

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 64.1.002.01 НА БАЗЕ
ФЕДЕРАЛЬНОГО БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ
«ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР ПРИКЛАДНОЙ
МИКРОБИОЛОГИИ И БИОТЕХНОЛОГИИ» ФЕДЕРАЛЬНОЙ СЛУЖБЫ ПО
НАДЗОРУ В СФЕРЕ ЗАЩИТЫ ПРАВ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ И БЛАГОПОЛУЧИЯ
ЧЕЛОВЕКА РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ ПО ДИССЕРТАЦИИ НА
СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

Аттестационное дело № _____

Решение диссертационного совета от 20.05.2022 г. № 13
о присуждении Телешевой Елизавете Михайловне, гражданину РФ, ученой
степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Анализ формирования и микроструктуры биопленок
Azospirillum baldaniorum» по специальности 1.5.11. Микробиология принята к
защите 15.03.2022 г., протокол № 8, диссертационным советом 64.1.002.01 на
базе Федерального бюджетного учреждения науки «Государственный научный
центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Федеральной службы по
надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека
Российской Федерации, 142279, Московская обл., г.о. Серпухов, п. Оболенск,
Территория «Квартал А», д. 24, приказ о создании № 714/нк от 02.11.2012 г.

Соискатель Телешева Елизавета Михайловна, 1987 г. рождения, в 2009 г.
окончила Биологический факультет Федерального государственного
образовательного учреждения высшего профессионального образования
«Саратовский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского» по
специальности «Биология». С 2013 по 2017 гг. Е.М. Телешева обучалась в
очной аспирантуре Федерального государственного бюджетного учреждения
науки Института биохимии и физиологии растений и микроорганизмов
Российской академии наук по направлению 1.5.11 – «Микробиология»;
работает младшим научным сотрудником лаборатории генетики
микроорганизмов в Институте биохимии и физиологии растений и
микроорганизмов – обособленном структурном подразделении Федерального
государственного бюджетного учреждения науки Федерального

исследовательского центра «Саратовский научный центр Российской академии наук» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации.

Диссертация выполнена в лаборатории генетики микроорганизмов Института биохимии и физиологии растений и микроорганизмов – обособленного структурного подразделения Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра «Саратовский научный центр Российской академии наук» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации.

Научный руководитель – доктор биологических наук (специальность 1.5.11 – Микробиология) Шелудько Андрей Вячеславович, Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов – обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра «Саратовский научный центр Российской академии наук» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, лаборатория генетики микроорганизмов, заведующий лабораторией.

Официальные оппоненты:

Николаев Юрий Александрович – доктор биологических наук (специальность 1.5.11 – микробиология), Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского Федерального исследовательского центра «Фундаментальные основы биотехнологии Российской академии наук» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, г. Москва, лаборатория выживаемости микроорганизмов, заведующий лабораторией,

Селицкая Ольга Валентиновна – кандидат биологических наук (специальность 1.5.11 – микробиология), Федеральное государственное бюджетное учреждение высшего образования «Российский государственный аграрный университет-МСХА имени К.А. Тимирязева» Министерства сельского хозяйства Российской Федерации, г. Москва, кафедра микробиологии и иммунологии, заведующая кафедрой,

дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация Казанский институт биохимии и биофизики – обособленное структурное подразделение Федерального государственного

бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Казанский научный центр Российской академии наук»» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, г. Казань, в своем положительном заключении, подписанном Горшковым Владимиром Юрьевичем, кандидат биологических наук, лаборатория инфекционных заболеваний растений, заведующий лабораторией, и Петровой Ольгой Евгеньевной, кандидат биологических наук, лаборатория инфекционных заболеваний растений, старший научный сотрудник, указала, что диссертационная работа Телешевой Е.М. представляет собой самостоятельную научно-квалификационную работу, в которой решена важная задача микробиологии по выяснению ряда критериев образования биопленок. Экспериментальные данные и методические подходы данной диссертационной работы могут быть использованы в сельскохозяйственных, биологических и биотехнологических учреждениях, а также в учебном процессе при чтении курсов лекций по микробиологии в ВУЗах Российской Федерации. Диссертация соответствует паспорту специальности 1.5.11 — «Микробиология» по направлению 4: Исследование микроорганизмов на популяционном уровне. Работа отвечает требованиям пунктов 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года № 842 (в редакции от 11 октября 2021 года), а ее автор Телешева Елизавета Михайловна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.11 «Микробиология» (биологические науки).

