

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу

АРХИПОВА АНДРЕЯ ВЛАДИМИРОВИЧА:

«ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ X ВИРУСА ШАЛОТА (РОД *ALLEXIVIRUS*) С
ФАКТОРАМИ АНТИВИРУСНОГО ИММУНИТЕТА РАСТЕНИЯ-
ХОЗЯИНА»,

представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук
по специальности: 1.5.6 – Биотехнология

По мере разработки современных фунгицидов и бактерицидов, позволяющих эффективно защищать с/х культуры от грибных и бактериальных фитопатогенов удается более или менее эффективно защищать посевы от возбудителей этих болезней. В результате на первый план выдвигается проблема поиска противовирусных средств защиты растений и повышается ее актуальность. Практически полное отсутствие синтетических вирулицидов на рынке пестицидов стимулирует поиски новых подходов борьбы с фитовирусами. В связи с этим выбранное диссертантом направление исследований молекулярных механизмов взаимодействия ХВШ с растением-хозяином является весьма актуальным, поскольку полученные в результате данные могли бы позволить вести направленный научно обоснованный поиск средств противовирусной защиты растений. Актуальность сформулированных в диссертации задач обусловлена также тем, что, как показал автор, механизм подавления противовирусных реакций растения-хозяина против ХВШ оказался не совсем обычным. Этот вирус, как оказалось, в отличие от большинства известных фитовирусов, не продуцирует белок-супрессор, способный подавлять РНК-сайленсинг Шалота. Поэтому основной целью диссертации было проведение

тщательного анализа механизмов, преодоления целевым патогеном антивирусного иммунитета растения-хозяина.

Для достижения поставленной цели, диссертант сформулировал следующие задачи:

- выявить белки, продуцируемые ХВШ, которые могли бы блокировать локальный и системный сайленсинг генов растения-хозяина, участвующих в реализации антивирусного иммунитета;

- определить гены лука Шалота, ответственные за реализацию основных факторов противовирусной защиты, и сравнить экспрессию этих генов в зараженном и безвирусном растениях;

- проверить способность ХВШ использовать индуцировать механизм РТІ для подавления защитных реакций растения-хозяина;

- определить изменения в геноме ХВШ произошедшие в течение длительного культивирования в вегетативно размножающемся растении лука Шалота;

- уточнить спектр действия целевого патогена.

Исходя из вышесказанного, можно сделать вывод о том, что выбранная диссертантом тема соответствует специальности 1.5.6 - «биотехнология», поскольку в работе освещаются вопросы, связанные с изучением молекулярных механизмов взаимодействия между ХВШ и растением лука Шалота с использованием методов биотехнологии.

Научная новизна представленных в диссертации результатов обусловлена тем, что автор в процессе исследований впервые показал, что ХВШ способен преодолевать противовирусные защитные механизмы лука, не используя при этом собственный вирусный белок, супрессирующий РНК-сайленсинг. Показана способность ХВШ влиять на экспрессию генов Шалота, ответственных за противовирусные защитные реакции лука.

Впервые показано, что вирусная инфекция сопровождается индукцией экспрессии нуклеотидных последовательностей, соответствующих генам РНК-зависимой РНК-полимеразы и дайсер-подобных белков.

Впервые в экстрактах тканей Шалота выявлены и идентифицированы транскрипты, кодирующие факторы, принимающие участие в процессах РТI, аутофагии и RQC. Диссертантом разработана система праймеров для определения уровня представленности этих транскриптов-мишеней.

Впервые показано, что, помимо лука Шалота, ХВШ способен заражать промышленные посадки чеснока.

Полученные в результате исследований данные являются оригинальными и обуславливают как научную новизну, так и возможное практическое значение представленной работы. О научной значимости полученных диссертантом результатов свидетельствует обширный список опубликованных трудов, в том числе в высокорейтинговых журналах.

Достоверность и обоснованность результатов исследования. Работа соискателя основана на результатах лабораторных экспериментов, спланированных и выполненных на современном оборудовании с соблюдением всех необходимых требований и с использованием общепринятых методик и техник, адаптированных к поставленным задачам и соответствующих поставленным в работе цели и задачам. Повторность экспериментов достаточна для проведения их статистической обработки. Таким образом, выносимые на защиту основные научные положения и выводы являются достоверными и обоснованными.

По материалам диссертации опубликовано 11 научных работ, в том числе 5 статей в рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ, 1 статья в изданиях, входящих в международные реферативные базы данных, 5 работ в сборниках научных конференций.

Объем и структура диссертации

Диссертационная работа изложена на 187 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, глав с описанием использованных материалов и методов, глав с описанием полученных результатов, заключения и списка цитируемой литературы, включающего

238 отечественных и зарубежных источников. Полученные данные сведены в 16 таблиц и проиллюстрированы 23 рисунками.

Литературный обзор соответствует теме диссертации, он достаточно полно описывает современное состояние области науки, которой посвящена работа. Автор вполне обоснованно ограничился обзором литературы, описывающим общую характеристику рода *Allexivirus*, полную характеристику X вируса шалота (ХВШ), эволюцию аллексивирусов, РНК-интерференцию, как форма antiviralного фитоиммунитета, вирусные супрессоры РНК-интерференции.

Содержание раздела «Материалы и методы» свидетельствует о том, что автор владеет широким арсеналом современных методов исследований в области биотехнологии, фитопатологии и молекулярной биологии.

