

## ОТЗЫВ

официального оппонента по диссертационной работе  
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

**Актуальность работы.** Одним из наиболее перспективных направлений современной сельскохозяйственной науки, которые предусматривают снижение деградации почв, а также повышение их плодородия, является эффективная разработка и грамотное применение биоудобрений. Внесение биопрепаратов в почву способствует ускорению процесса гумификации, улучшению водно-физических свойств и теплового режима почвы, стимулирует рост и развитие хозяйственно значимых культур. Несмотря на то, что применение микробных препаратов в настоящее время активно изучается, и их положительное воздействие в большинстве случаев подтверждено, опыт их практического применения в сельском хозяйстве все еще невелик. В качестве основных компонентов подобных биоудобрений могут выступать граммотрицательные почвенные бактерии рода *Azospirillum*, которые формируют ассоциации с широким спектром дикорастущих и культурных растений. В образовании таких ассоциаций на молекулярном уровне участвуют гликополимеры поверхности азоспирилл, к числу которых относятся полисахариды капсулы (КПС) и липополисахариды (ЛПС) внешней мембраны, а также секретлируемые во внешнюю среду экзополисахариды (ЭПС). Оптимизация ассоциативных отношений азоспирилл и растений невозможна без знаний об адаптивном ответе гликанов внешней мембраны бактерий и их внеклеточных форм на такие воздействия как природа источника углерода и концентрация хлорида натрия в среде, фаза роста и температура. Поскольку бактерии обитают на корнях растений преимущественно в составе биоплёнок, исследования состава и структуры углеводных компонентов внешней мембраны клеток и матрикса биоплёнок играют ключевую роль для установления основ растительно-микробных взаимодействий. Фундаментальные знания о роли гликополимеров поверхности и их экстраклеточных форм в защитных реакциях азоспирилл на стрессовые воздействия, а также в иммобилизации бактерий в случае образования биоплёнок, внесут существенный вклад в разработку эффективных микробных удобрений с широким спектром применения.

Изложенное выше аргументирует **актуальность** диссертационной работы Стеллы Сергеевны Евстигнеевой, **целью** которой является характеристика структуры гликополимеров внешней мембраны и внеклеточных полисахаридов ассоциативных бактерий рода *Azospirillum* при адаптации к условиям существования.

Сформулированные в работе **задачи** соответствуют цели исследований, конкретны и логичны в последовательности решений.

**Научная новизна** полученных результатов несомненна. **Во-первых**, установлена структура липополисахарид-белкового комплекса (ЛПБК), полученного из КПС бактерий *A. baldaniorum* Sp245. **Во-вторых**, впервые были выделены и идентифицированы белки, входящие в состав ЛПБК капсулы *A. baldaniorum* Sp245 – основной белок наружной мембраны OтаА и OmpW-подобный белок. **В-третьих**, выявлены изменения состава и

структуры ЭПС, КПС и ЛПС бактерий *A. baldaniorum* Sp245 при варьировании условий культивирования (природы источника углерода и концентрации хлорида натрия в питательной среде, фазы роста и температуры). **В-четвёртых**, определена структура дополнительного полисахарида (ПС), который синтезировался в составе экстраклеточных и мембранных гликополимеров бактериями *A. baldaniorum* Sp245 при росте в среде с фруктозой, а также в условиях температурного и солевого стрессов. **В-пятых**, впервые были выделены и охарактеризованы ЛПС и внеклеточный полимерный матрикс (ВПМ) биопленок бактерий *A. baldaniorum* Sp245 и *A. halopraeferens* Au4. **В-шестых**, установлено, что при переходе от планктонного культивирования к образованию биопленок бактерии *A. halopraeferens* Au4 продуцируют дополнительный глюкан в ЛПС. **В-седьмых**, в составе ВПМ биопленок исследуемых штаммов преобладали белки в широком диапазоне молекулярных масс ~20-80 кДа. Углеводная фракция ВПМ была представлена молекулами ЛПС, а также синтезированным *de novo* гомоглюканом в случае галотолерантного штамма.

**Теоретическая и практическая значимость работы** заключается в том, что

- Результаты настоящей работы имеют фундаментальное значение для выяснения закономерностей адаптации почвенных бактерий к неблагоприятным условиям окружающей среды, а также роли в адаптации экстраклеточных и мембранных гликополимеров ассоциативных бактерий.

