

**Заключение экспертной комиссии диссертационного совета 24.1.218.01 по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук на базе федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук**

от 25.10.2023 (двадцать пятого октября две тысячи двадцать третьего года)  
(протокол № 21)

по принятию к защите диссертационной работы Шеина Михаила Юрьевича на тему «Роль РНК-интерференции в формировании защитных систем растения пшеницы против возбудителя септориоза *Stagonospora nodorum* Berk», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по научной специальности 1.5.7. Генетика (биологические науки).

**Председатель комиссии:** д.б.н., профессор, Хидиятова Ирина Михайловна

**Члены комиссии:**

д.б.н., Кулуев Булат Разяпович

д.б.н., Бермишева Марина Алексеевна

Комиссия диссертационного совета 24.1.218.01 рассмотрела документы диссертационной работы о принятии к защите диссертации младшего научного сотрудника лаборатории молекулярной фармакологии и иммунологии Шеина Михаила Юрьевича «Роль РНК-интерференции в формировании защитных систем растения пшеницы против возбудителя септориоза *Stagonospora nodorum* Berk», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по научной специальности 1.5.7. Генетика (биологические науки).

**Научный руководитель:** Максимов Игорь Владимирович, д.б.н., профессор, главный научный сотрудник, заведующий лабораторией Биохимии иммунитета растений Института биохимии и генетики – обособленного структурного подразделения Уфимского федерального исследовательского центра РАН (ИБГ УФИЦ РАН).

Комиссия пришла к следующему заключению:

**1. Актуальность темы**

Известно, что фитопатогены и вызываемые ими болезни наносят огромный ущерб сельскохозяйственным культурам. Наиболее распространенным подходом к защите растений является использование химических пестицидов. Однако, такие средства загрязняют природные экосистемы, способствуют развитию различных заболеваний у человека и приводят к появлению устойчивых к пестицидам более агрессивных форм патогенов.

Недавно открытое явление РНК-интерференции (РНКи) — это эволюционно сформировавшийся у эукариотических организмов процесс управления активностью генов посредством коротких высоко комплементарных РНК и специальных белковых комплексов, приводящий к селективной деградации определенных мРНК или ингибированию трансляции мРНК в клетке на стадии транскрипции, трансляции. Основными действующими «лицами» РНКи являются малые (короткие) регуляторные РНК (киРНК), формирующиеся из длинных, двухцепочечных РНК (дцРНК). Они разрезаются белками Dicer (в растениях Dicer подобные белки (Dicer Like, DCL) на малые фрагменты и загружаются белками Arganate (AGO) в формирующийся комплекс RISC, который получает таким образом комплементарную целевому фрагменту последовательность. Направление исследований, связанное с оценкой роли компонентов РНК-интерферирующей системы, является одной из наиболее бурно развивающихся

областей молекулярной биологии и геномики в перспективе, способствующей не только пониманию механизмов работы генома живых организмов, но и позволяющей использовать полученные знания в практических целях.

Таким образом, данная диссертационная работа содержит большой комплекс исследований, который углубляет представление о роли генов системы РНК-интерференции в формировании защитной системы растения пшеницы против возбудителя септориоза.

## **2. Личное участие соискателя в получении результатов, изложенных в диссертации**

Определение темы диссертационной работы, цели и задач исследования проводились автором совместно с научным руководителем - д.б.н. Максимовым И. В. Разработка методологических подходов к решению поставленных задач, непосредственное проведение экспериментов по исследованию активности транскрипции генов системы РНК-интерференции, а также анализ и обсуждение полученных результатов и их оформление в виде научных публикаций и докладов проведены автором лично, либо при непосредственном участии. Подготовка рукописи настоящей диссертационной работы и автореферата лично проводились автором.

## **3. Достоверность результатов проведенных исследований**

Объективность и достоверность полученных результатов подтверждены использованием современного научного оборудования, валидированных и актуальных методов, а также корреляцией с литературными данными и высоким рейтингом опубликованных научных работ. Анализ результатов проведен с применением различных приемов статистической обработки и привлечением достаточного числа биологических и аналитических повторностей. Выводы, сформулированные по результатам диссертационной работы, соответствуют поставленным задачам.

