



**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

14.07.2021

№

17401-931.1-1075

На № _____

«УТВЕРЖДАЮ»

Председатель федерального
государственного бюджетного
научного учреждения Уфимского
федерального исследовательского
центра Российской академии наук,
доктор химических наук, профессор



Захаров В.П.

« _____ » 2021г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

**Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского
федерального исследовательского центра Российской академии наук**

Диссертационная работа Сарваровой Елены Рафисовны «Поиск новых свойств эндофитных бактерий *Bacillus subtilis* Cohn.» выполнена в лаборатории биохимии иммунитета растений Института биохимии и генетики – обособленного структурного подразделения Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук (ИБГ УФИЦ РАН).

Научный руководитель – Хайруллин Рамиль Магзинурович, доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории биохимии иммунитета растений ИБГ УФИЦ РАН.

В 2013 году Сарварова Е.Р. окончила Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Башкирский государственный педагогический университет им. М. Акмуллы» по специальности «Генетика».

С 30.08.2013 г. по 29.08.2016 г. соискательница проходила обучение в очной аспирантуре по направлению подготовки 06.06.01 – биологические науки, специальность 03.01.05 – Физиология и биохимия растений в Институте биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН (в настоящее время ИБГ УФИЦ РАН). В 2016 г. в связи с выявлением новых свойств эндофитных бактерий *Bacillus subtilis* и использованием в работе преимущественно микробиологических методов, по представлению научного руководителя была изменена тема диссертационных исследований, а также специальность подготовки, которые утверждены на заседании Ученого совета Института биохимии и генетики УФИЦ РАН, протокол № 9 от 28.06.2016.

Кандидатские экзамены сданы 11 июня 2014 г. (История и философия науки (биологические науки)) – удостоверение о сдаче кандидатского экзамена № 143-14 выдано 11.06.2014 г. ФГБОУ ВПО Башкирский государственный университет, 9 мая 2014 г. (Иностранный язык (английский)) – протокол о сдаче кандидатского экзамена выдан 29.05.2014 г. ФГБУН Института биохимии и генетики Уфимского научного центра Российской академии наук, 13 ноября 2017 г. (Микробиология) – справка о сдаче кандидатского экзамена выдано 13.11.2017 г. ФГБУН Уфимский институт биологии Российской академии наук.

В октябре 2016 г. Сарварова Е.Р. была принята на работу в лабораторию биохимии иммунитета растений ИБГ УФИЦ РАН на должность младшего научного сотрудника. В 2019 г. перешла на работу в лабораторию геномики растений того же института, где работает по настоящее время.

По итогам обсуждения диссертационной работы Сарваровой Е.Р. принято следующее заключение:

1. Актуальность проблемы. Диссертационная работа Сарваровой Е.Р. посвящена выделению новых эндофитных бактерий из растений различных видов, выявлению у

эндофитов *B. subtilis* новых свойств, которые могут играть роль во взаимодействии микроорганизмов с растениями при механических повреждениях растительных тканей.

В современном растениеводстве для повышения урожайности и устойчивости растений к вредным организмам применяются, как правило, химические пестициды. Их массовое применение приводит к экологическим проблемам, загрязнению продуктов питания остаточными количествами ядохимикатов. В этих условиях остро встает вопрос о разработке экологических безопасных средств защиты растений, основой которых могут служить мутуалистические микроорганизмы, живущие долгое время внутри растительных тканей, защищенные от конкурентного давления со стороны другой микрофлоры. Особенно остро для таких культур как картофель, томаты, огурцы стоит вопрос борьбы с вирусной инфекцией. В связи с этим тема диссертационных исследований Сарваровой Е.Р., посвященная поиску новых штаммов хозяйственно полезных эндофитов и выявлению механизмов взаимодействия с растением-хозяином, приводящим к устойчивости последнего к вредным организмам, является актуальной.

Сарварова Е.Р. провела сравнительную оценку распространенности эндофитных бактерий в тканях различных видов сельскохозяйственных культур и дикорастущих растений, выделила 110 штаммов, у 73 из них идентифицировала род, установила видовую принадлежность 17 микроорганизмов. Ею показано, что частота выявления эндофитных бактерий в тканях растений, выделяющих экссудат, закупоривающий раны при повреждениях, меньше, чем у растительных культур других видов.

