Заключение диссертационного совета МГУ.03.13

по диссертации на соискание ученой степени доктора биологических наук

Решение диссертационного совета от «18» мая 2021 г. № 11

о присуждении Цавкеловой Елене Аркадьевне, гражданке РФ, учёной степени доктора биологических наук.

Диссертация «Структурно-функциональные особенности микробных сообществ эпифитных орхидей: биоразнообразие, роль и биотехнологическая значимость ассоциативных микроорганизмов» по специальностям 03.02.03 –микробиология (биологические науки) и 03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии) (биологические науки) принята к защите диссертационным советом 09.03.2021, протокол № 2.

Соискатель **Цавкелова Елена Аркадьевна**, 1978 года рождения, диссертацию на соискание ученой степени кандидата биологических наук «Микроорганизмы, ассоциированные с оранжерейными орхидными» защитила в 2003 году, в диссертационном совете, созданном на базе Московского государственного университета имени М. В. Ломоносова. Соискатель работает в должности старшего научного сотрудника на биологическом факультете ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова».

Диссертация выполнена на кафедре микробиологии биологического факультета ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова». Научные консультанты – доктор биологических наук, профессор **Нетрусов Александр Иванович**, профессор кафедры микробиологии биологического факультета ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова» - специальность «Биотехнология»; доктор биологических наук **Кожевин Пётр Александрович,** профессор кафедры биологии почв факультета почвоведения ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова» - специальность «Микробиология».

Официальные оппоненты:

Манучарова Наталия Александровна, доктор биологических наук, профессор, ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», факультет почвоведения, кафедра биологии почв, профессор.

Доронина Нина Васильевна, доктор биологических наук, доцент, ФГБУН «ФИЦ «Пущинский научный центр биологических исследований РАН», Институт биохимии и

физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрябина РАН, лаборатория радиоактивных изотопов, ведущий научный сотрудник.

Садыкова Вера Сергеевна, доктор биологических наук, доцент, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков имени Г.Ф.Гаузе», заместитель директора по научной работе, заведующая лабораторией таксономического исследования и коллекции культур микроорганизмов.

дали положительные (отрицательные) отзывы на диссертацию.

Соискатель имеет 38 опубликованных работ по теме диссертации, из них 31 статья, опубликованные в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных для защиты в диссертационном совете МГУ по специальностям 03.02.03 – «Микробиология» (биологические науки) и 03.01.06 – «Биотехнология» (в том числе бионанотехнологии) (биологические науки):

