

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА 24.1.016.01
(Д 006.027.01), СОЗДАННОГО НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО
ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО НАУЧНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ
«ВСЕРОССИЙСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОЙ БИОТЕХНОЛОГИИ» (МИНИСТЕРСТВО
НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ)
ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА
НАУК

Аттестационное дело № _____

Решение диссертационного совета от 10.10.2024 г. протокол № 6
О присуждении Архипову Андрею Владимировичу, гражданину Российской
Федерации, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Взаимодействие X вируса шалота (род *Allexivirus*) с факторами антивирусного иммунитета растения-хозяина» по специальности 1.5.6 – Биотехнология принята к защите 31.07.2024 г., протокол № 3, диссертационным советом 24.1.016.01 (Д 006.027.01) на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии», Министерство науки и высшего образования Российской Федерации, 127550, г. Москва, ул. Тимирязевская, д. 42, приказ Минобрнауки Российской Федерации № 714/нк от 02.11.2012.

Соискатель Архипов Андрей Владимирович, гражданин Российской Федерации, 03.09.1984 года рождения, в 2006 г. соискатель окончил Федеральное государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева», с присуждением квалификации ученый агроном по специальности «Селекция и генетика сельскохозяйственных культур». С 2006 г. работает в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии»,

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации, с 2022 г. по настоящее время младшим научным сотрудником в лаборатории цифрового фенотипирования для селекции растений.

Диссертация выполнена в лаборатории молекулярной вирусологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии», Министерство науки и высшего образования Российской Федерации.

Научный руководитель – кандидат биологических наук Вишниченко Валерий Константинович, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии», лаборатория ДНК-маркеров растений, ведущий научный сотрудник.

Официальные оппоненты:

1. Игнатов Александр Николаевич, доктор биологических наук, Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский университет дружбы народов», агробиотехнологический департамент, аграрно-технологический институт, профессор.

2. Джавахия Виталий Георгиевич, кандидат биологических наук, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт фитопатологии», заведующий отделом молекулярной биологии.

Выбор официальных оппонентов определялся их большим опытом в области молекулярной биологии растений, фитопатологии, вирусологии, а также наличием публикаций в ведущих рецензируемых изданиях по тематике работы. Официальные оппоненты дали положительные отзывы на диссертацию. Высказаны замечания и комментарии. Замечания носят рекомендательный характер, не снижают значения представленных в диссертации результатов. Ответы на все замечания представлены в

стенограмме заседания.

Ведущая организация Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный научный центр овощеводства», поселок ВНИИССОК, Московская область, в своем положительном отзыве, утвержденном директором, доктором сельскохозяйственных наук, академиком РАН Солдатенковым Алексеем Васильевичем и составленном кандидатом сельскохозяйственных наук Енгальчевой Ириной Александровной, заведующей лабораторией молекулярно-иммунологических исследований, указала, что диссертационная работа Архипова А.В. является законченной научно-квалификационной работой, в которой на примере X-вируса шалота содержится новая информация о влиянии вирусной инфекции на молекулярные механизмы иммунного ответа в системе растение-хозяин, что найдет широкое применение в области вирусологии и молекулярной биологии. Работа по содержанию, актуальности, новизне, практической и теоретической значимости полученных результатов соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, согласно «Положению о порядке присуждения ученых степеней», утвержденному постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842, а её автор, Архипов Андрей Владимирович, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.6 – Биотехнология. Отзыв содержит замечания дискуссионного характера. Ответ на отзыв присутствует в стенограмме заседания. Выбор ведущей организации обоснован высоким уровнем проводимых в ней исследований в области диагностики болезней растений, идентификации возбудителей, молекулярных основ устойчивости растений к возбудителям болезней, а также высоким профессиональным уровнем сотрудников.

Соискателем опубликовано 11 работ по теме диссертации, из них в рецензируемых научных изданиях опубликовано 5 работ, 1 статья в изданиях, входящих в международные реферативные базы данных, 5 работ в

сборниках научных конференций.

Наиболее значительными являются следующие публикации:

1) Архипов А.В. Индукция РТИ (Pattern-Triggered Immunity) и транскрипционное репрограммирование при персистентной аллексивирусной инфекции / А.В. Архипов, В.К. Вишниченко // Сельскохозяйственная биология. – 2018. – Т. 53. – № 5. – С. 947-957.