- Учитывая, что стимулирующие рост и развитие растений бактерии рода *Azospirillum* могут быть использованы для разработки комплексных биоудобрений, полученные данные помогут оптимизировать применение таких биопрепаратов в различных климатических и почвенных условиях, поскольку выбранные для исследования штаммы, образующие ассоциации с ценными для сельского хозяйства зерновыми и кормовыми культурами, широко распространены как на территории Российской Федерации, так и за рубежом.

- Препараты экстраклеточных и мембранных гликополимеров бактерий *A. baldaniorum* Sp245 и *A. halopraeferens* Au4, выращенных при различных условиях, используются при выполнении плановых НИР в лаборатории биохимии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биохимии и физиологии растений и микроорганизмов Российской академии наук (ИБФРМ РАН).

- Полученные образцы гликанов применяются студентами бакалаврами и магистрами Саратовского национального исследовательского государственного университета им. Н.Г. Чернышевского (СГУ) при подготовке выпускных квалификационных работ.

- Весьма важным является тот факт, что научно-методические подходы, которые были разработаны при выполнении данного диссертационного исследования, включены в учебное пособие «Методы изучения формирования биопленок почвенными бактериями, стимулирующими рост растений» / Сост.: Мокеев Д.И., Евстигнеева С.С., Телешева Е.М., Дятлова Ю.А., Шелудько А.В., Широков А.А., Матора Л.Ю., Тугарова А.В., Камнев А.А., Филиппичева Ю.А., Петрова Л.П.; Под ред. Ю.П. Федоненко; Саратов, 2021; 40 с.

Отметим также, что выполнение диссертационной работы на всех этапах было поддержано грантами Российского Научного Фонда: РНФ 2014-2016 гг., №14-04-01658, РНФ 2015-2016 гг., №15-04-00353 и РНФ 2018-2020 гг., №18-34-00089: что **подтверждает научную и теоретическую ценность** данной работы.

### **Краткая характеристика основного содержания диссертации**

Диссертационная работа написана по **традиционной схеме** и состоит из введения, в котором описаны актуальность, новизна и научно-практическая значимость изучаемой проблемы; *Главы 1*, которая включает обзор литературы; *Главы 2* – с изложением основных сведений о материалах и методах исследования, *Главы 3*, в которой описаны результаты собственных исследований соискателя и их обсуждения, а также заключения, выводов, рекомендаций по использованию результатов диссертационного исследования, списка цитируемой литературы и списка работ, опубликованных по теме диссертации. Работа изложена на 165 страницах, содержит 16 таблиц и проиллюстрирована 23 рисунками. В списке литературы указаны ссылки на 317 источников, из которых 54 цитируемых работы на русском языке и 263 работы на иностранном языке.

В **литературном обзоре (Глава 1)**, изложенном на 33 страницах, приведены сведения о бактериях рода *Azospirillum* как представителях группы ризобактерий, стимулирующих рост и развитие растений. Охарактеризованы основные этапы ассоциативного взаимодействия растений с бактериями *Azospirillum* на молекулярном уровне. Описан вклад экстраклеточных и мембранных гликополимеров азоспирилл в образование растительно-микробных ассоциаций. Проанализированы данные о формировании биопленок бактериями рода *Azospirillum*, а также ряда мутантных штаммов на гидрофильных и гидрофобных поверхностях. Описаны возможные варианты функционирования мультивидовых биопленок с участием бактерий *Azospirillum*. Рассмотрены основные адаптационные реакции азоспирилл на изменение условий существования (природа источника углерода и соотношение источников углерода и азота в питательной среде, а также осмотический и температурный стрессы). **Приведённые в литературном обзоре сведения полностью соответствуют по тематике проведённому автором исследованию и подтверждают актуальность последнего.**

В **Главе 2 «Материалы и методы»** подробно представлены приборы и оборудование, на которых проводились исследовательские работы. Соискатель тщательно описывает методы выделения и характеристики структуры ЭПС, КПС и ЛПС азоспирилл, а также процедуры получения и анализа ВПМ и ЛПС биопленок данных бактерий. Кроме того, автор раскрывает биоинформатический подход к характеристике выделенных белков капсульного материала, в том числе их 3D-моделирование и оценку амилоидных свойств. В данной главе приведены использованные методики, которые были представлены ранее в цитируемой литературе и модифицированы для решения поставленных задач. **Не вызывает сомнений высокий уровень исполнения исследования, свидетельствующий о необходимой для этого квалификации диссертанта.**

**Глава 3 «Результаты и обсуждение»** посвящена собственно исследованию гликополимеров внешней мембраны и внеклеточных полисахаридов ассоциативных бактерий рода *Azospirillum* в адаптации к условиям существования.

