

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

о диссертации Макаренко Максима Станиславовича «ИЗМЕНЧИВОСТЬ ХЛОРОПЛАСТНОГО И МИТОХОНДРИАЛЬНОГО ГЕНОМОВ У ОДНОЛЕТНИХ И МНОГОЛЕТНИХ ВИДОВ ПОДСОЛНЕЧНИКА»,

представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности

03.02.07 – «Генетика».

Актуальность избранной темы. Представители царства растений иллюстрируют своим примером успешность стратегии симбиоза, поскольку клетки современных растений являются результатом объединения трех различных предковых организмов в единую систему. Свидетельством тому является наличие в клетках растений трех геномов - ядерного, митохондриального и хлоропластного, некогда независимых друг от друга, а теперь неразделимых. Несмотря на ведущую роль ядерного генома, остальные геномы растительной клетки являются абсолютно необходимыми для функционирования организма в целом. Так, мутации в митохондриальном геноме у растений могут приводить к возникновению цитоплазматической мужской стерильности (ЦМС). Представленная диссертация посвящена анализу разнообразия неядерных геномов представителей рода *Helianthus* L., которое до проведения настоящего исследования было изучено лишь фрагментарно. Поскольку ЦМС растений представляет собой не только прекрасную модель для изучения взаимодействия ядерных и цитоплазматических генетических систем клетки, но и эффективную систему для производства гибридных гетерозисных семян, тема рассматриваемой диссертационной работы Макаренко М.С., несомненно, представляется актуальной и значимой.

Научная новизна и практическая значимость работы. В работе Макаренко М.С. был впервые определен уровень полиморфизма серии хлоропластных и митохондриальных генов у образцов однолетних и многолетних видов рода *Helianthus* L. из коллекции ВИР. Впервые проведено полногеномное секвенирование, сборка, аннотация и сравнительный анализ хлоропластных и митохондриальных геномов культурной и дикорастущей форм *H. annuus* L. и определены специфичные реорганизации митохондриальных геномов у линий с различными типами ЦМС (PET1, PET2, MAX1, ANN2). Полученные данные вносят вклад в решение проблем

микроэволюции рода *Helianthus* L. и молекулярных механизмов, лежащих в основе ЦМС. Накопленная информация о полиморфных сайтах в пределах неядерных геномов может быть востребована при генотипировании селекционных линий и образцов, что особенно актуально в связи с необходимостью перевода селекционных линий подсолнечника на новые типы ЦМС (включая типы, охарактеризованные автором в работе).

Вопросы и замечания. У официального оппонента возникло несколько вопросов и замечаний:

1) стр. 16, 30 и далее: - под «открытой рамкой считывания» понимается ORF, предсказанная на основании компьютерного анализа, или ORF с подтвержденной экспрессией? Например, на стр. 82 описана предсказанная *orf306* - означает ли это, что она транскрибируется?

2) стр. 38 (методика выделения ДНК) - две формулировки «супернатант аккуратно декантировали» и «не задевая осадок, удаляли супернатант» обозначают одно и то же действие или различные? Там же, на стр. 38 - неясно, использовали 8 000 g или оборотов/мин?

3) Библиотеки для секвенирования готовил непосредственно диссертант? Где секвенировали, и зачем на разных платформах? Биоинформатический анализ проводился непосредственно диссертантом?

4) Какое количество прочтений (в среднем, в процентах от общего числа) сложились в хлоропластную ДНК, и какое - в митохондриальную? Какое покрытие хлоропластных и митохондриальных геномов в итоге получилось (в среднем)?

5) Не пробовали ли использовать доступные последовательности из NCBI как референс при сборке геномов своих образцов?

6) Наблюдали ли полиморфизм внутри конкретного образца? Если да, учитывали ли как-то эти факты?

Замечания:

1) стр. 19 - неясно, для чего приведена информация о неядерных геномах представителей сем. *Cucurbitaceae*

2) стр. 77 - диссертантом показана возможность создания тест-систем для идентификации различных типов ЦМС. Ценность работы возросла бы, если бы такие маркеры были созданы, апробированы и запатентованы.

3) Для оценки нуклеотидного разнообразия генов в неядерных геномах можно было бы использовать программу DNAsp и оценить параметр

nucleotide diversity (P_i). Тогда можно было бы более точно обосновать положение 2, выносимое на защиту.

Также в ходе прочтения диссертации у оппонента возникли два вопроса, ответы на которые были найдены в статьях по теме диссертации:

1) учитывая упомянутую на стр. 21 гетерогенность изоформ молекул мтДНК, получили ли вы в работе такие варианты (кроме master chromosome)?

2) сборки автоматически сложились в кольцо (в один контиг), или пришлось осуществить дополнительные действия?

Оценка достоверности и новизны исследования, полученных результатов и выводов. В целом, диссертационное исследование Макаренко М.С. представляет собой завершённую работу, выполненную на современном методическом уровне. Достоверность полученных результатов и адекватность использованных методов не вызывает сомнений; подтверждением тому также служат статьи, опубликованные в международных журналах, представляющие материалы, изложенные в диссертации. К достоинствам работы следует отнести также грамотную подачу материала и структурированность изложения. Из недостатков следует отметить лишь тот факт, что выводы излишне развернуты и включают в себя описание проделанной работы, а не только «сухой остаток», как принято в этом случае.

Полученные в работе результаты - идентифицированная природа перестроек в митохондриальной ДНК, приводящих к различным типам ЦМС у подсолнечника, - являются ценным вкладом в современную генетику, а также создают основу для направленной селекции сортов подсолнечника с новыми типами ЦМС. Кроме того, работа иллюстрирует необходимость и целесообразность использования методов высокопроизводительного секвенирования в современных генетических исследованиях (два типа ЦМС - две высокорейтинговые статьи, а в диссертации есть еще материал, достойный опубликования). Таким образом, несомненно, что диссертационная работа Макаренко М.С., выполненная на мировом уровне, носит законченный характер и является целостным исследованием, интересным и ценным для научного сообщества.

Структура диссертации. Диссертация состоит из введения, трёх глав, заключения, выводов, списка сокращений, списка цитируемой литературы и трёх приложений. Полный объём диссертации составляет 164 страницы,

включая приложения на 30 страницах, с 18 рисунками и 30 таблицами. Список литературы содержит 132 наименования.

Соответствие диссертационной работы критериям "Положения о присуждении ученых степеней". Диссертационная работа Макаренко М.С. «Изменчивость хлоропластного и митохондриального геномов у однолетних и многолетних видов подсолнечника» соответствует критериям, установленным в «Положении о присуждении учёных степеней», утверждённом Правительством РФ от 24 сентября 2013 года № 842), предъявляемым к диссертациям на соискание учёной степени кандидата наук, а её автор Макаренко М.С. заслуживает присуждения учёной степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – «Генетика».

Жуков Владимир Александрович

кандидат биологических наук, без звания

ведущий научный сотрудник, и.о. заведующего лабораторией генетики растительно-микробных взаимодействий Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии» (ФГБНУ ВНИИСХМ)

Санкт-Петербург, Пушкин, ш. Подбельского, 3. 196608.

тел. +7 (812) 470-51-83

адрес электронной почты: VZhukov@ARRIAM.ru,
vladimir.zhukoff@gmail.com



11.03.19.

Подпись ведущего научного сотрудника, и.о. заведующего лабораторией генетики растительно-микробных взаимодействий ФГБНУ ВНИИСХМ Жукова Владимира Александровича удостоверяю.

Начальник отдела кадров
ФГБНУ ВНИИСХМ



Ковалевская М.А.