Соискатель впервые выявил новое свойство у эндофитной бактерии *B. subtilis* 26Д – способность содействовать проникновению в растительные ткани других, неэндофитных бактерий, например, *Lacobacillus plantarum* 3L без механических повреждений растительных тканей, что позволяет внести уточнение в определение понятия «эндофитная бактерия». Также впервые изучено влияние оксикоричных кислот – феруловой и кумаровой, участвующих в укреплении клеточных стенок растений, а также сириновой кислоты в концентрациях, сопоставимых с секрецией

растениями *in vivo*, на рост колоний эндофитов и размножение клеток *in vitro*. Показано, что эти фенольные кислоты способствуют росту колоний эндофитов на поверхности полутвердых агаризованных средах (0,7% агара). У бактерии *B. subtilis* 26Д выявлено новое свойство – способность к деструкции феруловой кислоты. Исследована продукция РНКаз эндофитными бактериями и способность защищать растения картофеля от вирусной инфекции. Выявлено наличие достоверной обратной корреляции между плотностью в тканях картофеля клеток эндофитных бактерий *B. subtilis* 26Д, новых штаммов *Bacillus sp* TS2, STL7, а также *B. thuringiensis* ВКПМ6066 и степенью распространения вирусной инфекции, вызванной вирусами S и Y. Исследования Сарваровой Е.Р. позволили создать новые рекомбинантные штаммы бактерий *B. subtilis* 26ДCry и *B. subtilis* 26ДCryChS, несущие ген инсектотоксина и обладающие комплексной биологической активностью по отношению к растениям, таким образом, показана возможность использования эндофитов в качестве векторов для придания растениям новых свойств – устойчивости к вредным насекомым.

Работа выполнена в лаборатории биохимии иммунитета растений Института биохимии и генетики в соответствии с планом НИР «ИБГ УФИЦ РАН» и соответствует направлению исследований по теме «Молекулярные механизмы адаптации организмов к окружающей среде» № АААА-А21-121011990120-7. Исследования поддержаны соглашением ФЦП Министерства образования и науки РФ № 14.604.21.0016 «Разработка многофункционального биопестицида для защиты растений от патогенов и вредителей», международным грантом РФФИ и Департамента науки и техники (DST) правительства Индии № 19-46-02004 «Бактериальные эндофиты как потенциальные вируциды для биоконтроля распространенных вирусов картофеля и томатов», РФФИ – офи_м 17-29-08014 «Липопептиды эндофитных бактерий *Bacillus ssp.* – модуляторы защитных систем растений от вредных организмов», грантом Республики Башкортостан молодым ученым и молодежным научным коллективам №3 от 02.07.18 «Создание коллекции эндофитных микроорганизмов сельскохозяйственных растений Республики Башкортостан».

2. Личное участие соискателя в получении результатов, изложенных в диссертации. Определение темы диссертационной работы, цели и задач исследований проводились автором совместно с научным руководителем, д-ром биол. наук, проф. Хайруллиным Р.М. Соискатель участвовал в разработке концепции исследований, самостоятельно анализировал базы данных и имеющиеся публикации по теме диссертации, выбирал методы работы, схемы и условия постановки экспериментов, проводил статистический анализ полученных данных, оформлял выполненную им часть исследований в виде научных публикации с соавторами. Автор лично представляла результаты исследований на научных конференциях, оформила рукопись диссертации и автореферата. Диссертационная работа Сарваровой Е.Р. удовлетворяет всем требованиям п. 14 «О порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением правительства РФ от 24.09.2013 №842 (ред. от 01.10.2018).

3. Степень достоверности результатов проведенных исследований. Проверка первичной документации комиссией, созданной по приказу директора «ИБГ УФИЦ РАН» Э.К. Хуснутдиновой №35 от 01.06.2021 в составе председателя, д-ра биол. наук, проф. РАО Карунас А.С. и членов комиссии г.н.с. лаборатории биоинженерии растений и микроорганизмов, д-ра биол. наук, проф., доцента Баймиева Ал.Х., в.н.с. лаборатории биохимии иммунитета растений, д-ра биол. наук, проф. Яруллиной Л.Г., с.н.с. лаборатории геномики растений, канд. биол. наук Гайнуллиной К.П., показала, что она полностью соответствует материалам исследований, представлена в полном объеме и признана достоверным материалом, который соответствует выполненной работе. Исследование выполнено с применением адекватных и современных методов микробиологии и молекулярной биологии, на сертифицированном оборудовании, обработаны с помощью лицензионных программ и современных методов статистического анализа, используемые в исследовании методики корректны. Достоверность полученных данных подтверждается множественностью и воспроизводимостью проведенных экспериментов, статистическим анализом результатов. Эксперименты автора подтверждены иллюстративным материалом. Выводы полностью и в логической

последовательности отражают полученные результаты.