Результаты работы были представлены на IX Съезд общества физиологов растений России «Физиология растений – основа создания растений будущего» (Казань, 2019); 45-й виртуальной (онлайн) конференции FEBS (Любляна, Словения, 2021); на 6-й и 7-й международных научных конференциях «Генетика, геномика, биоинформатика и биотехнология растений» PlantGen2021 (Новосибирск, 2021) и PlantGen2023 (Казань, 2023); на VII и VIII всероссийской научно-практической конференциях «Биологические и технологические основы селекции, семеноводства, размножения и защиты сельскохозяйственных и лесных древесных растений» (Ялта, 2021, 2022); на VII Всероссийской конференции с международным участием «ЭКОБИОТЕХ–2021» (Уфа, 2021 г.); на Международных научно-практических конференциях «Современные подходы и методы в защите растений» (Екатеринбург, 2018, 2020); на II и III Международных научных конференциях «Растения и микроорганизмы: биотехнология будущего» PLAMIC2020 (Саратов, 2020) и PLAMIC2022 (Санкт-Петербург, 2022); на LI Международной научно-практической конференции «World science: Problems and innovations» (Пенза, 2021).

## **4. Научная новизна и практическая значимость**

Впервые установлено взаимное влияние на активность транскрипции растительных и грибных генов *AGO* и *DCL* системы РНКи в патогенной системе растений пшеницы и возбудителя септориоза *S. nodorum* Berk. Оценено влияние салициловой и жасмоновой кислот на активность генов системы РНКи патогенного гриба в условиях выращивания на питательной среде. Обнаружено воздействие иммунной системы растений пшеницы на активность транскрипции генов *SnAGO1* и *SnAGO2* у патогенного гриба *S. nodorum* с использованием контрастных по устойчивости к патогену сортов пшеницы, а также индукторов фитоиммунитета различной природы, такие как салициловая и жасмоновая кислоты, эндофитных бактерий (*B. subtilis* 26Д). Выявлена взаимосвязь между активностью транскрипции генов *AGO* и *DCL* у растений пшеницы и патогенного гриба *S. nodorum* и предварительной инокуляцией семян растворами СК, ЖК и бактериальными штаммом *B. subtilis* 26Д в патосистеме. Повышение активности

транскрипции генов семейств *AGO* и *DCL* у мягкой пшеницы и снижение активности этих же генов у патогенного гриба в условиях инокуляции растений бактериальным штаммом *B. subtilis* 26Д, предполагает вовлечение эндофита в регуляцию явления РНКи в качестве защитного механизма против патогена. Выявлена важная роль геномной составляющей хромосомы 7D в реализации экспрессии гена *TaAGO1* у растений пшеницы при инфицировании фитопатогенным грибом *S. nodorum*. Секвенирование фрагментов кДНК гена *TaAGO1* у сорта Жница позволило обнаружить замену пролина на серин в аминокислотной последовательности в положении 855 и, соответственно, в изменениях структуры белковой молекулы.

Показана возможность диагностики устойчивости растений пшеницы к патогену с использованием соотношения генов домашнего хозяйства партнеров патогенной системы. Это соотношение можно предложить в качестве молекулярного маркера развития гриба в растениях, контрастных по устойчивости к патогену, а также в условиях индуцирования устойчивости различными индукторами фитоиммунитета. Кроме того, полученные результаты могут быть использованы в учебно-исследовательской работе по изучению генетических механизмов регуляции защитных систем при чтении курсов по фитоиммунологии и генетики растений.

#### **5. Полнота изложения материалов диссертации в работах, опубликованных соискателем**

По теме диссертационной работы опубликовано 17 печатных работ, в том числе 6 статей в журналах, входящих в перечень ВАК и индексируемых в международных базах Scopus и Web of Science.