Соискатель имеет **48** опубликованных работ, в том числе по теме диссертации опубликовано **11** работ, из них в рецензируемых научных изданиях опубликовано **10** работ. Общий объем работ – 13,2 п. л.

Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:

1. Евстигнеева, С.С. Реакция бактерий на механические воздействия / Евстигнеева С.С., Телешева Е.М., Мокеев Д.И., Борисов И.В., Петрова Л.П., Шелудько А.В. // Микробиол. – 2021. – Т. 90, № 5. – С. 531–542. IF=1.268. (Scopus).

2. Shelud'ko, A.V. Polar flagellum of the alphaproteobacterium *Azospirillum brasilense* Sp245 plays a role in biofilm biomass accumulation and in biofilm maintenance under stationary and dynamic conditions / Shelud'ko A.V., Filip'echeva Y.A., **Telesheva E.M.**, Yevstigneeva S.S., Petrova L.P., Katsy E.I. // World J. Microbiol. Biotechnol. – 2019. – Vol. 35, № 2. – P. 19. IF= 3.312 (**WoS/Scopus**).

3. Shelud'ko, A.V. Restoration of polar-flagellum motility and biofilm-forming capacity in the *mmsB1* mutant of the alphaproteobacterium *Azospirillum brasilense* Sp245 points to a new role for a homologue of 3-hydroxyisobutyrate dehydrogenase / Shelud'ko A.V., Filip'echeva Y.A., **Telesheva E.M.**, Yevstigneeva S.S., Petrova L.P., Katsy E.I. // Can. J. Microbiol. – 2019. – Vol. 65, № 2. – P. 144–154. IF=2.419 (**WoS/Scopus**).

4. Шелудько, А.В. Характеристика углеводсодержащих компонентов биопленок *Azospirillum brasilense* Sp245 / Шелудько А.В., Филипъчева Ю.А., **Телешева Е.М.**, Буров А.М., Евстигнеева С.С., Бурьгин Г.Л., Петрова Л.П. // Микробиол. – 2018. – Т. 87, № 5. – С. 483–494. IF=1.268 (**Scopus**).

5. Filip'echeva, Y.A. Plasmid AZOBR_p1-borne *fabG* gene for putative 3-oxoacyl-[acyl-carrier protein] reductase is essential for proper assembly and work of the dual flagellar system in the alphaproteobacterium *Azospirillum brasilense* Sp245 / Filip'echeva Y.A., Shelud'ko A.V., Prilipov A.G., Burygin G.L., **Telesheva E.M.**, Yevstigneyeva S.S., Chernyshova M.P., Petrova L.P., Katsy E.I. // Can. J. Microbiol. – 2018. – Vol. 64, № 2. – P. 107–118. IF=2.419 (**WoS/Scopus**).

6. Filip'echeva, Yu. Chromosomal *flhB1* gene of the alphaproteobacterium *Azospirillum brasilense* Sp245 is essential for correct assembly of both constitutive polar flagellum and inducible lateral flagella / Filip'echeva Yu., Shelud'ko A., Prilipov A., **Telesheva E.**, Mokeev D., Burov A., Petrova L., Katsy E. // Folia Microbiol. – 2018. – Vol. 63, № 2. – P. 147–153. IF=2.099 (**WoS/Scopus**).

7. Филипъчева, Ю.А. О вкладе агрегации клеток и экстраклеточной ДНК в формирование и стабилизацию биопленок бактерий *Azospirillum brasilense* / Филипъчева Ю.А., **Телешева Е.М.**, Евстигнеева С.С., Шелудько А.В., Пономарева Е.Г., Петрова Л.П., Кацы Е.И. // Изв. Сарат. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. – 2018. – Т. 18, вып. 4. – С. 399–406.

8. **Телешева, Е.М.** Анализ влияния протеаз на структуру биопленок штамма *Azospirillum brasilense* Sp245 и его дефектных по жгутикованию *mmsB1* и *fabG1* мутантов / **Телешева Е.М.,** Синякин Д.Н., Шелудько А.В., Филипьевичева Ю.А., Пономарева Е.Г., Петрова Л.П., Кацы Е.И. // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. – 2017. – Т.17, №3. – С. 322–327.

9. **Шумилова, Е.М. (Телешева Е.М.)** Изменение свойств клеточной поверхности и эффективности формирования биопленок у мутантов бактерии *Azospirillum brasilense* Sp245 по предполагаемым генам липидного метаболизма *mmsB1* и *fabG1* / **Шумилова Е.М. (Телешева Е.М.),** Шелудько А.В., Филипьевичева Ю.А., Евстигнеева С.С., Пономарева Е.Г., Петрова Л.П., Кацы Е.И. // Микробиол. – 2016. – Т. 85, № 2. – С. 162–170. IF=1.268. (**Scopus**).