1. Олескин А.В., Ботвинко И.В., **Цавкелова Е.А.** Колониальная организация и межклеточная коммуникация у микроорганизмов // Микробиология. 2000. Т. 69. № 3. С. 309-327 [Oleskin A.V., Borvinko I.V., Tsavkelova E.A. Colonial organization and intercellular commnication in microorganisms // Microbiology. 2000, 69:249–265] IF: 0,945; SJR: 0,32; квартиль Q3 (здесь и далее по данным https://www.scimagojr.com/journalrank.php на момент обращения 01.02.2021).
2. **Цавкелова Е.А.,** Ботвинко И.В., Кудрин В.С., Олескин А.В. Детекция нейромедиаторных аминов у микроорганизмов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии // Доклады Академии наук. 2000. Т. 372. С. 840-842. IF РИНЦ: 0,78 (здесь и далее по данным https://elibrary.ru/defaultx.asp на момент обращения 01.02.2021).
3. **Цавкелова Е.А.,** Чердынцева Т.А., Лобакова Е.С., Коломейцева Г.Л., Нетрусов А.И. Микробиота поверхности корней орхидных // Микробиология. 2001. Т. 70. № 4. С. 567-573 [Tsavkelova E.A., Cherdyntseva T.A., Lobakova E.S., Kolomeitseva G.L., Netrusov A.I.. Microbiota of the orchid rhizoplane // Microbiology. 2001, 70: 492–497]. DOI: 10.1023/A:1010402715376. IF: 0,945; SJR: 0,32; Q3.
4. **Цавкелова Е.А.**, Лобакова Е.С., Коломейцева Г.Л., Чердынцева Т.А., Нетрусов А.И. Особенности локализации ассоциативных цианобактерий на корнях эпифитных орхидей // Микробиология. 2003а. Т. 72. №. 1. С. 99-104 [Tsavkelova E.A., Lobakova E.S., Kolomeitseva G.L., Cherdyntseva T.A., Netrusov A.I. Localization of associative cyanobacteria on the roots of epiphytic orchids // Microbiology. 2003. **72:** 86–91]. DOI:10.1023/A:1022286225013. IF: 0,945; SJR: 0,32; Q3.
5. **Цавкелова Е.А.,** Лобакова Е.С., Коломейцева Г.Л., Чердынцева Т.А., Нетрусов А.И. Ассоциативные цианобактерии, выделенные с корней эпифитных орхидей // Микробиология. – 2003б. Т. 72. №.1. С. 105-110 [Tsavkelova E.A., Lobakova E.S., Kolomeitseva G.L., Cherdyntseva T.A., Netrusov A.I. Associative cyanobacteria Isolated from the roots of epiphytic orchids // Microbiology. 2003. 72: 92–97]. DOI:10.1023/A:1022238309083. IF: 0,945; SJR: 0,32; Q3.
6. **Цавкелова Е.А.,** Александрова А.В., Чердынцева Т.А., Коломейцева Г.Л., Нетрусов А.И. Грибы, ассоциированные с корнями орхидей в условиях оранжереи // Микология и фитопатология. – 2003в. Т. 37. С. 57-63. IF РИНЦ: 0,66.