В **Разделе 3.1** соискатель описывает характеристику структуры ЛПБК из капсульного материала бактерий *A. baldaniorum* Sp245, выращенных в среде с малатом натрия до окончания экспоненциальной фазы роста. **Подраздел 3.1.1** посвящен анализу структуры ПС, выделенного из ЛПБК *A. baldaniorum* Sp245. В составе образца ЛПБК найдены углеводы, в том числе 2-кето-3-дезоксиктоновая кислота (Kdo), белки и остатки фосфорной кислоты. Гидрофобная составляющая данного препарата содержала 3-гидроксикислоты, предельные и непредельную жирные кислоты. Среди моносахаридов

преобладала D-рамноза (D-Rha, 98%). По данным ЯМР-спектроскопии структура повторяющегося звена ПС, выделенного из ЛПБК, идентична структуре повторяющегося звена О-полисахарида (ОПС) гомологичного штамма:  $\rightarrow 2)\text{-}\beta\text{-D-Rhap}^{\text{I}}\text{-(1}\rightarrow 3)\text{-}\alpha\text{-D-Rhap}^{\text{II}}\text{-(1}\rightarrow 3)\text{-}\alpha\text{-D-Rhap}^{\text{III}}\text{-(1}\rightarrow 2)\text{-}\alpha\text{-D-Rhap}^{\text{IV}}\text{-(1}\rightarrow 2)\text{-}\alpha\text{-D-Rhap}^{\text{V}}\text{-(1}\rightarrow$ . В **Подразделе 3.1.2** соискатель приводит характеристику белков в ЛПБК бактерий *A. baldaniorum* Sp245. Методом электрофореза выявлены два преобладающих белка с кажущимися молекулярными массами ~30 и 42 кДа. С применением метода МАЛДИ масс-спектрометрии и поискового алгоритма MASCOT было установлено, что белок с массой 42 кДа соответствует основному белку наружной мембраны OmaA бактерий *A. baldaniorum* Sp245, а белок с массой 30 кДа является канал-образующим OmpW-подобным белком наружной мембраны. Методами биоинформатического анализа и 3D-моделирования соискателем создана трёхмерная модель названных белков, а также определены их амилоидные свойства. **Представленные в данном разделе результаты получены впервые и являются ключевыми для анализа взаимосвязи «структура-свойство» у гликополимеров азоспирилл, ответственных за осуществление молекулярного диалога с растениями.**

В **Разделе 3.2** диссертант приводит результаты исследования влияния условий культивирования на структуру экстраклеточных и мембранных гликополимеров бактерий *A. baldaniorum* Sp245. **Подраздел 3.2.1** содержит результаты изучения влияния природы источника углерода в питательной среде (малат натрия, либо фруктоза), а также фазы роста (экспоненциальная, 24 ч или стационарная, 120 ч) на состав и структуру КПС и ЛПС бактерий *A. baldaniorum* Sp245. Показано, что изменение источника углерода в питательной среде и увеличение времени роста азоспирилл приводят к возрастанию доли углеводов и остатков фосфорной кислоты, а также к увеличению содержания непредельных жирных кислот как в капсульных, так и в мембранных гликополимерах.

При выращивании бактерий *A. baldaniorum* Sp245 в среде с малатом натрия доля D-Rha в гликанах составляла 95-98%, вне зависимости от фазы роста, тогда как в среде с фруктозой – уже к 24 ч роста помимо D-Rha выявлялась D-глюкоза (D-Glc), причем ее содержание снижалось к пятым суткам. В ЯМР-спектрах ПС'ов, выделенных из соответствующих гликанов, были выявлены все сигналы, характерные для пентарамнанового повторяющегося звена, а также сигналы разной интенсивности, принадлежащие D-Glc. Установлено, что дополнительный ПС, обнаруженный в составе гликанов *A. baldaniorum* Sp245 при выращивании в среде с фруктозой, представляет собой гомоглюкан с повторяющимся звеном следующей структуры:  $\rightarrow 3)\text{-}\alpha\text{-D-Glcp}\text{-(1}\rightarrow$ . **Строение вспомогательного ПС, который синтезировался бактериями *A. baldaniorum* Sp245 при изменении условий культивирования, установлено впервые.**

