

Заключение диссертационного совета

99.0.064.02, созданного на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии» Дальневосточного отделения Российской академии наук, по диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 15 марта 2022 г., №7

О присуждении Огневой Злате Владимировне, российское гражданство, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Влияние сверхэкспрессии стильбен синтаз на устойчивость растений к абиотическим стрессам» по специальности 1.5.6 – Биотехнология принята к защите 6 декабря 2021 г., протокол №2, диссертационным советом 99.0.064.02, созданным на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии» ДВО РАН, 690022, г. Владивосток, пр. 100-тия Владивостока, 159, №1108/нк от 16.11.2017 г.

Соискатель Огнева Злата Владимировна, 29 апреля 1993 года рождения. В 2017 году окончила Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Дальневосточный федеральный университет», в 2021 г. окончила очную аспирантуру Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии» ДВО РАН. Работает ведущим инженером в лаборатории биотехнологии ФГБУН «Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии» ДВО РАН с 2017 г. по настоящее время.

Диссертация выполнена в лаборатории биотехнологии Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии» ДВО РАН.

Научный руководитель – кандидат биологических наук Киселёв Константин Вадимович, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии» ДВО РАН, ведущий научный сотрудник лаборатории биотехнологии.

Официальные оппоненты:

Кулуев Булат Разяпович, доктор биологических наук, Институт биохимии и генетики – обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимский федеральный исследовательский центр РАН, ведущий научный сотрудник лаборатории геномики растений;

Кипрюшина Юлия Олеговна, кандидат биологических наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского» ДВО РАН, научный сотрудник лаборатории клеточных технологий дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация – Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики» СО РАН, г. Новосибирск в своем положительном заключении, подписанном д.б.н., проф., главным научным сотрудником лаб. биоинженерии растений Дейнеко Еленой Викторовной, отметили что «диссертационная работа является законченной научно-исследовательской работой, имеющей научно-практическое значение для решения вопросов в области молекулярной биологии растений и биотехнологии. По актуальности темы, новизне результатов, теоретической и практической значимости результатов диссертационная работа отвечает требованиям п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», а её автор заслуживает присуждения

ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.6 – биотехнология (биологические науки)».

Соискатель имеет 10 опубликованных работ, все работы по теме диссертации, из них в рецензируемых научных изданиях опубликовано 7 статей, общим объемом 33 стр., 3 работы опубликованы в региональных, международных конференций, общим объемом 4 стр.

Наиболее значительные работы:

1. Kiselev K.V., **Ogneva Z.V.**, Suprun A.R. Action of ultraviolet-C radiation and *p*-coumaric acid on stilbene accumulation and expression of stilbene biosynthesis-related genes in the grapevine *Vitis amurensis* Rupr. // Acta Physiol. Plant. — 2019b. — V. 41. — P. 28.

2. **Ogneva Z.V.**, Aleynova O.A., Suprun A.R., Karetin Y.A., Dubrovina A.S., Kiselev K.V. Tolerance of *Arabidopsis thaliana* plants overexpressing grapevine *VaSTS1* or *VaSTS7* genes to cold, heat, drought, salinity, and ultraviolet irradiation // Biol. Plant. — 2021a. — V. 65. — P. 111-117.

3. **Ogneva Z.V.**, Volkonskaia V.V., Dubrovina A.S., Suprun A.R., Aleynova O.A., Kiselev K.V. Exogenous stilbenes improved tolerance of *Arabidopsis thaliana* to a shock of ultraviolet B radiation // Plants. — 2021b. — V. 10. — P.1282.

На автореферат поступило 7 положительных отзывов из следующих организаций: филиал Федерального научного центра биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии ДВО РАН, Горнотаёжная станция им. В.Л. Комарова (д.б.н., проф., руководитель научного направления Зориков П.С.); Института физиологии растений РАН (д.б.н., в.н.с. лаб. зимостойкости Мошков И.Е.); 2 отзыва из Национального научного центра морской биологии им. А.В. Жирмунского ДВО РАН (к.б.н., н.с. лаб. фармакологии Мельникова Д.И.), (к.б.н., с.н.с. лаб. эмбриологии Каретин Ю.А.); Института биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН (к.б.н., н.с. лаб. молекулярных механизмов устойчивости растений к стрессам Масленникова Д.Р., к.б.н., н.с. лаб. биоинженерии растений и микроорганизмов Вершинина З.Р.); Сибирского института физиологии и биохимии растений СО РАН (к.б.н., в.н.с. лаб.

растительно-микробных взаимодействий Еникеев А.Г.); Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН (к.х.н., с.н.с. лаб. нейрорецепторов и нейрорегуляторов Рогожин Е.А.)

Имеются вопросы:

в отзыве д.б.н. Мошкова И.Е., ИФР РАН

«Как объяснить несоответствие уровня стильбенов и устойчивости? Чем объяснить такой большой разброс в накоплении стильбенов?»

в отзыве к.х.н. Рогожина Е.А., ИБХ РАН замечания:

«1. В разделе «Внешняя обработка растений *A. thaliana* растворами предшественников фенольных соединений и стильбенами» (стр. 10) были использованы финальные концентрации, соответственно, транс-ресвератрола, транс-пицеида, а также кофейной и коричной кислот, 1 и 5 мМ. Каким образом, с точки зрения автора, данный подход может быть использован с практической точки зрения, что может потребовать наличия довольно больших количеств данных соединений (в особенности стильбенов), основной способ получения которых является химический синтез.