7. **Цавкелова Е.А.,** Чердынцева Т.А., Нетрусов А.И. Образование фитогормонов грибами, ассоциированными с орхидными // Микология и фитопатология. 2003г. Т. 37. С. 75-83. IF РИНЦ: 0,66.
8. **Цавкелова Е.А.,** Чердынцева Т.А., Нетрусов А.И. Бактерии, ассоциированные с корнями эпифитных орхидей // Микробиология. 2004. Т. 73. С. 825-831 [Tsavkelova E.A., Cherdyntseva T.A., Netrusov A.I. Bacteria associated with the roots of epiphytic orchids // Microbiology. 2004. 73: 710–715]. DOI:10.1007/s11021-005-0013-z. IF: 0,945; SJR: 0,32; Q3.
9. **Цавкелова Е.А.,** Чердынцева Т.А., Нетрусов А.И. Образование ауксинов бактериями, ассоциированными с корнями орхидей // Микробиология. 2005. Т. 74. С. 55-62 [Tsavkelova E.A., Cherdyntseva T.A., Netrusov A.I. Auxin Production by Bacteria Associated with Orchid Roots // Microbiology. 2004. 74**:** 55–62]. DOI:10.1007/s11021-005-0027-6. IF: 0,945; SJR: 0,32; Q3.
10. **Цавкелова Е.А.**, Александрова А.В., Чердынцева Т.А., Коломейцева Г.Л., Нетрусов А.И. Ассоциативные микромицеты тропических вьетнамских орхидей // Микология и фитопатология. 2005. Т. 39. С. 46-52. IF РИНЦ: 0,66.
11. **Цавкелова Е.А.,** Климова С.Ю., Чердынцева Т.А., Нетрусов А.И. Микроорганизмы –продуценты стимуляторов роста растений и их практическое применение // Прикладная биохимия и микробиология. 2006а. Т. 42. № 2. С. 133-143 [Tsavkelova E.A., Klimova S.Y., Cherdyntseva T.A., Netrusov A.I. Microbial producers of plant growth stimulators and their practical use: a review. Appl. Biochem. Microbiol. 2006. 42: 117–126]. DOI:10.1134/S0003683806020013. IF: 1,022; SJR: 0,28; Q3.
12. **Цавкелова Е.А.,** Климова С.Ю., Чердынцева Т.А., Нетрусов А.И. Гормоны и гормоноподобные соединения микроорганизмов // Прикладная биохимия и микробиология. 2006б. Т. 42. № 3. С. 261-268 [Tsavkelova E.A., Klimova S.Y., Cherdyntseva T.A., Netrusov A.I. Hormones and hormone-like substances of microorganisms: A review. Appl. Biochem. Microbiol. 2006. 42: 229–235]. DOI:10.1134/S000368380603001X. IF: 1,022; SJR: 0,28; Q3.
13. **Tsavkelova E.A.,** Cherdyntseva T.A., Botina S.G., Netrusov A.I. Bacteria associated with orchid roots and microbial production of auxin // Microbiological research. 2007a. V. 162. P. 69-76. DOI: 10.1016/j.micres.2006.07.014. IF: 3,97; SJR: 1,29; Q2.
14. **Tsavkelova E.A**., Cherdyntseva T.A., Klimova S. Yu., Shestakov A.I., Botina S.G., Netrusov A.I. Orchid-associated bacteria produce indole-3-acetic acid, promote seed germination, and increase their microbial yield in response to exogenous auxin // Archives of Microbiology. 2007b. V. 188. № 6. P. 655-664. DOI: 10.1007/s00203-007-0286-x. IF: 1,884; SJR: 0,69; Q3.
15. **Tsavkelova E.A.**, Bömke C., Netrusov A.I., Weiner J., Tudzynski B. Production of gibberellic acids by an orchid-associated *Fusarium proliferatum* strain // Fungal Genetics and Biology. 2008. V. 45. P. 1393-1403. DOI: 10.1016/j.fgb.2008.07.011. IF: 3,071; SJR: 1,38; Q1.
16. **Tsavkelova E**., Oeser B., Oren-Young L., Israeli M., Sasson Y., Tudzynski B., Sharon A. Identification and functional characterization of indole-3-acetamide-mediated IAA biosynthesis in plant-associated *Fusarium* species // Fungal Genetics and Biology. 2012. V. 49. № 1. P. 48-57. DOI: 10.1016/j.fgb.2011.10.005. IF: 3,071; SJR: 1,38; Q1.
17. **Цавкелова Е.А.,** Нетрусов А.И. Получение биогаза из целлюлозосодержащих субстратов // Прикладная биохимия и микробиология. 2012. Т. 48. № 5. С. 469-483 [Tsavkelova E.A., Netrusov A.I. Biogas production from cellulose-containing substrates: a review. Appl. Biochem. Microbiol. 2012. 48: 421–433]. DOI:10.1134/S0003683812050134. IF: 1,022; SJR: 0,28; Q3.
18. **Цавкелова Е.А.**, Егорова М.А., Петрова Е.В., Нетрусов А.И. Образование биогаза микробными сообществами при разложении целлюлозы и пищевых отходов // Прикладная биохимия и микробиология. 2012а. Т. 48. № 4. С. 417–424 [Tsavkelova E.A., Egorova M.A., Petrova E.V., Netrusov A.I. Biogas production by microbial communities via

decomposition of cellulose and food waste // Appl. Biochem. Microbiol. 2012. 48: 377–384]. DOI:10.1134/S0003683812040126. IF: 1,022; SJR: 0,28; Q3.

