



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

21.09.2023 № 14101-931.1-1415

На № _____

«УТВЕРЖДАЮ»

руководитель федерального
государственного бюджетного
научного учреждения Уфимского
федерального исследовательского
центра Российской академии наук,
доктор биологических наук



 Мартыненко В.Б.

«21»

сентября

2023 г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

**Института биохимии и генетики
Уфимского федерального исследовательского центра
Российской академии наук
о диссертационной работе
Шейна Михаила Юрьевича**

Диссертация Шейна Михаила Юрьевича по теме: «Роль РНК-интерференции в формировании защитных систем растения пшеницы против возбудителя септориоза *Stagonospora nodorum* Berk» выполнена в Институте биохимии и генетики – обособленном структурном подразделении Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук.

В период подготовки диссертации с 2018 по 2022 г. соискатель Шейн Михаил Юрьевич обучался в очной аспирантуре в Институте биохимии и генетики - обособленном структурном подразделении Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук по направлению подготовки 06.06.01 – биологические науки, направленность (профиль) 1.5.21. – Физиология и биохимия растений. С октября 2022 г. по настоящее время работает в должности младшего научного сотрудника лаборатории молекулярной фармакологии и иммунологии.

В 2018 году окончил Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Башкирский государственный педагогический университет им. М. Акмуллы» по направлению подготовки 06.04.01 Биология (профилю) «Генетика».

Удостоверение (справка) о сдаче кандидатских экзаменов выдано 28.08.2023 в Институте биохимии и генетики – обособленном структурном подразделении Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук.

Научный руководитель – Максимов Игорь Владимирович, доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории биохимии иммунитета растений Института биохимии и генетики – обособленного структурного подразделения Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук.

Кандидатские экзамены сданы 18 июня 2019 г. (История и философия науки (биологические науки)), 25 июня 2019 г. (Иностранный язык (английский)), 14 июня 2022 г. (Специальная дисциплина по научной специальности 1.5.21. Физиология и биохимия растений), 20 июня 2023 г. (Специальная дисциплина по научной специальности 1.5.7. Генетика).

Тема диссертации утверждена на заседании Ученого совета Института биохимии и генетики УФИЦ РАН, протокол № 8 от 2 ноября 2018 года.

По итогам обсуждения принято следующее **заключение:**

Оценка выполненной соискателем работы.

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.

Личный вклад автора.

Личный вклад соискателя заключается в планировании и проведении экспериментов, обработке и анализе полученных данных, подготовке публикаций по теме диссертационной работы.

Степень достоверности результатов проведенных исследований.

Достоверность полученных данных подтверждается воспроизводимостью и многочисленностью проведённых экспериментов, а также наличием положительных и отрицательных контролей.

Научная новизна.

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.

Практическая значимость результатов.

Полученные данные позволяют расширить представления о физиологических и биохимических механизмах устойчивости растений. Возможность индуцирования/супрессии экспрессии генов, ответственных за кодирование белков РНКи 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. 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.

Полнота изложения материалов диссертации в публикациях.

Соискатель имеет 17 опубликованных работы, 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., ect. 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, (BAK, 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, BAK) (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, BAK);
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, ВАК);
5. И. В. Максимов, М. Ю. Шеин, Г. Ф. Бурханова 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, ВАК)) (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) (ВАК, 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. (ВАК, Scopus Q3).

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.

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.).

Учитывая актуальность темы диссертационной работы Шеина Михаила Юрьевича «Роль РНК-интерференции в формировании защитных систем растения пшеницы против возбудителя септориоза *Stagonospora nodorum* Berk», ее 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 даны решения поставленных задач.

Результаты исследования достоверны. Выводы адекватны используемым методам и соответствуют поставленным задачам. Научные положения и выводы базируются на результатах собственных исследований автора.

Диссертационное исследование Шеина М. Ю. удовлетворяет всем требованиям пункта 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7. - «Генетика» и соответствует заявленной специальности, о чем свидетельствуют пункты 9, 17 и 25 «Паспорта специальности».

Диссертация рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по научной специальности 1.5.7. - «Генетика» в диссертационном совете 24.1.218.01 по защите докторских и кандидатских

диссертаций при Институте биохимии и генетики - обособленном структурном подразделении Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук.

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 15 человек. Результаты голосования:

«за» - 15 чел., «против» - 0., воздержались - 0, протокол № 7 от 15.09.2023 года.

Председатель Ученого совета ИБГ УФИЦ РАН,
д.б.н., профессор, член-корр. РАО



Хуснутдинова Э. К.