2. Почему стратегически основной упор в данной работе был сделан на исследование негативного воздействия на растения ультрафиолетового излучения типа «С» (UV-C), которое, без всякого сомнения, является губительным, но при этом имеет крайне ограниченное распространение в экосистеме в целом. Возможно, более логичным был бы выбор в качестве приоритетного именно УФ-излучения типа «В» (UV-B)?!

3. В тексте автореферата нет абсолютно никакого упоминания о наличии цис-формы ресвератрола, которая как раз представляет собой продукт «перехода» транс-формы посредством фотохимической реакции. Каким образом в работе отличали транс-форму от цис-формы в отсутствие соответствующего аналитического стандарта?»

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается компетентностью в соответствующей отрасли науки ученых, имеющих публикации в соответствующей сфере исследования, имеющие научные школы,

способные определить научную и практическую ценность диссертации, давшие своё согласие (пп. 22,24 Положения от 24.09.2013 г., №842).

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

разработана новая научная концепция применения стильбенов и генов стильбен синтаз для увеличения устойчивости растений к неблагоприятному воздействию ультрафиолета;

предложен новый комплексный подход для получения стильбенов растений на основе культур клеток и растений, сверхэкспрессирующих гены стильбен синтаз;

доказана перспективность применения стильбенов в сельском хозяйстве.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

доказана ведущая роль стильбенов в формировании устойчивости растений к вредным воздействиям ультрафиолета;

применительно к проблематике диссертации результативно использованы методы культивирования клеток растений, молекулярно-генетического анализа нуклеиновых кислот, биоинженерии растений, биохимического анализа вторичных метаболитов, методы верификации устойчивости растений к абиотическим стрессовым факторам;

изложены результаты исследований влияния стильбенов и их предшественников на устойчивость растений к абиотическим факторам;

раскрыты особенности работы отдельных представителей семейства генов стильбен синтаз в трансгенных культурах клеток и растениях;

изучена корреляция между экспрессией отдельных генов стильбен синтаз, содержанием стильбенов в растениях и их устойчивостью к воздействию ультрафиолета;

проведена модернизация процесса получения стильбенов в растениях с использованием новых генов стильбен синтаз.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждены тем, что:

разработаны и внедрены технологии получения стильбенов с помощью трансгенной культуры клеток в лабораторных условиях;

определены перспективы использования трансгенных культур клеток в качестве источника стильбенов в биотехнологическом производстве;

создана модель эффективного получения стильбенов растений;

представлены методические рекомендации по выбору генов стильбен синтаз для получения культур клеток и растений с высоким содержанием стильбенов.

Оценка достоверности результатов исследования выявила, что для экспериментальных работ достоверность полученных результатов воспроизводилась в трех биологических повторах на культурах клеток и в десяти на трансгенных растениях. Эксперименты логично спланированы, использованы актуальные методы исследования с привлечением приборной базы общемирового уровня;

теория, представленная соискателем, согласуется с принятой общемировой научной концепцией в данной области и в значительной мере развивает её;

идея базируется на анализе мировой литературы изучения вторичного метаболизма растений и применения растительных метаболитов для повышения устойчивости к неблагоприятному действию абиотических факторов внешней среды;

использован анализ авторских данных и данных, полученных ранее по изучению вторичного метаболизма растений;

Личный вклад соискателя состоит в непосредственном участии на всех этапах процесса исследования. Соискатель принимала участие в выделении РНК, получении кДНК, анализе экспрессии генов с помощью метода ПЦР с детекцией результатов в реальном времени, получении трансгенных культур клеток винограда *Vitis amurensis* и растений *Arabidopsis thaliana*, экстракции вторичных метаболитов, проведении анализа устойчивости полученных растений к абиотическим факторам. Соискатель лично участвовала в

конференциях с целью апробации полученных результатов, написании и обсуждении опубликованных работ.

Диссертационный совет пришел к выводу, что диссертация представляет собой научно-квалификационную работу, которая соответствует критериям, установленным Положением о порядке присуждения ученых степеней, п. 9, утвержденным постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. №842.

В ходе защиты диссертации были высказаны следующие критические замечания:

1. Необходимо чётко придерживаться общепринятых величин, обозначенных в международной системе единиц СИ при описании параметров проведения эксперимента.

2. Роль стильбенов растений в ответе на неблагоприятное действие свободных радикалов, образующихся в ответ на действие ультрафиолета, не является ведущей. Поэтому при проведении эксперимента по воздействию ультрафиолета необходимо учитывать и параметры накопления каротиноидов и антоцианов.

3. При использовании термина «стресс» необходимо чётко формулировать значения количественных показателей, которые могут быть использованы при анализе силы данного воздействия.

Соискатель Огнева З.В. ответила на все вопросы, привела собственную аргументацию в ответах на вопросы дискуссионного характера и согласилась с критическими замечаниями.

На заседании 15 марта 2022 г. диссертационный совет принял решение присудить Огневой З.В. ученую степень кандидата биологических наук за решение научной задачи, имеющей значение для развития соответствующей отрасли знаний.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 15 человек, из них 14 докторов наук по специальности биотехнология,

участвовавших в заседании, из 20 человек, входящих в состав совета, проголосовали: за - 15, против - нет, недействительных бюллетеней - нет.

Председатель
диссертационного совета,
академик РАН



Журавлев Юрий Николаевич

Ученый секретарь
диссертационного совета,

к.б.н.



Тюнин Алексей Петрович

17.03.2022 г.