

**Отзыв официального оппонента Матвеевой Татьяны Валерьевны  
на диссертацию Макаренко Максима Станиславовича  
на тему «Изменчивость хлоропластного и митохондриального  
геномов у однолетних и многолетних видов подсолнечника  
(*Helianthus L.*)»,**

**представленную на соискание степени  
кандидата биологических наук по специальности  
03.02.07. – Генетика**

**Актуальность избранной темы**

Развитие и активное внедрение методов секвенирования нового поколения открывает новые возможности для изучения структуры и функционирования растительных геномов. Базы данных постоянно пополняются информацией о новых отсеквенированных геномах растений. В их число вошли основные стратегические сельскохозяйственные культуры. В настоящее время наметилась тенденция сравнительного анализа геномов, первые попытки привязать выявленные отличия к возможным функциональным изменениям в работе генов. Представленная работа посвящена сравнительному анализу геномов органелл (хлоропластов и митохондрий) у нескольких генотипов *H. annuus L.*, а также анализу полиморфизма трех хлоропластных и трех митохондриальных молекулярных маркеров у 5 однолетних и 16 многолетних видов подсолнечника. Безусловно, данные исследования актуальны, поскольку изучение изменчивости геномов органелл подсолнечника важно с точки зрения филогенетических исследований, изучения наследования цитоплазматических детерминат, исследования механизмов возникновения цитоплазматической мужской стерильности (важного инструмента в селекции).

**Научная новизна**

В представленном исследовании впервые проведено полногеномное секвенирование, сборка, аннотация и сравнительный анализ хлоропластных и митохондриальных геномов у форм на основе линии НА и 3629 культурного и линии 398941 дикорастущего подсолнечника *H. annuus L.*, детально описаны специфичные реорганизации митохондриальных геномов у ЦМС линий НА89(РЕТ1), НА89(РЕТ2), НА89(МАХ1), НА89(АНН2), оценен

уровень полиморфизма хлоропластных (*atpB*, *matK*, *rbcL*) и митохондриальных (*atp1*, *matR*, *nad4*) генов у 5 однолетних и 16 многолетних видов рода *Helianthus* L. из коллекции ВИР.

### **Значимость работы**

Полученные результаты о полиморфизме хлоропластных и митохондриальных генов 21 вида подсолнечника вносят вклад в изучение проблемы филогении рода *Helianthus* L. Полиморфные сайты хлДНК и мтДНК, выявленные у исследованных генотипов подсолнечника *H. annuus* L. в результате анализа полных нуклеотидных последовательностей внеядерных геномов, являются основой для разработки новых молекулярных маркеров для генотипирования данной культуры.

Полученные данные важны для изучения механизмов возникновения ЦМС у подсолнечника, что очень важно для получения гибридов в селекции данной культуры.

Аннотированные полногеномные последовательности мтДНК ЦМС линий НА89(РЕТ1), НА89(РЕТ2), НА89(МАХ1) депонированы в международную базу данных NCBI GenBank. Они могут быть использованы исследователями по всему миру.

### **Основное содержание**

Диссертационная работа изложена на 164 страницах и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, результатов и обсуждений, выводов, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы, включающего 132 источника, и приложений. Работа, содержит 17 рисунков и 30 таблиц.

В обзоре литературы М.С. Макаренко знакомит читателей с особенностями систематики подсолнечника, а также описывает структурно-функциональную организацию хлоропластной и митохондриальной ДНК. Обзор литературы выглядит логичным, легко читается. Текст сопровождается рисунками, облегчающими его восприятие. К данному разделу имеются небольшие замечания.

1. На стр. 13 автор пишет «на сегодняшний день в банке данных NCBI находится информация о полных нуклеотидных последовательностях более 1000 видов цветковых растений». Что автор имеет в виду? Вероятно, геномы органелл, а не полные

нуклеотидные последовательности. Кроме того, при подаче данных в таком формате имеет смысл указать дату обращения к ресурсу. (Например, к 1 января 2019 года в базе данных имеется....)

2. На стр. 16 не совсем удачно использован термин «гены биосинтеза». В разделе «Материалы и методы» автор подробно описывает материал и все использованные методические подходы. На мой взгляд, описание методов даже избыточно. Если автор ссылается на известный коммерческий набор для выделения ДНК или получения библиотек, то нет необходимости подробно переписывать протокол, прилагаемый к набору.

