

Отзыв

официального оппонента на диссертацию Шеина Михаила Юрьевича «Роль РНК-интерференции в формировании защитных систем растения пшеницы против возбудителя септориоза *Stagonospora nodorum* BERK», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7 – генетика (биологические науки).

Актуальность исследования. Диссертационная работа Шеина М.Ю. посвящена изучению роли компонентов РНК-интерференции в защите мягкой пшеницы от гриба *Stagonospora nodorum* Berk, а также возможности их использования в регуляции экспрессии генов в качестве альтернативного и экологически-чистого механизма защиты культурных растений против патогенов грибной этиологии. Актуальность исследования обусловлена тем, что заболевания, вызываемые патогенами, наносят существенный ущерб урожайности мягкой пшеницы. В настоящее время против этой болезни эффективно используются химические средства защиты растений, которые, однако, экологически небезопасны, так как в больших количествах накапливаются в биоценозе. Более того, со временем патогены способны вырабатывать устойчивость к подобным средствам защиты, что в свою очередь вынуждает производителя использовать все более и более высокие концентрации фунгицидов, увеличивая тем самым наносимый ими экологический ущерб. Поэтому перед научным сообществом стоит задача разработки новых экологически-безопасных, эффективных и высокоспецифичных генетических методов защиты культурных растений от патогенов. В связи с этим, тема диссертационной работы Шеина М.Ю. является весьма актуальной, а идея оценки роли генов компонентов системы РНК представляет как теоретический, так и практический интерес.

Научная новизна. Диссертантом впервые проведен анализ активности транскрипции генов *Ago* и *DCL* системы РНК у контрастных по устойчивости к септориозу сортов мягкой пшеницы и у патогенного гриба *S. nodorum*.

Автором работы оценено влияние различных индукторов защитного ответа растений (салициловой и жасмоновой кислот, штамма бактерий рода *Bacillus*) на активность транскрипции исследуемых генов РНК-интерференции. Установлена взаимосвязь между функционированием данной системы у растения-хозяина и фитопатогена. В диссертационной работе впервые предложен эффективный метод оценки динамики развития патогенного гриба *S.nodorum*, основанный на соотношении уровня транскриптов генов домашнего хозяйства фитопатогена, *SnTub*, и растения - хозяина (пшеницы) - *TaRli*. Соответственно, научная новизна полученных в данной работе результатов не вызывает сомнений.

Теоретическая и практическая значимость. Результаты диссертационного исследования представляют интерес как с фундаментальной, так и с практической точки зрения. В работе были рассмотрены изменения активности генов РНК-интерферирующей системы в различных конфигурациях, причем как у исследуемых сортов пшеницы, так и у патогенного гриба. Полученные данные свидетельствуют об активном участии генов *Ago* и *DCL* как в формировании защитного ответа растения, так и при преодолении этой защиты грибом. Кроме того, автором показано непосредственное влияние индукторов защитного ответа растений, салициловой и жасмоновой кислот, на активность исследуемых генов, что также подтверждает вовлеченность РНК-интерферирующей системы в процесс патогенеза возбудителя септориоза. Эти результаты позволяют расширить теоретическое представление о роли РНК-интерференции при взаимодействии растения-хозяина и фитопатогена в процессе патогенеза, а также дают возможности для дальнейшего практического использования компонентов данной системы в защите растений.

Обоснованность и достоверность результатов. Диссертационная работа Шеина М.Ю. проведена на достаточно высоком методическом уровне. В работе использованы разные методы работы с растениями и патогенным грибом *S.nodorum* в лабораторных условиях. Также автором успешно

применены классические молекулярно-генетические методы работы, в том числе выделение нуклеиновых кислот из растений и гриба, оценка активности транскрипции генов с помощью методов ПЦР (в том числе в реальном времени) и электрофореза. Проведено секвенирование нуклеотидной последовательности гена *TaAgo1* исследуемых сортов пшеницы, а также их сравнение с последовательностями из биологических баз данных с использованием двух различных алгоритмов выравнивания. Полученные данные статистически обоснованы и достоверны.

Диссертационная работа Шеина М.Ю. изложена на 150 страницах (121 с. без списка литературы) и состоит из введения, литературного обзора по теме исследования, описания материалов и методов работы, описания полученных экспериментальных данных, обсуждения, заключения, выводов и списка использованной литературы, включающего в себя 224 источника (из них 198 на иностранных языках). В работе имеются 9 таблиц и 31 рисунок.

Во Введении (с. 6-10) диссертантом обоснована актуальность исследования, его новизна и практическая значимость. Далее, на основании перечисленных разделов диссертантом показана цель исследования и раскрывающие задачи. Приведены все другие данные, требуемые для этого раздела диссертации.

В первой главе диссертационной работы «Обзор литературы» (с. 11-48) в 9 разделах дается подробное описание механизма РНК-интерференции и компонентов этого биологического механизма. Подробно рассматривается имеющаяся информация о подавлении РНК-системы патогенами, а также о влиянии различных индукторов на активность ее компонентов.

Во второй главе «Материалы и методы исследования» (с. 49-58) в 7 разделах дается подробное описание схемы эксперимента и методов работы, а также материально-техническая база, использованная в ходе проведения диссертационного исследования.

