

ОТЗЫВ

**на автореферат диссертации Цавкеловой Елены Аркадьевны
на тему: «Структурно-функциональные особенности микробных сообществ
эпифитных орхидей: биоразнообразие, роль и биотехнологическая значимость
ассоциативных микроорганизмов», представленной на соискание учёной степени
доктора биологических наук по специальностям 03.02.03 – «микробиология» и
03.01.06 – «биотехнология (в том числе бионанотехнологии)»**

Диссертационная работа Е.А. Цавкеловой представляет собой комплексное исследование растительно-микробных взаимоотношений на модели эпифитных орхидей, раскрывающее механизмы формирования и функционирования микробных ассоциаций и взаимодействия между партнёрами, прежде всего, за счёт ряда вторичных метаболитов – стимуляторов роста. Эпифитные орхидеи - это редкие растения, чьи дикие популяции находятся под угрозой исчезновения, что обуславливает актуальность изучения вопросов, важных для их сохранения и приумножения численности, в том числе путем культивирования в Фондовых оранжереях и ботанических садах.

Автору удалось получить большой объем новых, интересных научных сведений о составе и активности фитомикробиомы этих растений, уникальность которой связана, в частности, с формированием воздушных корней и их ризопланы. Полученные результаты существенно дополняют результаты ранее проведенных на этом объекте исследований, связанных, в основном, с изучением микоризы и симбиотических грибов.

В настоящее время актуальность исследований микроорганизмов ризосферы и почвенных растений связана, в основном, с поиском экологических способов ведения устойчивого сельского хозяйства. Важно отметить, что выбрав для исследований, казалось бы, довольно экзотические растения, автору удалось в своей работе существенно расширить понимание общих принципов формирования растительно-микробных взаимодействий и микробиом растений, имеющих не только фундаментальное, но и прикладное значение для возможного использования микробных биоресурсов этой уникальной экологической ниши в биотехнологии.

Спектр методических подходов в представленной работе весьма широк и разнообразен, включая современные молекулярно-генетические методы анализа микроорганизмов и геномное секвенирование микробиом. Автору удалось транспонировать некоторые подходы, в частности биотесты, применяемые в физиологии растений, к анализу активности микробных фитогормонов.

К основным результатам работы можно отнести сравнительный анализ микробных сообществ, колонизирующих оранжерейные и дикорастущие растения, выявление закономерностей локализации и распространения ассоциативных микроорганизмов как типичных представителей ассоциативной микробиоты, так и микробных популяций, характерных для различных эпифитов. Обнаружены особенности распространения ассоциативных микроорганизмов в зависимости от типа растений и от занимаемой ими экониши. Идентификация отдельных культивируемых бактерий с использованием ряда оптимальных для роста почвенных бактерий сред, а также профилирование микробных сообществ с помощью высокопроизводительного секвенирования позволили провести тщательный качественный и количественный анализ состава фитомикробиома эпифитных орхидей и установить доминирующие и минорные популяции в структуре ассоциативных бактериальных сообществ. Количественный анализ подтвердил выдвинутую автором концепцию о важной роли веламена (особой структуры воздушных корней) в создании благоприятных условий для ассоциативной микробиоты, что в случае орхидей переносит микробную активность из ризосферы именно в область ризопланы воздушных корней.

Значительный научный и практический интерес представляют результаты исследований образования стимуляторов роста растений выделенными представителями бактерий и микромицетов. Большинство из выделенных бактерий наиболее активны в биосинтезе ауксинов, тогда как представители рода *Fusarium* - гиббереллинов. Установлено, что ассоциативные и по большей части ростстимулирующие представители ассоциативных микроорганизмов не синтезируют эти соединения в чрезмерных количествах, что характерно, наоборот, для фитопатогенов, или не образуют ключевые продукты (например, ГК₁ или ГК₃), характерные для спектра соединений фитопатогенов, а только их предшественники (ГК₄ и ГК₇), либо же используют пути биосинтеза, отличные от используемых болезнетворными микроорганизмами. Все эти отличия говорят о взаимовыгодных взаимодействиях между растением и его ассоциативными микроорганизмами, составляющими фитомикробиом.

