



ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО НАУЧНЫХ ОРГАНИЗАЦИЙ
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта
Российской академии наук
(ИМБ РАН)

119991, ГСП, -1, г. Москва В-334, ул. Вавилова, 32. Для телеграмм: Москва В-334, ИМБ РАН.; л/с 06319001290 в ОФК по ЮЗАО г. Москвы, т.сч. 40503810300001009007, в Отделении №1 Московского ГТУ Банка России г. Москва 705, БИК 044583001, ИНН. БАНКА 7724189956 ОКПО – 02699501, ОКОНХ - 95110 тел. 135-23-11. 135-11-60; факс 135-14-05

29.09.2017 № 12312 - 2171

На № _____

«УТВЕРЖДАЮ»

Заместитель директора,
член-корреспондент РАН
В.Л. Карпов

«22» сентября 2017г.



ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ*

на диссертационную работу ФИЛЮШИНА Михаила Александровича
«Анализ полиморфизма генома чеснока *Allium sativum* и родственных видов
секции *Allium*», представленной на соискание ученой степени кандидата
биологических наук по специальности 03.02.07 – генетика

Актуальность темы диссертационной работы

Исследование генетического разнообразия культивируемых и дикорастущих растений является одним из приоритетных направлений современной генетики растений. Оценка уровней полиморфизма как генома в целом, так и отдельных генов, в том числе определяющих устойчивость к абиотическим стрессам и фитопатогенам и другие хозяйственно-ценные признаки, представляет несомненный научный и практический интерес. Род *Allium* L. (сем. Amaryllidaceae) является одним из крупнейших родов однодольных растений и включает более 800 видов. По объему производства наиболее экономически значимыми представителями рода являются лук репчатый *A. cepa*, чеснок *A. sativum* и лук-порей *A. porrum*. Несмотря на высокую значимость чеснока *A. sativum*, его геном исследован недостаточно; остается

открытым вопросом о происхождении данного вида, не определено его положение в секции *Allium*. В свою очередь, секция *Allium* является самой многочисленной в роде *Allium* и, по сравнению с другими секциями этого рода, остается по сей день слабоизученной. Ее исследование осложняется аллополиплоидным происхождением ряда видов секции, а многие виды являются редкими и эндемичными.

Таким образом, проведенное Филюшиным М.А. исследование, посвященное изучению полиморфизма генома чеснока *Allium sativum* и родственных видов секции *Allium* решает ряд актуальных научных задач и имеет прикладное значение для селекции чеснока.

Структура и содержание работы

Диссертационная работа Филюшина М.А. построена по традиционному плану и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, результатов и обсуждения, а также заключения, выводов и списка цитируемой литературы. Работа изложена на 141 странице машинописного текста, содержит 12 таблиц и 41 рисунок. Список цитируемой литературы включает 231 источник.

В разделе «**Введение**» обосновывается актуальность работы, кратко рассматривается разработанность темы исследования, указывается научная новизна, теоретическая и практическая значимость, кратко описаны методология и методы исследования.

В разделе «**Обзор литературы**» проведен тщательный анализ литературы, изложена систематика, таксономическое строение и ботаническая характеристика как всего рода *Allium*, так и объекта исследования – чеснока *Allium sativum*. Отдельная подглава посвящена геному растений и молекулярным методам его исследования. Кратко описаны используемые в данной работе методы анализа генома, такие как AFLP и NBS-профайлинг, анализ отдельных участков ядерного и цитоплазматических геномов, приводятся сведения о работах, выполненных с помощью рассматриваемых методов. В подглаве 1.3.2 приведены сведения о молекулярно-генетических исследованиях генома видов рода *Allium* и имеющиеся на сегодняшний день данные о структуре генома чеснока *Allium sativum*, подробно описываются работы по секвенированию транскриптома данного вида и полученные

результаты. Приводится аналитический обзор проведенных ранее исследований методами мульти- и монолокусного анализов генома чеснока.

Обзор литературы в полной мере предоставляет необходимую информацию для понимания диссертационной работы. В целом раздел «Обзор литературы» свидетельствует о широте кругозора и хороших знаниях диссертантом объекта исследования.

