

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

комиссии диссертационного совета 64.1.002.01 при Федеральном бюджетном учреждении науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора по кандидатской диссертации Телешевой Елизаветы Михайловны на тему: «Анализ формирования и микроструктуры биопленок *Azospirillum baldaniorum*», выполненной 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», на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.11. Микробиология

Соответствие соискателя ученой степени требованиям, необходимым для допуска к защите. Телешева Е.М. соответствует требованиям, изложенным в п. 3 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 г.: имеет высшее образование, подтвержденное дипломом Государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Саратовский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского» по специальности «Биология» с квалификацией «Биолог», выполнила диссертационную работу на базе Института биохимии и физиологии растений и микроорганизмов – обособленного структурного подразделения Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра «Саратовский научный центр Российской академии наук», давшего положительное заключение по данной диссертации; сдала кандидатские экзамены, о чем предоставлена справка.

Соответствие диссертации специальности, по которой совету предоставлено право защиты. Диссертация Телешевой Е.М. выполнена под руководством доктора биологических наук Шелудько Андрея Вячеславовича (специальность 1.5.11. Микробиология) на современном научно-методическом уровне с использованием микробиологических, биохимических и статистических методов исследования. Члены комиссии считают, что диссертация Телешевой Е.М. соответствует требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 г., предъявляемым к кандидатским диссертациям, отрасли науки «Биологические науки», паспорту специальности 1.5.11. Микробиология по пунктам 2 — «Выделение, культивирование, идентификация микроорганизмов» и 9 — «Участие микроорганизмов в круговороте веществ».

Полнота изложения материалов диссертации в работах, опубликованных автором. Выполнение требований к публикации основных научных результатов диссертации. По теме диссертации опубликовано 48 научных работ, из них 10 статей в журналах, входящих в базы данных международных индексов научного цитирования Scopus и в российских журналах, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки Российской Федерации, и одно учебно-методическое пособие, что является вполне достаточным для проведения защиты.

Автор самостоятельно провела информационный поиск и анализ литературных источников. Совместно с руководителем автор принимал непосредственное участие на всех этапах выполнения диссертационной работы: планировании и выполнении экспериментов, обсуждении полученных результатов, подготовке материалов исследования к публикации. Культивирование бактериальных культур, построение кривых роста, окрашивание биопленок азоспирилл кристаллическим фиолетовым, а также спектрофотометрия проводились соискателем лично.

Присвоения авторства чужого научного труда (плагиата), результатом которого может быть нарушение авторско-правового и патентного законодательства, в данной диссертации не обнаружено.

Диссертационная работа изложена на 175 страницах машинописного текста и включает следующие разделы: оглавление, введение, обзор литературы, основную часть, в которой изложены описание материалов и методов исследования, результаты экспериментальных исследований и их обсуждение, заключение, выводы, список сокращений и условных обозначений, список литературы. Список литературы включает 416 источников, в том числе 86 отечественных и 330 зарубежных авторов.

Актуальность выбранной темы определяется тем, что анализ процесса образования биопленок *Azospirillum baldaniorum* и их структурных компонентов необходим для понимания механизмов формирования и дисперсии биопленок и подбора способов управления данными процессами в экологических, медицинских и биотехнологических целях. Альфапротеобактерии *Azospirillum* заселяют разнообразные экологические ниши, в частности, обитают в фитосфере, и обладают гибким метаболизмом. Азоспириллы фиксируют азот, продуцируют фитогормоны, нейтрализуют токсические соединения. Эти бактерии способны улучшать поступление минеральных веществ в растения, подавлять развитие фитопатогенов и оказывать стимулирующее действие на рост и развитие широкого круга растений, в том числе, злаковых культур. Контакт и прикрепление к корням растений, с которыми они создают взаимовыгодные ассоциации, обеспечиваются благодаря полярным и латеральным флагеллам. Зафиксировавшись на поверхности,

микроорганизмы способны строить биопленки – сложные структуры, представляющие собой слизистый матрикс с внедренными в него бактериями. Внеклеточный матрикс биопленок содержит большое количество воды, состоит из различных биополимеров, обеспечивающих адгезию к поверхности, структурную и функциональную целостность пленок. Расположенные на бактериальной поверхности структуры и органеллы также интегрированы в матрикс, могут обеспечивать его стабильность и поддерживать архитектуру пленок, на которую оказывают влияние множество факторов, включая гидродинамические условия, концентрацию питательных веществ, подвижность бактерий и их коммуникацию друг с другом. У каждого вида, или даже штамма бактерий, структурные элементы биопленок и регуляторные механизмы их формирования могут различаться.

Цель работы – сравнительное исследование микроструктуры биопленок и процесса их формирования культурами штамма *A. baldaniorum* Sp245^T и его мутантами, утратившими способность к образованию двигательных органелл.

Научная новизна полученных результатов заключается в том, что отсутствие полярного жгутика у соответствующего мутанта *Azospirillum baldaniorum* Sp245^T влияет на продолжительность адгезии бактериальных клеток к модельной поверхности. Впервые показано, что прирост биомассы биопленок азоспирилл определяется плотностью популяции бактерий, закрепившихся на субстрате, и не зависит от скорости роста планктонных культур. Дальнейшее развитие биопленок обуславливают различные клеточные структуры, представленные на бактериальной поверхности, в том числе определяющие ее физико-химические свойства. Анализ влияния условий культивирования на формирование биопленок штаммом *A. baldaniorum* Sp245^T и его мутантом, лишенным жгутиков, с инактивированной хромосомной копией гена *flhB1* показал, что биопленки мутанта, содержащие меньшее количество биомассы, более подвержены воздействию сил гидродинамического сдвига. Сохранение полярного жгутика интегрированными в биопленку клетками родительского штамма *A. baldaniorum* Sp245^T или соответствующего мутанта, получившего в составе вектора pRK415 последовательность белка FlhB1 жгутиковой системы секреции III типа, способствует ее стабилизации. Обнаружено, что инактивация предполагаемых генов липидного метаболизма *fabG1* и *mmsB1* у бактерии *A. baldaniorum* Sp245^T приводит не только к нарушениям в жгутиковании и подвижности клеток, но и к изменению содержания жирных кислот в составе липополисахаридов, степени гидрофобности, гемагглютинирующей активности, способности к агрегации клеток, уменьшению количества биомассы биопленок. В зрелых биопленках соответствующих мутантов,

