

УТВЕРЖДАЮ:



И.о. проректора по научной и  
исследовательской деятельности  
доктор химических наук

А.В. Метелица

« 20 декабря » 2018 г.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

федерального государственного автономного образовательного  
учреждения высшего образования "Южный федеральный университет"

Диссертация «Изменчивость хлоропластного и митохондриального геномов у однолетних и многолетних видов подсолнечника (*Helianthus L.*)» выполнена в лаборатории "Молекулярной генетики" федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования "Южный федеральный университет".

В период подготовки диссертации соискатель Макаренко Максим Станиславович работал в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования "Южный федеральный университет", в лаборатории "Молекулярной генетики", в должности младшего научного сотрудника.

В 2011 г. окончил бакалавриат федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего профессионального образования "Южный федеральный университет" по направлению "Биология".

В 2013 г. окончил с отличием магистратуру федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего профессионального образования "Южный федеральный университет" по направлению "Биология".

В 2017 г. окончил аспирантуру очной формы обучения федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования "Южный федеральный университет" по специальности 03.02.07 – генетика (биологические науки).

Справка об обучении (о периоде обучения) о сдаче кандидатских экзаменов выдана в 2018 г. федеральным государственным автономным образовательным учреждением высшего образования "Южный федеральный университет".

Научный руководитель: Усатов Александр Вячеславович, федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования "Южный федеральный университет", Академия биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского, кафедра генетики, доктор биологических наук, профессор.

По итогам обсуждения принято следующее заключение:

**Оценка выполненной соискателем работы.** Целью диссертационной работы - определение уровня изменчивости хлДНК и мтДНК у однолетних и многолетних видов подсолнечника (*Helianthus* L) и изучение особенностей структурно-функциональной организации хлоропластных и митохондриальных геномов у фертильной линии НА89 и ее ЦМС аналогов на основе однолетних (PET1, PET2 - *H. petiolaris*, ANN2 - *H. annuus*) и многолетнего (MAX1 - *H. maximilliani*) видов рода *Helianthus* L. – была достигнута, поставленные задачи решены.

В ходе диссертационного исследования был изучен полиморфизм хлоропластных (*atpB*, *matK* и *rbcL*) и митохондриальных (*atp1*, *matR*, *nad5*) генов у образцов 5 однолетних и 16 многолетних видов рода *Helianthus* L. Выявлены специфичные SNP: у *H. strumosus* в генах *rbcL* и *matR*, у *H. ciliaris* в генах *atpB* и *matR*. Получены и проанализированы полные нуклеотидные последовательности хлоропластной (хлДНК) и митохондриальной (мтДНК) линий НА89 и 3629 культурного и линии 398941 дикорастущего подсолнечника (*H. annuus*). Проведен сравнительный анализ хлоропластных

геномов фертильной линии HA89 и ее стерильных аналогов HA89(PET1), HA89(PET2), HA89(ANN2), HA89(MAX1). В мтДНК ЦМС линии HA89(PET1) локализованы следующие мутации: инверсия (11852 п.н.), инсерция (4732 п.н.), делеция (451 п.н.), 8 SSR, 7 SNP и 2 INDEL. Установлено, что изменения структуры мтДНК HA89(PET1) привели к возникновению 2-х открытых рамок считывания *orf306* и *orfH522*. В мтДНК ЦМС линии HA89(PET2) локализованы следующие мутации: 2 транспозиции (27,5 и 106,5 т.п.н.), 2 делеции (711 и 3780 п.н.), 2 инсерции (5050 и 15885 п.н.), 14 SSR, 55 SNP и 13 INDEL. Установлено, что изменения структуры мтДНК привели к делеции гена *orf777*, дупликации гена *atp6* и возникновению 4-х открытых рамок считывания: *orf228*, *orf285*, *orf645*, *orf2565*. В мтДНК ЦМС линии HA89(MAX1) локализованы следующие мутации: транспозиция (110 т.п.н.), 4 делеции (439, 978, 3183 и 14296 п.н.), 3 инсерции (1999, 5272 и 6583 п.н.), 18 SSR, 230 SNP и 29 INDEL. Установлено, что изменения структуры мтДНК привели к делеции гена *orf777* и возникновению 4-х открытых рамок считывания *orf306*, *orf480*, *orf645*, *orf1287*. В мтДНК ЦМС линии HA89(ANN2) локализованы следующие мутации: 12 транспозиций (557, 1245, 4150, 6029, 8158, 8584, 12520, 21433, 24687, 41505, 41702 и 77441 п.н.), 9 делеций (287, 290, 299, 316, 583, 1165, 4204, 4575 и 11901 п.н.), 7 инсерций (430, 1027, 1310, 3757, 5338, 6452 и 9045 п.н.), 17 SSR, 288 SNP и 35 INDEL. Установлено, что изменения структуры мтДНК привели к делеции генов *orf777*, *atp6*, *nad6* и возникновению 7-ми открытых рамок считывания: *orf324*, *orf327*, *orf345*, *orf558*, *orf891*, *orf933*, *orf1197*.