10. Шелудько, А.В. Изменения в формировании биопленок у *flhB1* мутанта бактерии *Azospirillum brasilense* Sp245, лишённого жгутиков / Шелудько А.В., Филипьевичева Ю.А., **Шумилова Е.М. (Телешева Е.М.),** Хлебцов Б.Н., Буров А.М., Петрова Л.П., Кацы Е.И. // Микробиол. – 2015. – Т. 84, № 2. – С. 175–183. IF=1.268 (**Scopus**).

На диссертацию и автореферат поступило **4** положительных отзыва без замечаний от: **(1)** канд. биол. наук **Берестовской Юлии Юрьевны**, науч. сотр. лаборатории реликтовых микробных сообществ Института микробиологии им. С.Н. Виноградского Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук», г. Москва; **(2)** д-ра биол. наук **Карпуниной Лидии Владимировны**, профессора, профессора кафедры микробиологии, биотехнологии и химии Саратовского государственного аграрного университета им. Н.И. Вавилова, г. Саратов; **(3)** д-ра биол. наук **Сазыкина Ивана Сергеевича**, вед. науч. сотрудника лаборатории экологии и молекулярной биологии микроорганизмов, доцента кафедры биохимии и микробиологии Академии биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского Южного федерального университета, г. Ростов-на-Дону; **(4)** д-ра биол. наук **Ефремовой Сании Юнусовны**, профессора, проф. кафедры биотехнологии и техноферной безопасности Пензенского государственного технологического университета, г. Пенза.

Выбор официальных оппонентов обосновывается тем, что доктор биологических наук **Николаев Юрий Александрович** является признанным специалистом в области микробиологии, связанной с изучением ризосферных бактерий и формирования ими биопленочных сообществ, и имеет научные публикации в сфере исследований, соответствующей кандидатской диссертации Телешевой Е.М. (**Микробиология.** – 2017. – Т. 86, № 5. – С. 551–563; 2019. – Т. 88, № 3. – С. 288–296; 2019. – Т. 88, № 4. – С. 401–416; 2019. – Т. 88, № 4. – С. 497–500; 2019. – Т. 88, № 6. – С. 705–709; 2019. – Т. 88, № 6. – С. 710–714; 2020. – Т. 89, № 6. – С. 700–713; 2021. – Т. 90, № 1. – С. 76–89; 2021. – Т. 90, № 6. – С. 728–737; **Data Brief.** – 2019. – Vol. 27. - P. 104722);

кандидат биологических наук **Селицкая Ольга Валентиновна** является специалистом в области почвенной микробиологии и имеет научные публикации в сфере исследований, соответствующей кандидатской диссертации Телешевой Е.М. (**Естеств. Тех. Науки.** – 2021. – №8(159). – С. 63–65; 2021. – №6(157). – С. 40–43; **Microbiology (Mikrobiologiya).** – 2020. – Vol. 89, № 3. – P. 374–377; **Почвоведение.** – 2020. – №1. – С. 81–88; **Изв. Тимиряз. Сельскохоз. Акад.** – 2020. – № 1. – С. 105–121; 2019. – №4. – С. 88-103; **Вестн. Томск. Гос. Унив. Биол.** – 2019. – №46. – С. 26–47; **Достиж. Науки Техн. АПК.** – 2019. – Т. 33, №1. – С. 14–22; **Period. Tche Quim.** – 2019. – Vol. 16, №31. – P. 738–754; **Proc. Mongol. Acad. Sci.** – 2018. – V. 58, N2(226). – P. 60–67; **Науч. Жизнь.** – 2018. – №9. – С. 141–153; **Asian J. Microbiol. Biotech. Environ. Sci.** – 2017. – V. 19, N4. – P. 1083–1088).