##### **Научные статьи:**

1. Maksimov I.V., Sorokan' A.V., Burkhanova G.F., Veselova S.V., Alekseev V.Yu., Shein M.Yu., Khairullin R.M., et. all Mechanisms of Plant Tolerance to RNA Viruses Induced by Plant-Growth- Promoting Microorganisms // *Plants* 8:575, December 2019; DOI: 10.3390/plants8120575; PMID: 31817560; PMCID: PMC6963434, (БАК, РИНЦ, WoS, SCOPUS Q1);
2. Максимов И.В., Шеин М.Ю., Бурханова Г.Ф. РНК-интерференция в защитных системах растений // *Физиология растений*, 2021, том 68, No 4, с. 356-370; DOI: 10.31857/S0015330321030131, (РИНЦ, RSCI, БАК)  
(английская версия: Maksimov, I.V., Shein, M.Y., Burkhanova, G.F. RNA Interference in Plant Defense Systems. *Russ J Plant Physiol* 68, 613–625 (2021). DOI: 10.1134/S1021443721030134) (WOS, Scopus Q3);
3. Шеин М. Ю., Бурханова Г. Ф., Мерзлякова А. Ю., Максимов И. В. Изменение транскрипционной активности генов *TAAGO2* и *TAAGO4* в растениях пшеницы при инфицировании грибом *Stagonospora nodorum* Berk // *Труды Кубанского государственного аграрного университета* 2021, выпуск 92, стр. 196-200., ISSN: 1999-1703 DOI: 10.21515/1999-1703-92-196-200 (РИНЦ, RSCI, БАК);
4. Максимов, И. В., Веселова, С. В., Шеин, М. Ю., Хайруллин, Р. М. Эндофиты и защита растений от биотического стресса: перспективы создания биопрепаратов нового поколения // *Труды Кубанского государственного аграрного университета* 2022, выпуск 98, стр. 98-104., ISSN: 1999-1703 DOI: 10.21515/1999-1703-98-98-104 (РИНЦ, RSCI, БАК);
5. Максимов И. В., Шеин М. Ю., Бурханова Г. Ф. РНК-интерференция в защите растений от грибной и оомицетной инфекции // *Прикладная биохимия и микробиология*, 2023, Т. 59, № 3, стр. 219-234 DOI: 10.31857/S0555109923030133 (<https://sciencejournals.ru/view-article/?j=prikbio&y=2023&v=59&n=3&a=PrikBio2303013Maksimov>) (РИНЦ, RSCI, БАК)) (английская версия: Maksimov I. V., Shein M. Y., Burkhanova G. F. RNA Interference in Plant Protection from Fungal and Oomycete Infection // *Applied*

Biochemistry and Microbiology. – 2022. – Т. 58. – №. Suppl 1. – С. S16-S31., DOI: 10.1134/S0003683822100106) (BAK, WOS, Scopus Q3);

6. Шеин М. Ю., Бурханова Г. Ф., Максимов И. В. Влияние салициловой и жасмоновой кислот на активность генов *SnAGO* гриба *Stagonospora nodorum* Berk. в культуре и при инфицировании растений пшеницы // Вавиловский журнал генетики и селекции 2023. Т.27 №8. С. (BAK, Scopus Q3).

#### **6. Специальность, которой соответствует диссертация**

Диссертационное исследование Шеина Михаила Юрьевича соответствует паспорту научной специальности 1.5.7. - Генетика, охватывающей направления (9. Реализация генетической информации (транскрипция, трансляция). Механизмы регуляции экспрессии генов. Взаимодействие генов; 17. Частная генетика микроорганизмов, растений и животных. Геносистематика. Филогенетика. 25. Прикладные аспекты генетики. Использование генетики в криминалистике, идентификации личности, систематике, диагностике и др.).

#### **7. Ценность научных работ соискателя.**

Полученные данные позволяют расширить представления о физиологических и биохимических механизмах устойчивости растений. Возможность индуцирования/супрессии экспрессии генов, ответственных за кодирование белков РНК растения (мягкой пшеницы) или патогена (возбудителя септориоза) за счет обработки растений двуцепочечными РНК и эндофитными штаммами *B. subtilis* может быть использовано при создании биопрепаратов против возбудителя септориоза.

#### **8. Научная зрелость соискателя**

Шеин М. Ю. выполнил большой объем экспериментальной и теоретической работы по изучению активности транскрипции генов системы РНК-интерференции у растений пшеницы и патогенного гриба в различных условиях. При непосредственном участии Шеина М. Ю. были выполнены все этапы экспериментальных исследований, а также обработка, анализ, и, что немаловажно, оформление полученных результатов в виде рукописей, опубликованных в высокорейтинговых научных изданиях. Шеин М. Ю. показала себя как высококвалифицированный, грамотный и ответственный исследователь, имеющий высокий уровень профессиональной подготовки и обладающий всеми необходимыми знаниями и навыками, присущими специалистам в области генетики.

