

## ОТЗЫВ НА АВТОРЕФЕРАТ

диссертации 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)

Диссертационная работа М.Ю. Шеина посвящена изучению роли генов, кодирующих белки AGO и DCL, компонентов РНК-интерференции, в формировании патогенной системы контрастных по устойчивости сортов мягкой пшеницы *Triticum aestivum* L. с возбудителем септориоза *Stagonospora nodorum* Berk.

К настоящему времени перед мировым растениеводством и сельским хозяйством остро встала проблема поиска и применения высокоспецифичных, экологически безопасных и действенных способов борьбы с фитопатогенами. С открытием РНК-интерференции стало возможным изучение механизмов, путей сигналинга а также управления хозяин-индуцированным генным слайесингом (ХИГС), который лежит в основе защитной роли РНК-интерференции (РНКи) от фитопатогенов различной природы. Кроме того, активно изучаются и разрабатываются методы применения спрей-индуцированного генного слайесинга для применения искусственных систем РНКи защиты растений и создания устойчивых сортов. Несмотря на популярность и большое количество исследований за последние десятилетия, данная область находится, в большей степени, на стадии накопления экспериментального материала. С учетом того, что о работе системы РНКи в растениях, инфицированных грибами-гемибиотрофами, практически ничего неизвестно, фундаментальная и практическая значимость диссертационной работы не вызывает сомнений.

Диссертационная работа М.Ю. Шеина представляет собой законченное комплексное исследование. Применение целого ряда современных методов изучения экспрессии и анализа нуклеотидных последовательностей генов в совокупности с методами биоинформатики и статистического анализа данных позволили диссертанту получить и обосновать достоверные новые ценные экспериментальные данные. Обращает внимание тот факт, что при достижении поставленных задач большинство результатов были получены впервые. На контрастных по устойчивости к патогену сортах растений пшеницы показано, что инфицирование листьев патогеном приводило к усилению экспрессии различных генов AGO и DCL, кодирующих белки – ключевые участники системы РНК-интерференции у растений. Причем накопление транскриптов было более выражено у неустойчивого к патогену сорта Жница по сравнению с устойчивым сортом Омская 35. Предобработка семян растений модуляторами фитоиммунитета различной природы (жасмоновая и салициловая кислоты, инфицирование бактериальным штаммом *B. Subtilis* 26Д) усиливали уровень относительной экспрессии исследуемых генов. Это приводило к торможению процесса развития патогена на листьях. Важно отметить, что положительный эффект от предобработки показан не только на основании данных площади поражения листьев, но и при оценке отношения референсных генов патогена к референсным генам пшеницы, причем на более ранних этапах развития грибной инфекции. Сопоставление полученных результатов позволило диссертанту рекомендовать показатель отношения референсных генов патогена и хозяина для оценки устойчивости сортов и влияния модуляторов фитоиммунитета к воздействию патогена в более ранние и короткие сроки инфицирования. Интересно отметить, что как выращивание гриба на питательной среде с добавлением жасмоновой и салициловой кислот, так и предпосевная обработка семян растений, в целом, приводила к увеличению относительного содержания транскриптов соответствующих генов (AGO и DCL) у самого патогена. А инокуляция семян бактериальным штаммом *B. Subtilis* 26Д, напротив, подавляла экспрессию генов РНКи патогена, причем, в первые часы после инфицирования листьев грибом. Секвенирование фрагментов гена AGO1 у двух сортов пшеницы и применение методов

биоинформатики позволили выявить однонуклеотидную замену, приводящую к замене аминокислоты у восприимчивого сорта Жница и предсказать изменения в структуре белка, которые могут влиять на его активность. Также диссертанту удалось определить особенности положения исследуемых генов пшеницы и патогена в филогенетической системе растений, а также грибов и других эукариот, соответственно. Что также имеет значение для дальнейшего изучения РНКи и ее применения для защиты растений от грибных патогенов.

При прочтении автореферата возникли следующие вопросы.

1) Из текста автореферата не ясно, какими статистическими методами пользовались при оценке достоверности различий в уровне экспрессии генов между различными экспериментальными вариантами? Более информативно было бы обозначить статистически значимые отличия на рисунках, к примеру, разными латинскими буквами над столбцами.

2) Не совсем ясно (может быть, не уловил из текста), почему для дальнейшего секвенирования и биоинформационного анализа был выбран именно ген *TaAGO1*? Ведь судя по результатам анализа ПЦР уровень транскрипции, к примеру, *TaAGO4* при обработке салициловой и жасмоновой кислотами был выше. Однако при анализе влияния инфицирования бактериальным штаммом измеряли относительный уровень экспрессии только *TaAGO1* и *TaAGO2*.

3) Можно ли предположить, с чем может быть связано то, что воздействие СК и ЖК усиливало экспрессию генов *AGO* и *DCL* не только у пшеницы, но и патогена, при этом степень поражения листьев патогеном при действии СК и ЖК значительно уменьшалась?

Приведенные выше замечания и вопросы не снижают качество и актуальность проделанной работы. Все они носят уточняющий и рекомендательный характер.

Автореферат написан грамотным литературным языком, логично выстроен, хорошо оформлен. Выводы, сделанные соискателем, полностью соответствуют поставленным цели и задачам. Результаты работы опубликованы в российских и зарубежных журналах, рекомендованных ВАК РФ и входящих в международные базы цитирования WoS и Scopus, апробированы на всероссийских и международных конференциях.

Считаю, что диссертационная работа соответствует требованиям пп. 9-11, 13, 14 установленным «Положением о порядке присуждения ученых степеней», утвержденным Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 г., предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор Шеин Михаил Юрьевич заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7. – Генетика (биологические науки).

Кандидат биологических наук (1.5.21.),  
научный сотрудник лаборатории экологической  
физиологии растений Института биологии  
Коми научного центра Уральского отделения  
Российской академии наук

Шелякин Михаил Анатольевич

13.03.2024

167982, г. Сыктывкар, ГСП-2,

ул. Коммунистическая, 28

Телефон: +7(8212)24-96-87

E-mail: shelyakin@ib.komisc.ru



Подпись (и) <i>М.А. Шелякин</i>
зверяю.
следующий документовед Института биологии Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра "Коми научный центр Уральского отделения Российской академии наук"
<i>О.Л. Заболоцкая</i> О.Л. Заболоцкая
<i>13 марта</i> 2024 г.