Назначение ведущей организации обосновано широкой известностью ее достижений в области биотехнологий и фундаментальной биологии, в том числе микробиологии, с использованием растительно-микробных сообществ и наличием публикаций в сфере исследований, соответствующей кандидатской диссертации Телешевой Е.М. (**Ann. Botan.** – 2022. – V.129, N3. – P. 271–286; **Biolog. Rev.** – 2022. – V. 97, N1. – P. 45–66; **Plants.** – 2021. – V. 10, N12. - P. 2723; 2021. – V. 10, N7. – P. 1407; 2020. – V. 9, N9. – P. 1–30; **Int. J. Mol. Sci.** – 2021. – V. 22, N23. – P. 12781; 2021. – 22 (17). – 9594; **Phytopathology.** – 2021. – V. 111, N10. – P. 1811–1817; **J. Fungi.** – 2020. – V. 6, N4. – P. 1–36; **Sel'skokhoz.**

Biol. – 2019. – V. 54, N3. –P. 566–574), а также наличием ученых, являющихся безусловными специалистами по теме диссертации Телешевой Е.М.

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

разработана научная концепция комплексного изучения динамики образования биопленочных сообществ в разных условиях культивирования, позволяющая провести сравнительное исследование микроструктуры и процесса формирования биопленок бактериями штамма *Azospirillum baldaniorum* Sp245^T, имеющего двигательные органеллы, и его мутантами, утратившими способность к их образованию;

предложена процедура изучения влияния условий культивирования на формирование и развитие биопленок бактериями штамма *A. baldaniorum* Sp245^T, его мутантами, лишенными жгутиков, и их комплементантами, получившими в составе вектора pRK415 последовательность соответствующего гена, на границе раздела фаз жидкость – твердая поверхность, а также сравнения свойств клеточной поверхности вышеперечисленных бактерий и исследования углеводсодержащих и белковых компонентов биомассы биопленок *A. baldaniorum* Sp245^T;

доказано, что инактивация предполагаемых генов липидного метаболизма *fabG1* и *mmsB1* у мутантов *A. baldaniorum* SK039 и Sp245.1610 штамма *A. baldaniorum* Sp245^T, помимо дефектов в жгутиковании и подвижности клеток, приводит к изменению свойств клеточной поверхности и эффективности формирования биопленок; сохранение полярного жгутика клетками штамма *A. baldaniorum* Sp245^T способствует стабилизации биопленок и их устойчивости к воздействию внешних факторов, в частности, к силам гидродинамического сдвига;

введены новые представления о процессе адсорбции азоспирилл на различных поверхностях как одном их этапов формирования биопленок этими бактериями.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

доказана роль полярного жгутика *A. baldaniorum* Sp245^T в стабилизации биопленок и их устойчивости к действию сил гидродинамического сдвига;

прирост биомассы биопленок изучаемых штаммов определяется плотностью популяции бактерий, закрепившихся на субстрате, и не зависит от скорости роста планктонных культур;

применительно к проблематике диссертации результативно использован комплекс существующих базовых методов исследования: микробиологических (культивирование бактерий), биохимических (определение относительной гидрофобности поверхности бактериальных клеток, гемагглютинации, количественная оценка агрегации бактериальных культур), физико-химических (определение оптической плотности, абсорбционная и флуоресцентная спектроскопия, газожидкостная хроматография), иммунохимических (иммуноферментный анализ, двойная иммунодиффузия), а также методов микроскопии (атомно-силовая, фазово-контрастная, просвечивающая электронная) и статистического анализа;

изложены новые знания о формировании и микроструктуре биопленок, роли жгутиков, а также углеводсодержащих и белковых компонентах матрикса в обеспечении стабильности биопленок, расширяющие сложившиеся представления о взаимосвязи между процессами, обеспечивающими образование биопленочных сообществ и адаптацией этих бактерий к существованию в динамичной почвенной среде;

раскрыты механизмы формирования биопленок штаммом *A. baldaniorum* Sp245^T и его мутантами, а также механизмы участия в этом процессе матрикса, жгутиков и других структур бактериальных клеток, в том числе - определяющих их физико-химические свойства;

изучены свойства бактериального штамма *A. baldaniorum* Sp245^T (модельный штамм для исследований ассоциативных растительно-микробных взаимодействий) и его мутантов *A. baldaniorum* SK039, Sp245.1610 и Sp245.1063 с нарушениями в формировании и функционировании жгутиков;

проведено комплексное исследование биопленок бактерий со жгутиком штамма *A. baldaniorum* Sp245^T, а также биопленок мутантов, лишенных жгутиков, являющихся удобной моделью для изучения вклада других структур клеточной поверхности и экзополимеров в процесс формирования и

организации биопленок, образующихся на границе раздела фаз жидкая среда – твердая поверхность.