**Подраздел 3.2.2** посвящен изучению структуры и свойств ЭПС, КПС и ЛПС бактерий *A. baldaniorum* Sp245 при культивировании в условиях температурного и солевого стрессов. Первоначально соискателем были подобраны температура культивирования (42°C) и концентрация NaCl (250 мМ) в питательной среде, которые позволили получить необходимое количество биомассы и оценить воздействие стрессового фактора на экстраклеточные и мембранные гликаны. Показано, что при температурном и солевом стрессах **а)** к 6-8 ч роста происходит агрегация клеток (26 и 48%, соответственно); **б)** в ЭПС, КПС и ЛПС бактерий *A. baldaniorum* Sp245 наблюдается

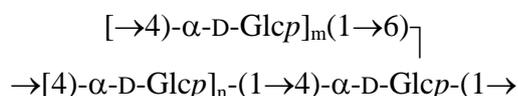
увеличение доли углеводов, остатков фосфорной кислоты и непредельных жирных кислот; **в)** в моносахаридном составе ЭПС бактерий при 42°C увеличивается содержание Glc на 8% относительно контроля, а в условиях засолённости – не имеется существенных отличий от контроля, за исключением небольшого увеличения содержания фукозы (Fuc); **г)** в моносахаридном составе КПС бактерий температурный стресс приводит к возрастанию доли Glc на 25% по сравнению с контролем и появлению остатков Fuc (18%) и галактозы (Gal) (14%), а при солевом стрессе – только увеличение содержания Glc на 20%; **д)** в опытных образцах ЛПС была обнаружена сходная с образцами ЭПС и КПС тенденция накопления Glc. **Таким образом, соискателем впервые была продемонстрирована адаптивная реакция бактерий рода *Azospirillum* со стороны экстраклеточных и мембранных гликанов на стрессовые воздействия.**

В Разделе 3.3 исследованы структурные особенности гликополимеров матрикса и поверхности иммобилизованных в биопленках клеток *A. baldaniorum* Sp245 и *A. halopraeferens* Au4. Биопленки бактерий рода *Azospirillum* выращивали на поверхности раздела фаз «воздух-жидкость» по схеме, разработанной диссертантом на основании литературных данных.

В Подразделе 3.3.1 охарактеризованы биопленки и состав углеводных компонентов матрикса и поверхности клеток бактерий (ЛПС<sub>Б</sub>) *A. baldaniorum* Sp245. Максимальная толщина «зрелой формы» биопленок ( $82.4 \pm 7.4$  мкм) была достигнута к пятым-шестым суткам выращивания. С помощью конфокальной микроскопии с флуоресцентным мечением продемонстрировано распределение белковых и углеводных компонентов по площади биопленок. Содержание **белка** в выделенном образце внеклеточного полимерного матрикса (ВПМ) биопленок бактерий *A. baldaniorum* Sp245 составляло не менее **70%**, а гликаны из ВПМ содержали характерные для ЛПС компоненты: углеводы, 3-гидроксикислоты, остатки Kdo и фосфорной кислоты, и были обозначены как ЛПС<sub>М</sub>. При анализе состава гидрофобных компонентов в ЛПС<sub>Б</sub> выявлено преобладание 3-гидроксикислот, содержание которых достигало 64% от суммы идентифицированных кислот, тогда как в ЛПС<sub>М</sub> их содержание составляло приблизительно 15%, а доминирующей являлась непредельная кислота. В моносахаридном составе препаратов ЛПС<sub>М</sub> и ЛПС<sub>Б</sub> биопленок штамма Sp245 было обнаружено преобладание **D-Rha**. **Таким образом, впервые были установлены особенности образования биопленок бактериями штамма *A. baldaniorum* Sp245, определен состав их ВПМ и охарактеризованы гликополимеры поверхности клеток и ВПМ.**

