймиевым А. Х. Автором самостоятельно изучена отечественная и зарубежная литература по теме диссертации и лично написана рукопись данной работы. Экспериментальная часть работы: микроскопирование, выращивание бактериальных культур на различных средах, секвенирование, клонирование, конструирование векторов, трансформация, эксперименты с растениями, выполнена автором самостоятельно. Требования п. 14 Постановления Правительства РФ от 24.09.2013 № 842 (ред. от 01.10.2018) «О порядке присуждения ученых степеней» выполнены.

Степень достоверности результатов проведенных исследований. Достоверность полученных результатов подтверждается применением современных микробиологических, молекулярно-биологических и биохимических методов, а также объемом проделанной работы. Полученные в работе результаты исследования согласуются с данными, представленными в литературе, а проведенный статистический анализ подтверждает их достоверность. Выводы полностью и в строгой логической последовательности соответствуют поставленным задачам и отражают полученные результаты.

Новизна и практическая значимость диссертации.

Обнаружено, что штаммы *R. leguminosarum*, в геноме которых отсутствуют гены *pssA*, *pssB*, *rosR*, *prsD*, *prsE* характеризуются скудным ослизнением клеточных стенок по сравнению со штаммами с идентифицированными генами. Получены 12 рекомбинантных по генам *pssA* и *rosR* ризобияльных штаммов, меченных флуоресцентным белком GFP, а также 5 штаммов рекомбинантных по гену *pssB*. Выявлено, что наличие в геноме штаммов *R. leguminosarum* дополнительной копии гена *pssA* или *rosR* положительно влияет на эффективность образования биопленок, а дополнительной копии гена *pssB*, наоборот, уменьшает толщину биопленок. Проведена оценка зависимости биопленкообразования от числа живых клеток в отношении исследуемых диких и рекомбинантных штаммов. Выявлена корреляция между толщиной биопленок и концентрацией Ca^{2+} и питательных веществ в культуральной среде, а также температурным режимом. Проведены микроскопические исследования структур, образованных ризобияльными штаммами на инертных поверхностях и корнях растений. Собрана коллекция генетически охарактеризованных штаммов ризосферных бактерий, обладающих ростостимулирующей активностью на бобовые и небобовые растения.

Исследованная коллекция штаммов ризобактерий, обладающих ростостимулирующей активностью, может быть рекомендована к созданию биопрепарата с ростостимулирующими свойствами. Применение подхода, основанного на модификации процессов инициации и формирования биопленок ризобиями, путем использования генов-регуляторов биосинтеза ЭПС ризобий – является перспективным направлением создания стабильных ассоциаций экономически ценных видов растений с ризобиями.

Ценность научных работ соискателя. Полученные результаты расширяют представление о процессах биопленкообразования ризобиями. Исследованная коллекция штаммов ризобактерий, может быть рекомендована к созданию биопрепарата с ростостимулирующими свойствами. Применение подхода, основанного на модификации процессов

инициации и формирования биопленок ризобиями, путем использования генов-регуляторов биосинтеза ЭПС ризобий – является перспективным направлением создания стабильных ассоциаций экономически ценных видов растений с ризобиями.

Специальность, которой соответствует диссертация.
Диссертационная работа «Регуляция формирования биопленок ризобиями в ассоциативных симбиозах» соответствует формуле специальности 03.02.03 – «Микробиология», посвящена изучению и решению задач в области симбиозов микроорганизмов, а также применению микроорганизмов в народном хозяйстве. В диссертационной работе исследованы молекулярные механизмы инициации и формирования биопленок ризосферными бактериями на поверхности корней растений в ассоциативных симбиозах путем использования в качестве модификаторов данных процессов генов-регуляторов путей синтеза экзополисахаридов ризобактерий. Для этого были получены рекомбинантные ризобияльные штаммы, содержащие дополнительные копии генов *pssA*, *pssB* и *rosR* и изучены процессы формирования биопленок ризосферными бактериями на инертных поверхностях и на поверхности корней растений.

Полнота изложения материалов диссертации

По теме диссертации опубликовано 35 печатных работ, в том числе 13 статей в журналах, входящих в Перечень ВАК. Материалы диссертации были представлены на международной конференции, посвященной фундаментальным вопросам агротехнологий «Эколого-генетические основы современных агротехнологий» (Санкт-Петербург, 2016 г.), VIII Всероссийской конференции молодых ученых "Стратегия взаимодействия микроорганизмов и растений с окружающей средой" (Саратов, 2016 г.), «III Всероссийской молодёжной научной школе-конференции с международным участием (Микробные симбиозы в природных и экспериментальных экосистемах)» (Оренбург 2017 г.).