**Личное участие соискателя в получении результатов, изложенных в диссертации.** Отбор проб, лабораторные и аналитические исследования проведены лично автором, при его участии или под его руководством и при совместной деятельности с коллегами в период с 2013 по 2018 гг.

**Степень достоверности результатов проведенных исследований, их новизна и практическая значимость.** Обоснованность и достоверность

полученных результатов, сделанных выводов и рекомендаций, подтверждается значительным объемом экспериментальных данных. Полученные данные базируются на молекулярно-генетических методах и согласуются с имеющимися литературными данными, обработка данных была проведена актуальными методами анализа.

Полученные данные о полиморфизме хлоропластных и митохондриальных генов у представителей рода *Helianthus* L. вносят вклад в решение проблемы микроэволюции данного таксона. Полиморфные сайты хлДНК и мтДНК, локализованные у культурного и дикорастущего подсолнечника *H. annuus* L., являются информативными мишенями для генотипирования селекционных линий и образцов. Данные об уровне мутационной изменчивости внеядерных геномов ЦМС линий подсолнечника вносят вклад в решение фундаментальной проблемы взаимодействия ядерных и цитоплазматических генетических систем растительной клетки, а также в изучение механизмов возникновения ЦМС у цветковых растений. Дальнейший перевод лучших селекционных линий на новые типы ЦМС позволит избежать в будущем рисков, связанных с унификацией цитоплазмона у гибридов подсолнечника.

Аннотированные полногеномные последовательности мтДНК ЦМС линий НА89(РЕТ1), НА89(РЕТ2), НА89(МАХ1) депонированы в международную базу данных NCBI GenBank под номерами MG735191.1, MG770607.2, MH704580.1.

Результаты диссертационной работы включены в учебные курсы для студентов, специализирующихся на кафедре генетики Южного федерального университета.

**Ценность научных работ соискателя.** По теме исследования опубликовано 17 работ, среди которых 5 в изданиях, индексируемых в базах данных Web of Science и Scopus.

**Специальность, которой соответствует диссертация.** Диссертация «Изменчивость хлоропластного и митохондриального геномов у однолетних

и многолетних видов подсолнечника (*Helianthus L.*)» Макаренко Максима Станиславовича является завершенной научно-исследовательской работой и соответствует специальности: 03.02.07 – генетика (биологические науки).

**Полнота изложения материалов диссертации в работах, опубликованных соискателем.** Все основные положения диссертации изложены в 17 научных работах.

Диссертация «Изменчивость хлоропластного и митохондриального геномов у однолетних и многолетних видов подсолнечника (*Helianthus L.*)» Макаренко Максима Станиславовича рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности: 03.02.07 – генетика (биологические науки).

Заключение принято на совместном заседании лаборатории "Молекулярной генетики" и кафедры генетики Академии биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского Южного федерального университета.

Присутствовало на заседании 13 человек. Результаты голосования: «за» - 13 чел., «против» - нет, «воздержалось» - нет, протокол № 12 от 26.11.2018 г.

Шкурат Татьяна Павловна,  
доктор биологических наук, профессор,  
заведующий кафедрой генетики, председатель заседания  
e-mail: tshkurat@yandex.ru; телефон +7(863) 297-50-70.

Академия биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Южный федеральный университет».

Адрес – 344090, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки 194/1.