Автором впервые проведено детальное изучение молекулярно-биологических механизмов образования ауксинов и гиббереллинов на примере штамма *Fusarium proliferatum*, выделенного с корней *Dendrobium moschatum*. Показано преимущественное образование у него ауксинов по индолил-3-ацетамидному пути биосинтеза ИУК, что отличает его от фитопатогенных *F. oxysporum*, *F. verticillioides* и *F. fujikuroi*. Свидетельством эволюционной консервативности и латентного наличия активных регуляторных механизмов экспрессии генов биосинтеза гибберелловых кислот является

полное возобновление их биосинтеза у штамма *Fusarium oxysporum*, исходно неспособного к образованию ГК, после введения космиды с кластером необходимых генов. Автором впервые установлено, что ИУК в диапазоне концентраций от 0,1 до 100 мкг/мл оказывает видимый стимулирующий эффект на развитие популяций ассоциативных бактерий, что является важным критерием межпопуляционной и межвидовой коммуникации на основе этой сигнальной молекулы.

Важным практическим результатом является разработка технологии получения и использования резидентных, эндофитных изолятов, бактерий, а также PGPR культур, выделенных из других источников, для инокуляции ими прорастающих семян орхидных. Учитывая, что вопрос видоспецифичности стоит наиболее остро при семенном симбиотическом проращивании орхидей с микорзными грибами в искусственных условиях, полученные автором данные об отсутствии такой индивидуальной зависимости между растением и бактериями открывает широкие возможности для использования этого метода в биотехнологии орхидей. Полученные количественные данные об увеличении времени всхожести и размеров проростков, а также об ускорении их развития позволяют рекомендовать этот предложенный и запатентованный способ бактериальной стимуляции прорастания семян на начальных этапах развития орхидей для повсеместного использования.

Следует отметить перспективность изучения биотехнологического потенциала ассоциативных микроорганизмов растений. С этой целью автором была изучена целлюлозолитическая активность микромицетов (*Trichoderma*) орхидей и продемонстрирована возможность их использования для гидролиза некоторых трудноразлагаемых целлюлозосодержащих субстратов.

Автореферат Е.А. Цавкеловой достаточно полно отражает результаты проведенных исследований. Полученные результаты достоверны, а сделанные на их основе выводы корректны и соответствуют цели исследования и поставленным задачам. Положения, выносимые на защиту, обоснованы и подтверждены результатами и выводами диссертационной работы. Автореферат содержит высокоинформативные рисунки и таблицы. Основные результаты отражены в 38 печатных работах автора, в том числе патенте и 31 статье в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных для защиты в диссертационном совете МГУ имени М.В. Ломоносова.

К дискуссионным положениям работы можно отнести экономическую целесообразность предлагаемой в работе технологии получения биогаза с использованием

с качестве субстрата офсетной бумаги, в т.ч. с ее предобработкой целлюлитическими ферментами .

Эти замечания не касаются успешного решения основных поставленных научных и практических задач и не снижают общего высоко уровня диссертационной работы. Считаю, что диссертационная работа Е.А. Цавкеловой на тему «Структурно-функциональные особенности микробных сообществ эпифитных орхидей: биоразнообразие, роль и биотехнологическая значимость ассоциативных микроорганизмов» полностью отвечает требованиям, установленным Положением о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В.Ломоносова, а её автор, Цавкелова Елена Аркадьевна, заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальностям 03.02.03 – «микробиология» и 03.01.06 – «биотехнология (в том числе бионанотехнологии)».

Директор БРЦ ВКПМ, профессор
доктор биологических наук
Синеокий Сергей Павлович



« 12 » апреля 2021 г.

Сведения об авторе отзыва:
Синеокий Сергей Павлович

тел.: 7(495)314-26-95,

e-mail sineoky@genetika.ru :

Учёная степень: доктор биологических наук

Специальность, по которой защищена диссертация: 03.02.07- Генетика

Место работы:

117545 Россия, Москва, 1-й Дорожный проезд, д. 1

НИЦ «Курчатовский институт» - ГосНИИГенетика

Подпись С.П.Синеокого удостоверяю:
Заведующий отделом кадров



Р.В. Виденеева

« 12 » апреля 2021 г.