1. 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, Ан. Х. Баймиев, А. Х. Баймиев // Микробиология. – 2021. – Т. 90. – № 2. – С. 191-203.
2. Вершинина, З. Р. Экзополисахариды *Rhizobium leguminosarum* - краткий обзор / З. Р. Вершинина, **А. М. Лавина**, О. В. Чубукова // Биомика. – 2020. – Т. 12. – № 1. – С. 27-49.
3. Вершинина, З. Р. Влияние конститутивной экспрессии гена *gapA1* 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. – 2019а. – Т. 88. – № 1. – С. 62-71.
4. Вершинина, З. Р. Взаимодействие томатов (*Solanum lycopersicum* L.), трансформированных *rapA 1*, с бактериями *Pseudomonas* sp. 102, устойчивыми к высоким концентрациям кадмия, как основа эффективной симбиотической системы для фиторемедиации / З. Р. Вершинина, Л. Р. Хакимова, **А. М. Лавина**, Л. Р. Каримова, В. В. Федяев, Ан. Х. Баймиев, А. Х. Баймиев // Биотехнология. – 2019. – Т. 35. – № 2. – С. 38-48.
5. 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.
6. **Лавина, А. М.** Получение рекомбинантных по генам *pssA* и *rosR* ризобиальных штаммов, меченных флуоресцентным белком GFP / **А. М. Лавина**, Л. Р. Хакимова, Р. Т. Матниязов, З. Р. Вершинина, А. Х. Баймиев // Вестник Оренбургского государственного университета. – 2017. – № 9(209). – С. 76-81.

7. Хакимова, Л. Р. Ростостимулирующая активность клубеньковых бактерий *Rhizobium leguminosarum*, выделенных из бобовых растений Южного Урала / Л. Р. Хакимова, Э. Р. Сербаева, **А. М. Лавина**, З. Р. Вершинина, А. Х. Баймиев // Вестник Оренбургского государственного университета. – 2017с. – № 9(209). – С. 96-99.

8. Хакимова, Л. Р. Роль бактериальных адгезинов и других компонентов клеток на начальных этапах растительно-микробных взаимодействий / Л. Р. Хакимова, **А. М. Лавина**, Э. Р. Сербаева, Л. Р. Садыкова, З. Р. Вершинина, А. Х. Баймиев // Биомика. – 2017. – Т. 9. – № 4. – С. 325-339.

9. Хакимова, Л. Р. Оценка влияния конститутивной экспрессии гена *rapA1* в клетках микросимбионта *R. leguminosarum* PVu5 на эффективность образования клубеньков, нитрогеназную активность, биомассу и ростовые параметры растений фасоли обыкновенной / Л. Р. Нигматуллина, **А. М. Лавина**, Э. Р. Сербаева, Вершинина, А. Х. Баймиев // Вестник защиты растений. – 2016. – № 3(89). – С. 118-119.

10. **Лавина, А. М.** Анализ влияния ризобиальных экзополисахаридов на семена и проростки клевера красного (*Trifolium pratense*) / **А. М. Лавина**, Л. Р. Нигматуллина, З. Р. Вершинина, А. Х. Баймиев // Вестник защиты растений. – 2016. – № 3(89). – С. 91-93.

11. 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.

12. Вершинина, З. Р. Ассоциативный симбиоз трансгенных томатов с ризобиями повышает устойчивость растений к *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* / З. Р. Вершинина, Д. К. Благова, Л. Р. Нигматуллина, **А. М. Лавина**, А. Х. Баймиев // Биотехнология. – 2015. – Т. 31. – № 3. – С. 42-53.

13. **Лавина, А. М.** Создание ассоциативных симбиотических систем огурца с ризобиями / А. М. Лавина, Л. Р. Нигматуллина, З. Р. Вершинина, А. Х. Баймиев // Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН. – 2014. – № 3. – С. 8.

Диссертация на тему «Гены-регуляторы синтеза экзополисахаридов в формировании биопленок *R. leguminosarum*» Лавиной Анны Михайловны рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.03 – Микробиология в диссертационном совете Д999.219.02 на базе Пермского федерального исследовательского центра Уральского отделения Российской академии наук и Пермского государственного медицинского университета имени академика Е. А. Вагнера.

Заключение принято на заседании Ученого совета Института биохимии и генетики – обособленного структурного подразделения Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук. Присутствовало на заседании 18 чел.

Результаты голосования:

«за» - 18 чел.,

«против» - 0 чел.,

«воздержалось» - 0 чел.,

протокол № 7 от «30» сентября 2021г.

Председатель Ученого совета ИБГ УФИЦ РАН
д-р биол. наук, профессор, член-корр. РАО Хуснутдинова Э. К.

Ученый секретарь Ученого совета ИБГ УФИЦ РАН
д-р биол. наук Гималов Ф. Р.