4. Новизна и практическая значимость диссертации. Выделены новые эндофитные бактерии из растений различных видов, охарактеризована их антагонистическая активность по отношению к распространенным фитопатогенным грибам. Показано, что эндофитные бактерии реже выделяются из тканей растений, секретирующих при поранении экссудаты, закупоривающие сосуды, в сравнении с растениями других видов. Исследованы взаимоотношения между штаммами эндофитных бактерий и установлено, что антагонизм одного эндофита по отношению к другому *in vitro* может не влиять на плотность популяции последнего в растительных тканях. Впервые исследовано влияние оксикоричных кислот на подвижность эндофитных представителей бактерий *B. subtilis* и выявлена способность коммерческого штамма *B. subtilis* 26Д разрушать феруловую кислоту. Установлено, что феруловая и кумаровая кислоты усиливают рост колоний исследованных штаммов бактерий *B. subtilis* на агаризованных средах с небольшим содержанием агара (0,7%). На основе этих данных предложена гипотеза формирования «автоконтроля» растением-хозяином распространения эндофитов в растительных тканях.

Впервые выявлена способность депонированных (*B. subtilis* 26Д (ВНИИСХМ 128), *B. thuringiensis* ssp. *thuringiensis* (ВКПМ В-5689) и *B. thuringiensis* ssp. *kurstaki* (ВКПМ В-6066)) и новых штаммов бактерий секретировать РНКазы в среду культивирования. Определены штаммы бактерий, эффективно уменьшающие распространение вирусных инфекций на посадках картофеля. Показано, что эндофитные бактерии *B. subtilis* могут использоваться как модифицированные вектора переноса необходимых свойств для повышения устойчивости растений к вредным организмам.

Создана коллекция из эндофитных штаммов бактерий, выделенных из различных органов разных видов растений. Во Всероссийской коллекции непатогенных микроорганизмов сельскохозяйственного назначения ФГБНУ ВНИИСХМ РАН депонирован новый штамм бактерий *B. subtilis* 26DCryChS (RCAM04928) с хозяйственно-полезными свойствами.

5. Ценность научных работ соискателя. Показано, что применение микробиологического препарата, включающего штаммы бактерий *B. subtilis* 26Д (ВНИИСХМ 128), *B. thuringiensis* ssp. *thuringiensis* (ВКПМ В-5689) и *B. thuringiensis* ssp. *kurstaki* (ВКПМ В-6066) способно эффективно защищать растения картофеля от вирусных болезней. Выделенные эндофитные изоляты и штаммы бактерий переданы в коллекцию микроорганизмов ИБГ УФИЦ РАН. Полученные в ходе работы рекомбинантные штаммы могут быть применены в качестве компонентов биологических препаратов для контроля за популяциями вредных организмов на посевах сельскохозяйственных культур.

6. Специальность, которой соответствует диссертация. Диссертационное исследование Сарваровой Елены Рафисовны «Поиск новых свойств эндофитных бактерий *Bacillus subtilis* Cohn.» соответствует формуле специальности 03.02.03 – Микробиология, пп. 2. Выделение, культивирование, идентификация микроорганизмов. 3. Морфология, физиология, биохимия и генетика микроорганизмов. 8. Использование сапрофитных бактерий антагонистов, продуцентов биологически активных веществ для оптимизации микробиоценозов. 10. Использование микроорганизмов в народном хозяйстве, ветеринарии и медицине.

7. Полнота изложения материалов диссертации в работах, опубликованных соискателем. Материалы исследований опубликованы соискательницей полно в 19 печатных работах, в том числе в 8 статьях в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК, из которых 7 статей индексируются в международной базе WoS/Scopus. Получен патент РФ №2733132 на изобретение. Результаты исследования представлены в виде докладов и тезисов на 10 Всероссийских и международных конференциях. Материалы диссертации были представлены на Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов» (Москва, 2014), Всероссийской молодежной научной школе-конференции «Микробные симбиозы в природных и экспериментальных экосистемах» (Оренбург, 2014), конференции с международным участием «Эколого-генетические основы современных агротехнологий» (Пушкин, 2016),

Международной Пущинской школе– конференции молодых ученых «Биология - наука XXI века» (Пущино, 2015), Всероссийской конференции молодых ученых «Стратегия взаимодействия микроорганизмов и растений с окружающей средой» (Саратов, 2016), научной конференции и школе молодых ученых «Экспериментальная биология растений: фундаментальные и прикладные аспекты». (Судак, 2017), Международной научной конференции PLAMIC (Уфа, 2018), Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Современные подходы и методы в защите растений» (Екатеринбург, 2018), Международной научно-практической конференции «Биотехнология: наука и практика» (Севастополь, 2019), международной научной конференции «Генетика, геномика, биоинформатика и биотехнология растений» (Новосибирск, 2019).