Раздел «Результаты и обсуждение» содержит подробное описание полученных автором результатов по молекулярному маркированию 21 генотипа подсолнечника, а также секвенированию, сборке и анализу геномов органелл линий на основе НА89. Этот раздел содержит большой объем фактического материала, который требует осмысления. Данные секвенирования геномов обладают ценностью сами по себе. К ним еще многократно будет обращаться и сам автор работы и его коллеги и мировая научная общественность.

Одним из самых интересных моментов обсуждения результатов является подробное описание полиморфизмов, которые могут быть причиной ЦМС различных типов. Автор делает важное обобщение о роли перестроек ДНК, сопровождающихся появлением химерных генов, содержащих участки *atr6* и *atr9*, в возникновении ЦМС различных типов.

Однако, в плане изложения, раздел «Результаты и обсуждение» сильно проигрывает остальным частям диссертации. Мне осталась не совсем понятна логика исследования. Более логичным видится в начале оценить уровень полиморфизма геномов органелл, выбрать наиболее вариабельные участки и использовать полученные на их основе маркеры для характеристики большого количества генотипов. В данной работе порядок был обратным. Кроме того, из литературных источников известно, что хлоропластный геном растений характеризуется большей изменчивостью, чем митохондриальный. Именно с этим связано более активное использование хлоропластных маркеров в филогенетических исследованиях. Таким образом, выводы, сделанные автором о более высоком уровне изменчивости хлоропластной ДНК по сравнению с ДНК митохондрий у 21 генотипа подсолнечника в некоторой степени повторяют ранее известные факты.

Результаты данных геномного секвенирования сводятся, главным образом, к перечислению полиморфизмов в виде обширных таблиц и в самом

тексте работы. Таблицы, безусловно, содержат важную информацию, но в таком виде, как они даны в работе, не воспринимаются. В основной части диссертации нужно приводить таблицы, которые суммируют данные и выглядят компактно (как это сделано в автореферате). Развернутым таблицам место в приложении. Последовательностям из аминокислот тоже место в приложении, а не в тексте диссертации, тем более, что иногда автор приводит саму последовательность и ничего больше не пишет о ней (см. стр 82).

Раздел «Результаты и обсуждение» украсили бы схемы перестроек, затрагивающих те участки геномов, которые приводят по мнению автора к фенотипическим проявлениям. На этих схемах можно было бы указать расположение праймеров, при помощи которых изучали экспрессию генов.

Тем не менее, сделанные замечания не отменяют огромной ценности полученных результатов, а служат рекомендациями на будущее.

### **Заключение**

Представленное исследование выполнено на высоком научно-методическом уровне и **соответствует мировым стандартам** в области геномных исследований. Работа имеет огромное значение для фундаментальной и прикладной науки. Автором собран обширный материал по изменчивости ДНК органелл подсолнечника, который будет еще неоднократно использован в различных областях генетики и селекции. **Обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации не вызывает сомнений.** Основные результаты работы представлены в виде научных статей в престижных журналах списка ВАК, баз данных, доложены на многочисленных всероссийских и международных конференциях. Содержание автореферата отражает содержание диссертационной работы.

Диссертационная работа Макаренко Максима Станиславовича на тему «Изменчивость хлоропластного и митохондриального геномов у однолетних и многолетних видов подсолнечника (*Helianthus L.*)», соответствует критериям пп. 9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842 (ред. от 01.10.2018) , и представляет собой

завершенную научно-квалификационную работу, а её автор Макаренко Максим Станиславович заслуживает присуждения ученой степени кандидата наук по специальности 03.02.07. – Генетика

Профессор кафедры генетики и  
биотехнологии биологического факультета  
Санкт-Петербургского  
государственного университета  
199034 Санкт-Петербург,  
Университетская наб., 7/9,  
+ 7 (812) 36 36 105, radishlet@gmail.com

д.б.н. Татьяна Валерьевна Матвеева

ЛИЧНУЮ ПОДПИСЬ

*Матвеевой Т.В.*

ЗАВЕРЯЮ