19. **Цавкелова Е.А.,** Егорова М.А., Петрова Е.В., Нетрусов А.И. Термофильные анаэробные микробные сообщества, разлагающие целлюлозу с образованием метана (биогаза) // Вестн. Моск. Ун-та. Сер. 16. Биология. 2012б. № 2. С. 36-42. IF РИНЦ: 0,76.
20. Блинков Е.А., **Цавкелова Е.А.**, Селицкая О.В. Образование ауксина штаммом *Klebsiella planticola* ТСХА-91 и его влияние на развитие семян огурца посевного (*Cucumis sativus* L.) // Микробиология. 2014. Т. 83. № 5. С. 543-551 [Blinkov E.A., Tsavkelova E.A., Selitskaya O.V. Auxin production by the *Klebsiella planticola* strain TSKhA-91 and its effect on development of cucumber (*Cucumis sativus* L.) seeds // Microbiology. 2014. 83: 531–538]. DOI:10.1134/S0026261714050063. IF: 0,945; SJR: 0,32; Q3.
21. Teixeira da Silva J.A., **Tsavkelova E.A.**, Zeng S., Ng T.B., Parthibhan S., Dobránszki J., Cardoso J.C., Rao M.V. Symbiotic in vitro seed propagation of *Dendrobium*: fungal and bacterial partners and their influence on plant growth and development // Planta. 2015. V. 242. № 1. P. 1-22. DOI: 10.1007/s00425-015-2301-9. IF: 3,390; SJR: 1,26; Q1.
22. Teixeira da Silva J.A., **Tsavkelova E.A**., Ng T.B., Parthibhan S., Dobra´nszki J., Cardoso J.C., Rao M.V., Zeng S. Asymbiotic in vitro seed propagation of *Dendrobium* // Plant Cell Reports. 2015. V. 34. P. 1685-1706. DOI: 10.1007/s00299-015-1829-2. IF: 3,825; SJR: 1,39; Q1.
23. Malakhova D.V., Egorova M.A., Prokudina L.I., Netrusov A.I., **Tsavkelova E.A.** The biotransformation of brewer's spent grain into biogas by anaerobic microbial communities // World Journal of Microbiology and Biotechnology. 2015. V. 31. №. 12. P. 2015–2023. DOI: 10.1007/s11274-015-1951-x. IF: 2,477; SJR: 0,72; Q2.
24. **Tsavkelova E.** The biosynthesis of gibberellic acids by the transformants of orchid-associated *Fusarium oxysporum* // Mycological Progress. 2016. V. 15. № 2. P. 1-8. DOI:10.1007/s11557-015-1156-6IF: 2,149; SJR: 1,20; Q1.
25. **Tsavkelova E.A.**, Egorova M.A., Leontieva M.R., Malakho S.G., Kolomeitseva G.L., Netrusov A.I. *Dendrobium nobile* Lindl. seed germination in co-cultures with diverse associated bacteria // Plant Growth Regulation. 2016. V. 80. № 1. P. 79-91. DOI: 10.1007/s10725-016-0155-1. IF: 2,388; SJR: 0,82; Q1.
26. Niehaus EM, Münsterkötter M., Proctor RH, Brown DW, Sharon A., Idan Y., Oren-Young L., Sieber CM, Novák O., Pěnčík A., Tarkowská D., Hromadová K., Freeman S., Maymon M., Elazar M., Youssef SA, El-Shabrawy ES, Shalaby AB, Houterman P., Brock N., Burkhardt I., **Tsavkelova EA**, Dickschat JS, Galuszka P., Güldener U., Tudzynski B. Comparative "omics" of the *Fusarium fujikuroi* species complex highlights differences in genetic potential and metabolite synthesis // Genome biology and evolution. 2016. V. 8. P. 3574-3599. DOI: 10.1093/gbe/evw259. IF: 3,462; SJR: 2,1; Q1.
27. Прокудина Л.И., Осмоловский А.А., Егорова М.А., Нетрусов А.И., **Цавкелова Е.А.** Биоразложение целлюлозосодержащих субстратов микромицетами с последующей биоконверсией в биогаз // Прикладная биохимия и микробиология. 2016. Т. 52. № 2. С. 200–209 [Prokudina L.I., Osmolovskiy A.A., Egorova M.A. et al. Biodegradation of cellulose-containing substrates by micromycetes followed by bioconversion into biogas // Appl. Biochem. Microbiol. 2016. 52: 190–198]. DOI:10.1134/S0003683816020137. IF: 1,022; SJR: 0,28; Q3
28. Петрова Е.В., Егорова М.А., Пискункова Н.Ф., Кожевин П.А., Нетрусов А.И., **Цавкелова Е.А.** Анаэробные целлюлозолитические микробные сообщества, разлагающие биомассу *Anabaena variabilis* // Микробиология. 2017. Т. 86. № 6. С. 729-738 [Petrova E.V., Egorova M.A., Piskunkova N.F., Kozhevin P.A., Netrusov A.I. Anaerobic cellulolytic microbial communities decomposing the biomass of *Anabaena variabilis* // Microbiology. 2017. 86: 745–752]. DOI:10.1134/S0026261717060133. IF: 0,945; SJR: 0,323; Q3.