Раздел «Результаты» содержит основные данные экспериментов. Диссертанту удалось показать, что в процессе вирусной инфекции не было обнаружено вирусных белков, способных супрессировать механизм подавления РНК-сайленсинга растения-хозяина. При этом было показано, что вирус подавляет экспрессию генов, кодирующих белки DCL, также как гены, ответственные за биосинтез RDR. Это позволило предположить, что ХВШ, не обладая способностью использовать белок-супрессор РНК-сайленсинга, способен подавлять продукцию луком дайсер-белков и РНК-зависимой РНК-полимеразы, которые являются другими инструментами противовирусной защиты растений.

Исследуя представленность транскриптов маркерных генов, присущих известному явлению *Pattern-Triggered Immunity* в тканях лука, автор показал, что инфекция ХВШ на начальных стадиях повышает уровень экспрессии этих генов, однако через две недели после высадки инфицированных растений экспрессия большинства генов-мишеней, связанных с РНК-сайленсингом, РТІ. Полученные данные позволили автору сделать вывод о том, что персистентная инфекция ХВШ приводит к специфическому подавлению экспрессии генов, кодирующих белки-маркеры РТІ и других механизмов

фитоиммунитета. Особо хочется отметить обнаруженные диссертантом транскрипты, кодирующие процессы аутофагии, которые в растительных клетках не очень детально изучены пока. Этот механизм интересен еще и тем, что он давно и хорошо изучен для клеток животных.

Замечания по диссертации:

Первое замечание носит общий характер и относится к большому количеству цитирования. Некоторые страницы полностью состоят из череды цитирований, в основном, из чужих или собственных статей. Так, в разделах «Литературный обзор» такими являются стр. 28-31, 35, 41, 48, 66, 70, 72, 89, 90, 91, 92, 93 и 94, а в разделе «Результаты»: стр. 108, 111, 113, 114, 123, 126 и т.д. Если формально это допускается, то, все равно, трудно определить к какой из ссылок относится цитирование, если в конце фразы приводятся ссылки на две статьи. На стр. 61 приводится на пол страницы цитата на английском языке, что не совсем обычно. Наконец, литературный обзор, все-таки, подразумевает критическое изложение имеющегося в мировой литературы информационного материала. Поэтому текст, состоящий, в основном, из цитат, взятых из опубликованных работ, при всей полноте приводимых фактов, вряд ли можно считать полноценным литературным обзором. Необычно также выглядят подписи к рисункам, состоящие полностью из цитат.

Другим замечанием к разделу «Литературный обзор» является то, что в обзоре не описаны имеющиеся в научной литературе данные о механизме аутофагии растительных клетках. Полученные диссертантом данные, позволяют предположить возможность использование луком аутофагии как одного из возможных механизмов противовирусной защиты. Поэтому было бы желательно в литературном обзоре осветить тему аутофагии. В литобзоре также не освещена тема РТИ (Pattern-Triggered Immunity). Диссертант показал возможную причастность этого механизма к противовирусным механизмам, используемым Шалотом, поэтому описание современного состояния этой темы было бы очень желательным.

В то же время, раздел литобзора «5.2. Механизм действия вирусных супрессоров РНК-интерференции», в котором описываются подобные механизмы у различных видов вирусов, вполне можно было бы сократить (стр. 88-95).

Замечание по содержанию раздела «Результаты»:

Описывая данные рисунка 18, автор пишет, что «...в корнях инфицированных растений шалота уже на 4 день после высадки луковиц (рис. 18, А) было выявлено значительное подавление экспрессии RDR, DCL...». Что касается белков DCL, то это утверждение не соответствует представленным данным. На рис. 18 А столбик, соответствующий DCL 5240 значительно превосходит контроль (1,676). Автору следовало бы это противоречие обсудить. Аналогичный анализ корней через 2 недели показал, почти полное подавление и белков DCL и RDR, но факт остается фактом.

Представленный диссертантом автореферат вполне отражает основные положения диссертации.

Название диссертационной работы вполне отражает ее суть и содержание. Выводы вполне корректны и основаны на полученных результатах.

На основании вышеизложенного считаю, что диссертация Архипова Андрея Владимировича: «Взаимодействие X вируса шалота (род *allexivirus*) с факторами антивирусного иммунитета растения-хозяина», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности: 1.5.6. – «Биотехнология», является законченным научным исследованием, которое по актуальности, новизне, теоретической и практической значимости, методическому уровню и объему выполненных исследований, соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 с изменениями от 21.04.2016 г. № 335, а также от 02.08.2016 г. № 748, предъявляемым к диссертационным работам на соискание ученой

степени кандидата наук, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по данной специальности.

Заведующий отделом
молекулярной биологии,
ФГБНУ Всероссийский
научно-исследовательский
институт фитопатологии,
ведущий научный сотрудник,
кандидат биологических наук
24 сентября 2024 г.

 Джавахия Виталий Георгиевич

143050 Московская обл., Одинцовский
район, Большие Вяземы, Институт,
Владение 5,
тел. 8(926)387-83-76, vitaly@vniif.ru

Подпись Джавахия Виталия Георгиевича заверяю:

Помощник директора по
кадрам ФГБНУ ВНИИ
фитопатологии



Дарья Владимировна Кузина