2) Архипов А.В. Персистентная инфекция X-вируса шалота сопряжена с подавлением транскрипции генов клеточной РНК-зависимой РНК-полимеразы и dcl-белков в корнях инфицированных растений / А.В. Архипов, А.Г. Соловьев, В.К. Вишниченко // Молекулярная биология. – 2017. – Т. 51. – № 1. – С. 126–130.

3) Архипов А.В. Накопление изменений в геноме X вируса Шалота персистирующего в вегетативно размножаемых растениях / А.В. Архипов, В.А. Гушин, В.К. Вишниченко, А.Г. Соловьев // Доклады Академии Наук. – 2013. – Т. 452. – № 2. – С. 1–4.

4) Архипов А.В. Репродукция X вируса шалота в отсутствие собственного активного белка-супрессора РНК сайленсинга / А.В. Архипов, А.Г. Соловьев, В.К. Вишниченко // Доклады РАСХН. – 2013 – Т. 2. – С. 14–17.

5) Архипов А.В. Обнаружение нуклеотидных последовательностей, кодирующих DCL-белки в растениях шалота *Allium cepa* var. *aggregatum* G. Don / А.В. Архипов, В.К. Вишниченко // Сельскохозяйственная биология. – 2011. - № 5 – С. 51–55.

6) Granda R. First report of Shallot virus X (ShVX) in garlic in Ecuador / R. Granda, G. Landázuri, A.V. Arkhipov // Plant Disease. – 2017. – V. 101. – № 6. – P.1066.

Недостовверных сведений об опубликованных соискателем ученой степени в работах, в которых изложены основные научные результаты диссертации, и заимствованных материалов или отдельных результатов без указания источника установлено не было.

На автореферат диссертации поступило 5 отзывов. Все отзывы

положительные: Отзывы прислали:

1) Ткаченко Олег Борисович, д.б.н., главный научный сотрудник и Келдыш Марина Александровна, к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории защиты растений, ФГБУН Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина Российской академии наук. Отзыв положительный, замечания отсутствуют.

2) Тюрин Александр Александрович, к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории функциональной геномики, ФГБУН Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук. Отзыв положительный, замечания отсутствуют.

3) Диловарова Татьяна Анатольевна, к.б.н., старший научный сотрудник группы геномной модификации, ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии». Отзыв положительный, замечания отсутствуют.

4) Киракосян Рима Нориковна, к.б.н., доцент кафедры биотехнологии, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева. Отзыв положительный. В отзыве есть замечания: 1. Уделено мало внимания описанию систематики исследуемого вируса. 2. Подписи на некоторых рисунках слишком мелкие и требуют усилий для прочтения.

5) Словарева Ольга Юрьевна, к.б.н., старший научный сотрудник, и.о. начальника научно-методического отдела бактериологии, ФГБУ ВНИИКР. Отзыв положительный. В отзыве есть вопросы и замечания к автору: 1. В работе использован препарат, содержащий ХВШ, имеющий российское происхождение. Есть ли у автора сведения об ареале ХВШ на территории России? 2. Почему для проверки гипотезы о единственном растении-хозяине – луке-шалоте (задача 6) использовали образцы чеснока из Эквадора, а не материал растений рода *Allium* из России, где ХВШ был впервые обнаружен? 3. Присутствует ли в России переносчик ХВШ, клещ *Aceria tulipae* Keifer? 4. Какие из полученных результатов Вы считаете наиболее значимыми в

подготовке теоретической базы для создания толерантных к вирусам форм растений?

В ходе защиты соискатель дал развернутые ответы на поставленные вопросы.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований разработана концепция изучения механизмов подавления антивирусных реакций растения-хозяина вирусами, не кодирующими специфические белки-супрессоры РНК-сайленсинга на примере модели взаимодействия X-вируса шалота с антивирусными механизмами растения шалота. Предложена гипотеза, объясняющая факт репродукции X-вируса шалота в отсутствие собственного белка-супрессора РНК-сайленсинга способностью вируса полностью или частично изменять экспрессию генов, кодирующих белки, задействованные в обеспечении антивирусного фитоиммунитета.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что доказан факт репродукции X-вируса шалота (ХВШ) в отсутствие собственного белка-супрессора РНК-сайленсинга. Показана способность вируса воздействовать на экспрессию генов антивирусного иммунитета шалота. Выявлены транскрипты, кодирующие в геноме шалота факторы, принимающие участие в процессах паттерн-активированного иммунитета (Pattern-triggered immunity, PTI), контроля качества РНК (RNA Quality Control, RQC) и аутофагии. Установлен факт репродукции ХВШ в посадках чеснока (*Allium sativum*). До проведения актуального исследования предполагалось, что единственным хозяином ХВШ является шалот (*Allium cepa* var. *aggregatum* G. Don).