29. Pavlova A.S., Leontieva M.R., Smirnova T.A., Kolomeitseva G.L., Netrusov A.I., **Tsavkelova E.A.** Colonization strategy of the endophytic plant growth promoting strains of *Pseudomonas fluorescens* and *Klebsiella oxytoca* on the seeds, seedlings and roots of the epiphytic orchid, *Dendrobium nobile* Lindl. // J. Appl. Microbiol. 2017. V. 123. № 1. P. 217-232. DOI:10.1111/jam.13481IF: 3,066; SJR: 0,87; Q2.
30. **Tsavkelova E**., Prokudina L., Egorova M., Leontieva M., Malakhova D., Netrusov A. The structure of the anaerobic thermophilic microbial community for the bioconversion of the cellulose-containing substrates into biogas // Process Biochemistry. 2018. V. 66. P. 183-196. DOI: 0.1016/j.procbio.2017.12.006. IF: 2,952; SJR: 0, 72; Q2.
31. Kolomeitseva G.L., Babosha A.V., Ryabchenko A.S., **Tsavkelova E.A.** Megasporogenesis, megagametogenesis, and embryogenesis in *Dendrobium nobile* (Orchidaceae) // Protoplasma. 2021. V. 258. P. 301-317. DOI: 10.1007/s00709-020-01573-2. IF: 2,751; SJR: 0,95; Q1.

На диссертацию и автореферат поступило 8 дополнительных отзывов, все положительные. Из них отзывов без замечаний и вопросов – 6, в двух отзывах имеются вопросы и замечания. На все вопросы соискателем были даны исчерпывающие ответы.

Выбор официальных оппонентов обосновывался их авторитетностью в научном сообществе, компетентностью в области микробиологии и биотехнологии и наличием публикаций в соответствующих сферах исследования. Манучарова Наталия Александровна – ведущий специалист в области биоразнообразия, филогенетической структуры и физиолого-биохимической активности почвенных и растительно-микробных бактериальных сообществ; Доронина Нина Васильевна – ведущий специалист в области изучения механизмов формирования и функциональной активности растительно-бактериальных ассоциаций, фитосимбиозов с метилобактериями, а также в области изучения механизмов ростстимулирующей активности бактерий и их способности к образованию фитогормонов; Садыкова Вера Сергеевна – ведущий специалист в области фундаментальной и прикладной микробиологии и биотехнологии, в физиологии и биохимии грибов, биосинтезе микромицетами гидролитических ферментов и антимикробных соединений.

Диссертационный совет отмечает, что представленная диссертация на соискание ученой степени доктора биологических наук является научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований выявлено, что структура микробных сообществ облиственных и безлистных эпифитных орхидных представлена многокомпонентными консорциумами. Особенности корневой системы воздушных корней и свойства веламена способствуют интенсивному заселению этой экологической ниши ассоциативными и эндофитными микроорганизмами. Установлены стратегии и проникновения и распространения эндофитных бактерий и грибов в корневой системе растений.

Показаны индивидуальные отличия в составе микробных сообществ оранжерейных и дикорастущих растений, а также выявлены общие закономерности распределения и функциональной активности микроорганизмов. Установлена ресурсная роль фототрофных азотфиксирующих цианобактерий и гидролитическая (деструкционная) роль представителей *Trichoderma*, заселяющих воздушные корни эпифитов, а также ведущая роль ассоциативных бактерий и грибов в биосинтезе стимуляторов роста растений.