В Подразделе 3.3.2 соискатель описывает изучение **структуры гликополимеров матрикса и поверхности клеток** из биопленок галотолерантных бактерий *A. halopraeferens* Au4. Данные бактерии также, как и *A. baldaniorum* Sp245, образовывали биопленки в стационарных условиях. Максимальная толщина «зрелых» биопленок штамма Au4 составляла  $67.5 \pm 5.1$  мкм. Из этих биопленок также были получены образцы ЛПС<sub>М</sub> и ЛПС<sub>Б</sub>. Результаты электрофореза препарата ВПМ выявили белковые полосы в широком диапазоне кажущихся молекулярных масс по аналогии с ВПМ биопленок штамма Sp245. Химический анализ ЛПС<sub>Б</sub> и ЛПС<sub>М</sub> показал наличие близких по содержанию углеводов, остатков Kdo и фосфорной кислоты, а также сходный состав и соотношение жирных кислот. В моносахаридном составе ЛПС<sub>М</sub> и ЛПС<sub>Б</sub> штамма Au4 присутствовали остатки Rha, Fuc, ксилозы (Xyl), Glc, а также метилированного

производного Rha (Rha2OMe). Сходный состав был установлен для ОПС планктонных клеток *A. halopraeferens* Au4, однако содержание Glc в ЛПС<sub>М</sub> и ЛПС<sub>Б</sub> было **в 1.5-2 раза выше**. Из препарата ЛПС<sub>Б</sub> штамма Au4 были выделены две полисахаридные фракции ОПС<sub>I</sub> и ОПС<sub>II</sub>. По данным ЯМР-спектроскопии оказалось, что ОПС<sub>I</sub> оказался близок по структуре к крахмалу и имеет следующее повторяющееся звено:



В ЯМР-спектрах ОПС<sub>II</sub> присутствовали сигналы четырех типов повторяющихся звеньев, установленных ранее в составе ОПС планктонной культуры, однако, их соотношение было иным. Степень гликозилирования ОПС<sub>II</sub> составляла **~25%**, а степень метилирования – 45%, тогда как ОПС планктонной культуры гликозилирован на **65%**, а степень его метилирования также составляла 45%.

Таким образом, диссертантом **впервые** были выделены и проанализированы гликаны поверхности клеток и матрикса биопленок двух штаммов *A. baldaniorum* Sp245 и *A. halopraeferens* Au4, в том числе, установлена структура ранее не встречающегося у азоспирилл дополнительного ПС, который синтезировался бактериями *A. halopraeferens* Au4 как в составе ЛПС, так и в составе ВПМ.

В разделе **Заключение** приведены основные достижения исследовательской работы и обсуждается значение полученных результатов для фундаментальной и прикладной науки. **Выводы** являются четко обоснованными, логично вытекают из экспериментальных данных и находятся в полном соответствии с содержанием работы. Раздел **Рекомендации по использованию результатов диссертационного исследования** содержит краткие предложения по возможному применению основных данных экспериментальной работы в биотехнологии и агропромышленном комплексе.

**Достоверность результатов** диссертационного исследования подтверждена корректным использованием современных методов с привлечением сертифицированного оборудования, в том числе проведением экспериментов с достаточным количеством повторностей и грамотной статистической обработкой полученных данных. В диссертации полно отражен **личный вклад** соискателя в проведении экспериментальных работ.

**Автореферат** соответствует основному содержанию диссертации. **Основные результаты** и положения, изложенные в диссертации, **полно отражены в опубликованных в рецензируемой печати статьях**: в **2х** статьях в изданиях, рекомендованных ВАК РФ для публикации основных научных результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, в **4х** статьях в изданиях, входящих в международные реферативные базы данных и системы цитирования Web of Science и Scopus, а также представлены в докладах на научных конференциях различного уровня и в **11ти публикациях** в материалах конференций.

В целом диссертационная работа и Автореферат написаны правильным русским языком, стройно и логично изложен фактический материал, в конце разделов автор делает логичные выводы. Однако были выявлены и некоторые недочёты.