Применительно к проблематике диссертации результативно использованы методы: ПЦР в реальном времени, ПЦР по конечной точке, RACE-ПЦР, секвенирования по Сэнгеру, клонирования в плазмидный вектор, методы анализа в агарозном геле и иммуноблотинга вирусных белков, метод получения мышинной антисыворотки, биоинформатические методы сравнения

и анализа нуклеотидных и аминокислотных последовательностей, дизайна праймеров, филогенетического анализа. **Изложены** факты, свидетельствующие о неодинаковом давлении естественного отбора на функциональные модули вирусного РНК-генома X-вируса шалота. **Раскрыты** гипотезы относительно механизмов преодоления X-вирусом шалота антивирусного иммунитета растения-хозяина. **Изучен** генезис процесса взаимодействия X-вируса шалота с факторами фитовирусного иммунитета. **Проведена модернизация** существующих представлений о спектре хозяев X-вируса шалота.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что разработаны системы праймеров для определения уровня представленности транскриптов, кодирующих факторы антивирусного иммунитета шалота – растения-хозяина X-вируса шалота. **Представлены** праймеры для определения последовательности основной части РНК генома X-вируса шалота. **Создана** библиотека плазмид, содержащих вставку с последовательностями, кодирующими белки X-вируса шалота.

Оценка достоверности результатов исследования выявила: для экспериментальных работ результаты имеют высокую воспроизводимость, получены на сертифицированном оборудовании, выполнен анализ большого экспериментального материала; **теория** была построена, основываясь на опубликованных экспериментальных данных по изучению влияния инфекции X-вируса шалота на механизмы иммунной системы растения хозяина; **идея базируется** на обобщении отечественных и зарубежных исследований молекулярных механизмов растительного иммунитета; **использован** сравнительный анализ полученных данных с данными других авторов, занимающихся вирусами рода *Allexivirus*. В обзоре литературы подробно описывается состояние проблемы по теме диссертации и рассмотрены вопросы, связанные с общей характеристикой рода *Allexivirus*, характеристикой X-вируса шалота, РНК-сайленсингом как формой

антивирусного иммунитета; **использованы** современные методики получения и обработки данных результатов; **установлено**, что полученные результаты исследований в значительной степени дополняют информацию о биологии X-вируса шалота и взаимодействии вирусного патогена с механизмами антивирусного растительного иммунитета.

Личный вклад соискателя состоит в непосредственном участии на всех этапах работы, включая планирование эксперимента, применение методов и протоколов, способствующих получению представленных данных, в обсуждении и апробации результатов исследования. Автор самостоятельно анализировал полученные результаты, делал выводы и обобщения, подготавливал публикации.

Диссертация представляет собой законченную научно-квалификационную работу, в которой изложены результаты по исследованию взаимодействия X-вируса шалота (род *Alexivirus*) с факторами антивирусного иммунитета растения-хозяина, а также расширения спектра возможных растений-хозяев X-вируса шалота.

В ходе защиты диссертации были высказаны замечания по превышению регламента доклада.

Соискатель Архипов А.В. ответил на заданные ему в ходе заседания вопросы и привел аргументированные ответы.

Диссертационный совет пришел к выводу о том, что в диссертации:

- соблюдены критерии, установленные Положением о присуждении ученых степеней, утвержденном постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842, которым должна отвечать диссертация на соискание ученой степени;

- отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных соискателем ученой степени работах, в которых изложены основные научные результаты диссертации;

- соискатель ссылается на авторов и источники заимствования материалов.

На заседании 10 октября 2024 г. диссертационный совет принял решение присудить Архипову Андрею Владимировичу ученую степень кандидата биологических наук по специальности 1.5.6 - Биотехнология.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 10 человек, из них 10 докторов наук по специальности 1.5.6 – Биотехнология, участвовавших в заседании, из 11 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за – 8, против – 2, недействительных бюллетеней – нет.

Председатель

диссертационного совета

24.1.016.01 (Д 006.027.01)



П.Н. Харченко

И.о. Ученого секретаря

диссертационного совета

24.1.016.01 (Д 006.027.01)



А.А. Соловьев

10.10.2024 года