Определена роль индолил-3-уксусной кислоты (ИУК) как эволюционно-консервативной молекулы в растительно-микробных взаимодействиях. Установлен механизм основных путей биосинтеза ИУК у ассоциативных микроорганизмов: через индолил-3-ацетамид и через индолил-3-пируват. Раскрыты механизмы биосинтеза ауксинов у микромицетов из рода *Fusarium*. Изложены доказательства механизма биосинтеза гиббереллловых кислот (ГК) у *F. proliferatum* ET1. Получены доказательства возможности полного восстановления способности к биосинтезу ГК у *F. oxysporum* №I.

Созданы научные основы для разработки и применения новых подходов при получении биогаза из альтернативных субстратов на примере целлюлозосодержащих отходов (различного типа бумаги) и биомассы цианобактерий, а также к созданию новых продуцентов ГК среди представителей рода *Fusarium* с получением высокоактивных трансформантов.

Разработана, с получением патента РФ, методика бактеризации ростстимулирующими культурами аборигенных и нерезидентных бактерий для увеличения всхожести и ускорения прорастания семян орхидей при их проращивании в искусственных условиях культивирования.

Полученные в работе теоретические и практические выводы позволяют квалифицировать диссертационное исследование как крупное научное достижение в области исследования факторов и механизмов растительно-микробных взаимодействий.

Диссертационная работа Цавкеловой Е.А. соответствует пункту 2.1 Положения о присуждении учёных степеней в МГУ имени М.В. Ломоносова.

Диссертация представляет собой самостоятельное законченное исследование, обладающее внутренним единством. Положения, выносимые на защиту, содержат новые научные результаты и свидетельствуют о личном вкладе автора в науку.

1. На эпифитных орхидеях формируются многокомпонентные микробные консорциумы, сходные по доминирующим популяциям между дикорастущими и оранжерейными растениями. Вместе с тем, индивидуальное растение может иметь существенные различия в микробном разнообразии в зависимости от особенностей своей корневой системы.

2. Ризоплана является зоной максимального микробного присутствия и активности. Эндофитные бактерии колонизируют ризоиды прорастающих семян и корни ювенильных и взрослых растений, проникая в коровую паренхиму.

3. Среди основных механизмов микробно-растительных взаимодействий можно выделить способность к азотфиксации цианобактерий, а также образование ассоциативными бактериями и грибами стимуляторов роста растений. Триптофан-зависимый биосинтез индолил-3-уксусной кислоты (ИУК) у микроорганизмов преимущественно происходит через индолил-3-пировиноградную кислоту или индолил-3-ацетамид.

4. Ассоциативный микромицет *Fusarium proliferatum* ET1 значительно отличается от фитопатогенных представителей этого вида и рода по ряду особенностей биосинтеза ауксинов и гиббереллинов на молекулярном уровне, что определяет стратегию его взаимодействия с исследованными эпифитными орхидеями.

5. Разработана технология бактеризации семян орхидей с помощью аборигенных и нерезидентных рост-стимулирующих бактерий. Определяющими критериями отбора культур для использования в биотехнологии семенного проращивания эпифитных орхидей *in-vitro* являются способность штаммов к биосинтезу оптимальных количеств ИУК и отсутствие гиперсинтеза экзополисахаридного матрикса. Признаков строгой видоспецифичности при взаимодействии партнёров не выявлено.

На заседании 18 мая 2021 г. диссертационный совет принял решение присудить Цавкеловой Е.А. ученую степень доктора биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 22 человек, из них 7 докторов наук по специальности 03.02.03 – «Микробиология» (биологические науки), 4 доктора наук по специальности 03.01.06 – «Биотехнология (в том числе бионанотехнологии)», участвовавших в заседании, из 25 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за – «21» против – «0» недействительных бюллетеней – «1».

Председатель
диссертационного совета, д.б.н., проф. Умарова А.Б.

Ученый секретарь
диссертационного совета, к.б.н. Костина Н.В.
18.05.2021