### Замечания по диссертационной работе:

1. Стр. 6, строка 5 снизу: неудачно выбрано слово «изучение влияния отличных по природе источников углерода». Видимо, лучше **«отличающихся по природе...»**.
  2. Стр. 14, абзац 2, строка 6: видимо, всё-таки не «сорт растений», а **«вид растений»?**
  3. Стр. 23, абзац 3, строка 4: «слабо выраженным хемотаксономическим ответом» следует писать «слабо выраженным хемотаксисным ответом».
  4. Стр.23, абзац 4, строка 3 снизу: такая же ошибка.
  5. Стр. 63, строка 1 сверху: надо сказать, что возвратные глаголы вообще не приветствуются при написании статей и научных работ; лучше было бы перефразировать предложение, но это, видимо, в другой раз: **«...фракцию ЛПБК, которая была элюирована с холостым объёмом, а за ней следовала...»**
  6. Стр. 66, абзац 1, строка 7: Очень длинное, неправильно составленное предложение, в котором сложно найти смысл; кроме того, в нём два раза употреблено слово «однако».
  7. Стр. 67, первая строка сверху: «обуславливают» следует писать **обуслОвливают** (проверочное слово – **услОбие**). Далее по тексту имеются такие же ошибки.
  8. Стр. 89, абзац 3 в диссертации, а также Автореферат, стр. 14: в текстах, касающихся ЯМР-исследований, каждый раз следует указывать, **на каких атомах** проведён ЯМР-эксперимент. Константа Спин Спинового Взаимодействия обозначается: **КССВ** или **<sup>3</sup>J<sub>н.н.</sub>**. Кроме того, Автореферат, стр. 14, абзац 3: обсуждение сигналов в <sup>1</sup>H и <sup>13</sup>C-ЯМР спектрах: видимо, следовало бы обозначить сигналы протонного и углеродного спектров общепринятыми знаками, а именно: **δ<sub>H</sub> 5.36** и **δ<sub>C</sub> 101.1** м.д.
  9. Стр. 97, абзац 2, строка 3: написано «были выделяли», исправить **«были выделены»**.
  10. Тексты и диссертации, и автореферата изобилуют аббревиатурами, но **список сокращений в автореферате отсутствует**, что затрудняет его восприятие.
- Сделанные замечания отнюдь не умаляют достоинств диссертационной работы. Хотелось бы пожелать, чтобы высказанные замечания автор учел в дальнейшей научной работе.

### Вопросы:

1. Диссертант пишет, что «...ПС капсульных и мембранных гликополимеров бактерий *A. baldaniorum* Sp245 демонстрируют структурную и антигенную идентичность, однако, выявлены различия в их биологической активности. Пожалуйста, поясните это высказывание: о какой биологической активности идёт речь и чем можно объяснить это явление?
2. Диссертант пишет о присутствии Rha как наиболее часто встречающегося моносахарида в структурах повторяющихся звеньев ОПС азоспирилл. Речь идёт только о D-Rhap или встречается и L-Rhap? Что Вам известно о биологической роли рамнозы в составе поверхностных структур гликополимеров у микроорганизмов?

### Заключение

Данная диссертация выполнена на **высоком научном уровне** и имеет важное значение для понимания роли гликополимеров поверхности и их экстраклеточных форм в защитных реакциях ассоциативных ризобактерий на стрессовые воздействия, а также об особенностях иммобилизации бактерий в случае образования биопленок. Совокупность сведений о структуре экстраклеточных и мембранных гликополимеров азоспирилл при

стрессовых воздействиях может быть применена для оптимизации интродукции бактерий в почву для увеличения урожайности культурных растений. Разработка биоудобрений на основе бактерий рода *Azospirillum* позволит поддержать баланс органических и минеральных компонентов в почве и избежать нанесения вреда окружающей среде.

Таким образом, можно заключить, что по актуальности, объему исследовательской работы, новизне полученных данных, а также их важности для фундаментальной и прикладной науки диссертационная работа Евстигнеевой Стеллы Сергеевны на тему «Гликополимеры внешней мембраны и внеклеточные полисахариды ассоциативных бактерий рода *Azospirillum* в адаптации к условиям существования», соответствует требованиям к кандидатским диссертациям (пп. 9-11, 13, 14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» №842, утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г., с изменениями в редакции постановлений Правительства Российской Федерации №335 от 21 апреля 2016 г., № 748 от 02 августа 2016 г., № 650 от 29 мая 2017 г., № 1024 от 28 августа 2017 г. и № 1168 от 01 октября 2018 г.), а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.11 Микробиология.

Официальный оппонент:

Тулская Елена Михайловна по

Доктор биологических наук по специальности 03.00.07 (ныне 03.02.03) – Микробиология, доцент, старший научный сотрудник лаборатории физиологии и биохимии микробов кафедры микробиологии биологического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»

119234 г. Москва Ленинские горы, 1, строение 12.

Моб.телефон 8 916 080 32 19; E-mail: em\_tulskaya@mail.ru

«02» ноября 2021 г.

Подпись руки д.б.н., ст.н.с. Е.М. Тульской заверяю.

Декан биологического ф-та ФГБОУ ВО «Московский государственный

университет имени М.В.Ломоносова»

академик М.П. Кирпичников



7