

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Евстигнеевой Стеллы Сергеевны на тему: «Гликополимеры внешней мембраны и внеклеточные полисахариды ассоциативных бактерий рода *Azospirillum* в адаптации к условиям существования», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.11 Микробиология

Проблема применения микробных культур в сельском хозяйстве с целью повышения эффективности безопасного растениеводства активно обсуждается в специальной литературе. Результаты соответствующих теоретических исследований находят практическое применение в агротехнике, однако химические удобрения по-прежнему остаются более предпочтительными при интенсивном земледелии. Тем не менее, рецензируемая диссертационная работа «Гликополимеры внешней мембраны и внеклеточные полисахариды ассоциативных бактерий рода *Azospirillum* в адаптации к условиям существования» открывает новые возможности для перехода к планомерной экологизации агропромышленного комплекса. Главная идея автора заключается в том, что ассоциативные взаимоотношения между высшими растениями и ризобактериями должны эксплуатироваться на уровне многокомпонентных динамических сообществ, причем оптимизация подобных ассоциаций на молекулярном уровне невозможна без знаний о структуре и свойствах компонентов бактериальной поверхности. Особую роль в установлении контакта и посреднических взаимодействиях с растениями играют экстраклеточные и мембранные гликополимеры, исследованию которых при изменении условий культивирования и посвящена данная работа.

В диссертации были изучены два штамма бактерий рода *Azospirillum* – эндофитный *A. baldaniorum* Sp245 и галотолерантный *A. halopraeferens* Au4. Для достижения поставленной цели было сформулировано четыре задачи, успешно решенных при выполнении данного исследования. По итогам работы был получен ряд новых данных. Так, несомненной новизной является факт установления структуры липополисахарид-белкового комплекса капсулы бактерий *A. baldaniorum* Sp245 и обнаружение белков, входящих в его состав. Для определения структуры полисахарида капсульного материала автор использовал газожидкостную хроматографию и ЯМР-спектроскопию, а методом масс-спектрометрии с помощью программного обеспечения Mascot были идентифицированы белки. При биоинформатическом анализе обнаруженных белковых молекул был применен ряд ресурсов для изучения их трансмембранной природы, определения вторичной структуры и амилоидных свойств, а также 3D-моделирования.

Важным результатом работы является выявление модификаций структуры экстраклеточных и мембранных гликанов *A. baldaniorum* Sp245 при изменении условий выращивания, а также стрессовых воздействий. С помощью современных физико-химических методов была определена структура полисахарида, который синтезировался бактериями *A. baldaniorum* Sp245 при культивировании в среде с фруктозой в качестве единственного источника углерода, а также при температурном и солевом стрессах.

Значительный вклад в расширение представлений о существовании ризобактерий на поверхности корней растений внесет впервые проведенная характеристика особенностей формирования биопленок бактериями *A. baldaniorum* Sp245 и *A. halopraeferens* Au4. Выделенные гликополимеры поверхности клеток и матрикса биопленок были проанализированы комплексом передовых методических приемов. В результате было установлено, что при образовании биопленок бактерии *A. halopraeferens* Au4 продуцируют дополнительный полисахарид в составе липополисахаридов внешней мембраны, а также в составе матрикса. Оценка компонентного состава матриксов биопленок показала преобладание белковых молекул в широком диапазоне молекулярных масс, а также присутствие углеводных составляющих, представленных молекулами липополисахаридов.

Кроме получения фундаментальных знаний, диссертационная работа имеет и весомый практический выход. Полученные образцы гликанов применяются студентами бакалаврами и магистрами Саратовского национального исследовательского государственного университета им. Н.Г. Чернышевского при подготовке выпускных квалификационных работ. Материалы диссертации также вошли в учебное-методическое пособие «Методы изучения формирования биопленок почвенными бактериями, стимулирующими рост растений» (Саратов, 2021; 40 с.).

Принципиальных замечаний по тексту автореферата не возникло, при этом, все же, некоторые моменты требуют пояснения и дискуссии:

1. С чем может быть связано наличие в капсульном материале бактерий *A. baldaniorum* Sp245 белков внешней мембраны? Какую адаптивную роль несет в себе подобный феномен?
2. С какой целью была проведена оценка амилоидных свойств белков капсулы бактерий *A. baldaniorum* Sp245?
3. Почему для экспериментов с биопленками азоспирилл были выбраны именно биопленки на границе фаз «воздух-жидкость»? Корректно ли экстраполировать полученные результаты применительно к биопленочным сообществам, которые формируют данные бактерии на поверхности корней в почве?

Экспериментальные данные, полученные в ходе выполнения диссертации, достаточно полно представлены в четырех статьях в журналах из списка ВАК, двух зарубежных работах и 11 тезисах, а также прошли апробацию на конференциях различного уровня.

По комплексу методических подходов, цели, задачам, изученной проблеме и полученным данным диссертационное исследование соответствует пунктам 1 и 7 паспорта специальности 1.5.11 Микробиология.

Таким образом, диссертационная работа Евстигнеевой Стеллы Сергеевны «Гликополимеры внешней мембраны и внеклеточные полисахариды ассоциативных бактерий рода *Azospirillum* в адаптации к условиям существования» является законченной научно-квалификационной работой, выполненной лично автором на высоком методическом уровне. Диссертация соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям (пп. 9-11, 13 и 14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24.09.2013 г.), а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.11 Микробиология.

Отзыв составлен:

Гоголев Юрий Викторович
доктор биологических наук
по специальности 1.5.21 Физиология и биохимия растений,
заведующий лабораторией молекулярной биологии
Казанского института биохимии и биофизики –
обособленного структурного подразделения
Федерального исследовательского центра
«Казанский научный центр Российской академии наук»
Почтовый адрес: 420111, г. Казань, ул. Лобачевского, 2/31
Телефон: +7(843)2927347, +7(843)2927535
E-mail: gogolev@kibb.knc.ru, gogolev.yuri@gmail.com
Гоголев Ю.В.

Гоголев Ю.В.

Подпись Гоголева Юрия Викторовича заверяю

19.11.2021



Подпись *Гоголева Ю.В.*
ЗАВЕРЯЮ
НАЧАЛЬНИК
ОТДЕЛА ПРОТОКОЛА
И ДЕЛОПРОИЗВОДСТВА *Самоеднова Е.А.*
« 19 » 11 20 21 г.