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

разработаны и внедрены материалы для учебной программы аспирантуры Института биохимии и физиологии растений и микроорганизмов Российской академии наук - обособленного структурного подразделения Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра «Саратовский научный центр Российской академии наук» при чтении лекций и выполнении практических занятий курса «Микробиология» и «Методы изучения бактериальной подвижности» (Справка о внедрении № 106-04-1.4-414.1 от 20.10.2021 г.) – учрежденческий уровень внедрения;

лекции для студентов направлений «Экология и природопользование», «Природообустройство и водопользование», «Энерго- и ресурсосберегающие процессы в химической технологии, нефтехимии и биотехнологии», «Техносферная безопасность» по следующим дисциплинам: «Микробиология», «Биотехнология», «Экология животных, растений и микроорганизмов» Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Саратовский государственный технический университет имени Гагарина Ю.А.» (Справка о внедрении от 20.10.2021 г.) – учрежденческий уровень внедрения);

методические рекомендации в работу научно-образовательного центра «Промышленная экология» Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Саратовский государственный технический университет имени Ю.А. Гагарина» в рамках проекта по оценке формирования и структуры бактериального загрязнения систем замкнутого водоснабжения (Справка о внедрении от 20.10.2021 г.) – учрежденческий уровень внедрения;

учебно-методическое пособие «Методы изучения формирования биопленок почвенными бактериями, стимулирующими рост растений» / Сост.: Мокеев Д.И., Евстигнеева С.С., **Телешева Е.М.** и др.; под ред. Ю.П.

Федоненко: учеб.–метод. пособие для студентов и аспирантов хим. и биол. профиля. – Саратов, 2021. – 40 с. (Выписка из протокола заседания Ученого совета № 4 от 12.04.2021 г.) – учрежденческий уровень внедрения;

определены перспективы проведенного исследования для практического применения в биотехнологических, медицинских и экологических отраслях – при подборе и конструировании микроорганизмов и их использовании в качестве биологически активных препаратов и удобрений;

создана система практических рекомендаций культивирования ассоциативных бактерий штамма *A. baldaniorum* для подбора способов управления механизмом формирования и дисперсии биопленок в экологических, медицинских и биотехнологических целях;

представлены сведения о динамике формирования биопленок исследованными бактериями *A. baldaniorum* и о влиянии на этот процесс условий культивирования (жидкая/плотная питательная среда, полужидкий агар LB и/или MSM; стационарные и/или динамические условия), а также результаты оценки устойчивости зрелых биопленок к действию протеолитических ферментов (протеиназа и трипсин) и физико-химических факторов (гидрофобная/гидрофильная поверхность, значение рН, ионная сила), которые будут полезны при разработке новых аграрных биотехнологий, основанных на использовании микроорганизмов, стимулирующих рост и развитие растений.

Оценка достоверности результатов исследования выявила, что:

результаты обоснованы большим объемом экспериментальных данных, полученных на сертифицированном и прошедшем поверку оборудовании, воспроизводимость результатов подтверждена проведением серии независимых экспериментов, проведена их статистическая обработка;

идея диссертационного исследования об анализе и структуре биопленок *A. baldaniorum* опирается на анализ имеющихся в научной литературе экспериментальных и теоретических данных, а также обобщения знаний мировых специалистов в области формирования биопленочных сообществ почвенными ризобактериями;

установлена корреляция полученных автором результатов с опубликованными ранее в научной литературе данными независимых зарубежных и отечественных авторов, касающихся последовательности этапов формирования и структуры биопленок *A. baldaniorum*;

использованы современные методы получения и обработки информации в рамках систем сбора, обработки и визуализации данных.

Личный вклад соискателя состоит в:

проведении автором лично следующих этапов работы: анализ научной литературы по теме, проведение экспериментов, анализ и обобщение полученных результатов, апробация результатов исследования, обработка, оформление и публикация результатов.

На заседании 20.05.2022 г. диссертационный совет принял решение присудить Телешевой Е.М. за решение важной для микробиологии и сельского хозяйства задачи по выяснению ряда критериев образования биопленок у фитоассоциированных бактерий *Azospirillum baldaniorum*, ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 20 человек, из них 9 докторов наук по специальности 1.5.11. Микробиология, участвовавших в заседании, из 23 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за 20, против 0, недействительных бюллетеней нет.

Председатель

диссертационного совета
академик РАН, д.м.н., профессор

(Дятлов Иван Алексеевич)

Ученый секретарь

диссертационного совета
к.б.н.

(Фурсова Надежда Константиновна)

Дата оформления Заключения – 20.05.2022 г.

Печать организации, на базе которой создан диссертационный совет.