Публикации в изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ:

1. Благова Д.К., Сарварова Е.Р., Хайруллин Р.М. Выделение и характеристика бактериальных эндофитов моркови (*Daucus carota L. var. sativus*) // Вестник Оренбургского государственного университета. – 2014. – №13 – Т.174. –С.10-12. (Список ВАК).

2. Максимов И.В., Веселова С.В., Нужная Т.В., Сарварова Е.Р., Хайруллин Р.М. Стимулирующие рост растений бактерии в регуляции устойчивости растений к стрессовым факторам // Физиология растений. –2015. – Т.62. – №6. – С.763-775. (Список ВАК, WoS/Scopus).

3. Максимов И.В., Максимова Т.И., Сарварова Е.Р., Благова Д.К. Эндофитные бактерии как агенты для биопестицидов нового поколения (обзор) // Прикладная биохимия и микробиология. – 2018. –Т.54. –№2. – С.134-148. (Список ВАК, WoS/Scopus).

4. Бурханова Г.Ф., Сорокань А.В., Черепанова Е.А., Сарварова Е.Р., Хайруллин Р.М., Максимов И.В. Эндофитные бактерии *Bacillus* spp. с РНКазной активностью и устойчивостью картофеля к вирусам // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2019. – Т.23. – №7. – С.873-878. (Список ВАК, WoS/Scopus).

5. Хайруллин Р.М., Бурханова Г.Ф., Сорокань А.В., Сарварова Е.Р., Веселова С.В., Черепанова Е.А., Вологин С.Г., Замалиева Ф.Ф., Максимов И.В. К механизмам антивирусной активности бактерии *Bacillus* на растениях картофеля // Теоретическая и прикладная экология. – 2019. – №4. – С.130-135. (Список ВАК, WoS/Scopus).

6. Maksimov I.V., Blagova D.K., Veselova S.V., Sorokan A.V., Burkhanova G.F., Cherepanova E.A., Sarvarova E.R., Rummyantsev S.D., Alekseev V.Yu., Khayrullin R.M. Recombinant *Bacillus subtilis* 26DCryChS line with gene BtcryIIa encoding CryIIa toxin from *Bacillus thuringiensis* promotes integrated wheat defense against pathogen *Stagonospora nodorum* Berk. and greenbug *Schizaphis graminum* Rond // Biological Control. 2020. – V.144. – P.14(Список ВАК, WoS/Scopus).

7. Sorokan A.V., Cherepanova E.A., Burkhanova G.F., Veselova S.V., Rummyantsev S.D., Alekseev V. Yu., Mardanshin I., Sarvarova E.R., Khayrullin R.M., Maksimov I.V. Endophytic *Bacillus* spp. as a Prospective Biological Tool for Control of Viral Diseases and Non-vector *Leptinotarsa decemlineata* Say. in *Solanum tuberosum* L. // Frontiers in Microbiology. – 2020. – V.11. – Art.569457. (Список ВАК, WoS/Scopus).

8. Сарварова Е.Р., Хайруллин Р.М., Максимов И.В. Феруловая кислота активирует размножение и подвижность клеток эндофитного штамма бактерий *Bacillus subtilis* 26Д // Прикладная биохимия и микробиология – 2021 – №4. (Список ВАК, WoS/Scopus).

Таким образом, требования по полноте опубликования основных научных результатов соблюдены. Препятствий по критериям: «Опубликованность. Количество статей в рецензируемых журналах. Количество рецензируемых журналов» для принятия диссертации к публичной защите нет.

Учитывая актуальность темы диссертационной работы Сарваровой Елены Рафисовны «Поиск новых свойств эндофитных бактерий *Bacillus subtilis* Cohn.», её научную значимость, новизну полученных результатов, высокий теоретический и экспериментальный уровень работы, аргументированность выводов, Ученый совет ИБГ УФИЦ РАН считает, что диссертационное исследование является научно-квалификационной работой, в которой решены поставленные задачи. Результаты

исследования достоверны. Выводы адекватны используемым методам и соответствуют поставленным задачам, базируются на результатах собственных исследований автора.

Диссертация рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по научной 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 членов ученого совета. Результаты голосования:

«за» - 18 человек, «против» – нет, «воздержались» – нет, протокол №5 от 24.06.2021 года.

Председатель Ученого совета ИБГ УФИЦ РАН,

д-р биол. наук, профессор, член-корр. РАН



Хуснутдинова Э.К.

Ученый секретарь Ученого совета ИБГ УФИЦ РАН,

д-р биол. наук

Гималов Ф. Р.