#### **9. Проверка диссертации на заимствованного материала без ссылки на авторов.**

В тексте диссертации соискатель ссылается на авторов и источники заимствования материалов и отдельных результатов, также отмечает полученные лично и (или) в соавторстве результаты, что соответствует п. 14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842. Итоговая оценка оригинальности по системе проверки использования заимствованного материала без ссылки на автора составила 87,01% (заключение экспертной комиссии и автоматический отчет прилагаются).

#### **ЗАКЛЮЧЕНИЕ:**

Экспертная комиссия единогласно решила, что диссертационная работа Шеина Михаила Юрьевича «Роль РНК-интерференции в формировании защитных систем растения пшеницы против возбудителя септориоза *Stagonospora nodorum* Berk», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7. Генетика (биологические науки) представляет собой научно-квалификационную работу, которая полностью соответствует критериям п.9-11,13,14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842, в диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных соискателем ученой степени работах, в которых изложены основные научные результаты диссертации, отмечено отсутствие в диссертации заимствованного материала без ссылок на авторов или источники

заимствования. Диссертационная работа Шеина Михаила Юрьевича «Роль РНК-интерференции в формировании защитных систем растения пшеницы против возбудителя септориоза *Stagonospora nodorum* Berk» может быть рекомендована к официальной защите на Диссертационном совете 24.1.218.01, по специальности 1.5.7. Генетика (биологические науки).

Экспертная комиссия диссертационного совета 24.1.218.01 единогласно решила:

**Рекомендовать** представляемую диссертацию Шеина Михаила Юрьевича к официальной защите на Диссертационном совете 24.1.218.01 при Уфимском федеральном исследовательском центре Российской академии наук по специальности 1.5.7. Генетика (биологические науки).

**Утвердить официальных оппонентов**, обратив внимание на их научные публикации:

**Щербаня Андрея Борисовича** – доктора биологических наук, заведующего лабораторией Инновационных средств защиты растений ФИЦ «Института цитологии и генетики СО РАН», (630090, г. Новосибирск, пр. Академика Лаврентьева д. 10), тел.: +7-913-456-48-36, e-mail: atos@bionet.nsc.ru, сайт: <https://www.icgbio.ru/>

**Янбаева Юлая Аглямовича** – доктора биологических наук, заведующего Научно-образовательным центром (НОЦ) федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования "Башкирский государственный аграрный университет" (450001, г. Уфа, ул. 50-летия Октября д. 34), тел.: +8-906-107-11-34, e-mail: yanbaev\_ua@mail.ru, сайт: <https://www.bsau.ru/science/wcs-ec/>.

**Утвердить ведущую организацию**, обратив внимание на то, что одно из основных направлений научно-исследовательской деятельности структурного подразделения, где будет проходить обсуждение, соответствует тематике диссертации соискателя:

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Федерального научного центра биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии ДВО РАН (ФНЦ Биоразнообразия ДВО РАН), 690022, г. Владивосток, просп. 100-летия Владивостоку, д. 159, тел.: +7(499)246-69-80, e-mail: denisova@biosoli.ru, сайт: <https://www.biosoil.ru/>, директор: член-корр. РАН, д.б.н. Гончаров Андрей Анатольевич

Председатель экспертной комиссии Диссертационного совета 24.1.218.01 при Уфимском федеральном исследовательском центре Российской академии наук:  
д.б.н., профессор, Хидиятова Ирина Михайловна (по специальности 1.5.7. Генетика)

Члены комиссии:

д-р биол. наук, Кулуев Булат Разяпович (по специальности 1.5.3. Молекулярная биология)

д-р биол. наук, Бермишева Марина Алексеевна (по специальности 1.5.7. Генетика)

Председатель диссертационного совета 24.1.218.01  
д.б.н., проф. член корр. РАО Хуснутдинова Э. К.

Ученый секретарь диссертационного совета 24.1.218.01  
д.б.н., доцент Корытина Г. Ф.

Дата: 25.10.2023 (Двадцать пятое октября две тысячи двадцать третьего года)