В основной главе «Результаты и их обсуждение» (с. 59-108) диссертантом подробно рассмотрены и обсуждены полученные результаты.

Эта глава также имеет достаточно четкую структуру и разделена на 8 разделов. Вначале автором рассмотрены результаты по экспериментам с растениями пшеницы, а затем – с фитопатогенном. В главе представлено большое число диаграмм. В разделе, посвященном анализу нуклеотидных последовательностей, имеются снимки с результатами компьютерной обработки, на которых доказываются различия между различными копиями исследуемого гена. К каждому рисунку автор дает подробное объяснение с ссылками на другие литературные источники, близким к исследованной теме.

В последнем разделе «Обсуждение» (с. 109-114) автором в обобщенном виде проанализированы полученные данные и дается интерпретация результатов проведенного исследования. Диссертантом предлагается ряд стратегий по использованию выявленных научных закономерностей на практике.

В Заключении диссертации подведены основные итоги проведенной работы (в автореферате в резюмирующей форме).

Изложенные диссертантом выводы соответствуют поставленным целям и задачам.

Автореферат в краткой форме отражает материалы диссертационной работы и включает в себя обоснование актуальности, выносимые на защиту положения, основные результаты исследования (с приведением информативных схем и рисунков), заключение, выводы и список опубликованных работ. Он оформлен в соответствии с установленными стандартами, его содержание соответствует структуре, основным идеям, заключению и выводам, приведенным в диссертации.

Сведения о полноте опубликованных научных результатов. По материалам диссертационной работы опубликован достаточное число научных работ, к числу которых относятся 6 публикаций в журналах, входящих в Перечень ВАК при Минобрнауки России, а также в изданиях, индексируемых в международных базах данных Web of Science и Scopus.

Общие вопросы и замечания по работе. При анализе текста диссертационной работы возник ряд замечаний и вопросов.

1) Информация в мире о преимуществах защиты растений методами, основанными на использовании явления РНК-интерференции, ограничена, по сравнению с другими классическими методами защиты растений против фитопатогенов. Каково мнение автора работы - насколько данный метод экологически безопаснее и коммерчески выгоднее, по сравнению с использованием химически синтезированных фунгицидов?

2) В проведенном исследовании диссертант сравнивает секвенированные фрагменты гена *TaAgo1* с последовательностями предковых форм геномов 7A и 7D из баз данных. Почему не был рассмотрен вариант гена из хромосомы 7B?

3) Как известно, РНК-интерферирующая система эукариот выполняет функцию регуляции активности генов. Автору следовало бы более развёрнуто описать, почему, по его мнению, наблюдаемые изменения активности транскрипции генов *Ago* и *DCL* связаны только с активацией защитного ответа растений в ответ на инфицирование возбудителем септориоза? Как видно из описания методов, опыты проводились на проростках в лабораторных условиях. Значит, экспрессионная активность генов РНК могла меняться также по причинам, не зависящим от инфицирования патогеном (например, в ответ на абиотический стресс).

4) В работе рассматривается активность транскрипции генов *Ago* и *DCL*, но не исследованы кодируемые ими белки. Несмотря на то, что диссертационная работа подготовлена по специальности «генетика», в качестве рекомендации для будущих исследований хотелось бы посоветовать автору изучить также этот вопрос.

5) Установленное сокращённое наименование Министерства науки и высшего образования Российской Федерации – Минобрнауки России, а не МОН РФ (с. 21 автореферата).

Тем не менее, указанные замечания не снижают научное значение данной работы и уровень квалификации ее автора. На основании вышеизложенного можно заключить, что диссертационная работа М.Ю. Шеина представляет собой научно-квалификационную работу, полностью соответствующую пп. 9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ № 842 от 24 сентября 2013 года, а ее автор, Шеин Михаил Юрьевич, заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7- Генетика.

Официальный оппонент:

Доктор биологических наук, профессор, заведующий научно-образовательным центром ФГБОУ ВО «Башкирский государственный аграрный университет»



Юлай Аглямович Янбаев

Подпись Янбаева Юлая Аглямовича заверяю:

заведующий канцелярией ФГБОУ ВО Башкирский ГАУ



27 февраля 2024

Л.Г. Умербаева

Данные оппонента:

Янбаев Юлай Аглямovich

Место работы: 450001, г. Уфа, ул. 50-летия Октября, дом 34, научно-образовательный центр ФГБОУ ВО «Башкирский государственный аграрный университет»;

Ученая степень: доктор биологических наук, специальность 03.00.16 – Экология;

Ученое звание: профессор,

Должность: заведующий научно-образовательным центром ФГБОУ ВО «Башкирский государственный аграрный университет»;

Телефон организации: +73472289177

Сайт организации: bsau.ru

E-mail: bgau@ufanet.ru

Согласен на сбор, обработку, хранению и передачу моих персональных данных при работе диссертационного совета 24.1.218.01 по диссертационной работе 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).



Юлай Аглямovich Янбаев

27 февраля 2024 г.

Подпись Янбаева Юлая Аглямovichа заверяю:

заведующий канцелярией ФГБОУ ВО Башкирский ГАУ



Л.Г. Умербаева

27 февраля 2024