В главе «**Материалы и методы**» приводятся сведения о сформированной коллекции образцов рода *Allium* и видов других родов порядка Asparagales, включающей суммарно 158 образцов; для каждого образца отмечено какими методами он изучался. Созданный набор образцов включал 80 генотипов чеснока *Allium sativum* различного эколого-географического происхождения из коллекции Всероссийского института генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР). Выделение ДНК и РНК из растительных тканей, амплификация последовательностей и клонирование проводились по стандартным методикам, поэтому подробно не описываются. Используемые в работе методы анализа генома описаны достаточно кратко, но емко, что позволяет воспроизвести их. Применяемые методы адекватны поставленным задачам исследования. Работа проведена на современном методическом уровне с использованием передовых методов анализа генома.

В главе «**Результаты и обсуждение**» достаточно подробно описаны полученные соискателем результаты, которые сопоставляются с имеющимися на сегодняшний день данными по объекту исследования. Проведенное методами AFLP и NBS-профайлинга исследование геномного полиморфизма 80 образцов чеснока *A. sativum* из 20 стран выявило достаточно высокий уровень внутривидового геномного полиморфизма, несмотря на то, что данный вид размножается только вегетативно. Автором впервые определена и аннотирована полная последовательность пластидного генома *A. sativum*, проведен его сравнительный анализ с известным пластомом *A. cepa*. Проведенное исследование методами мультилокусного и монолокусного анализа геномного полиморфизма видов секции *Allium*, которая ранее не подвергалась комплексному молекулярному анализу, позволило определить положение и таксономический статус ряда образцов. Показано, что аллополиплоидные виды т.н. «*Allium ampeloprasum complex*» имеют, скорее всего,

общего предка-донора пластидного генома. Впервые у видов рода *Allium* идентифицированы и охарактеризованы гены холодового шока, определены паттерны экспрессии этих генов в вегетативных органах чеснока и показано, что под действием холодового стресса увеличивается уровень экспрессии только в видоизмененном стебле (донце).

В разделе «**Заключение**» кратко суммируются полученные соискателем результаты и подчеркивается их значимость в контексте современного состояния проблемы.

Выводы, сделанные соискателем, хорошо аргументированы и соответствуют поставленным в работе задачам.

В целом, диссертационная работа Филюшина М.А. является законченным научным исследованием и отличается новизной и актуальностью. Работа выполнена на высоком экспериментально-методическом уровне и представляет ценность как для специалистов в области генетики и молекулярной биологии, так и для возможного применения полученных результатов в таксономических и филогенетических исследованиях, а также в селекционной работе для создания новых сортов чеснока. Приведенные в работе научные положения, выводы и рекомендации аргументированы, основаны на фундаментальных научных положениях, общепринятых теоретических закономерностях, опираются на экспериментальные данные и являются их логическим следствием.

Отмечая достоинства диссертационной работы, ее практическую значимость и научную новизну, следует высказать некоторые **замечания**:

Замечания к главе «Материалы и методы»:

1. Не приведены последовательности праймеров, использованных для амплификации участков ядерного, хлоропластного и митохондриального геномов, а также праймеры для амплификации протяженных перекрывающихся фрагментов пластидного генома.

Замечания к главе «Результаты и обсуждение»:

1. Для AFLP- и NBS-анализа чеснока *Allium sativum* использовано 80 образцов различного географического происхождения, а для AFLP- и NBS-анализа лука-порея *Allium porrum* – всего 16 образцов (сортов), при этом все они выведены в одном институте.

2. В тексте и в подписи к некоторым дендрограммам не указаны модели, с помощью которых они были построены (рис. 3.36).

4. В тексте не приведено детального описания эксперимента по холодовому шоку, непонятно, как и где выращивались растения чеснока, использовались органы от одного растения или от разных?

5. Для оценки уровня экспрессии генов методом количественной ПЦР рекомендуется использовать как минимум два контрольных гена. В работе использован один.

6. Не приведены данные о статистической значимости наблюдаемых изменений экспрессии генов *AsCSP1*, *AsCSP2* и *AsCSP3* при холодовом шоке.

Приведенные замечания, однако, не касаются основных результатов диссертационной работы, определяющих ее новизну и научную значимость, и поэтому не снижают общей положительной оценки работы.

Новизна исследования и полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Впервые исследован полиморфизм селективно-нейтральных и адаптивно-значимых участков генома у 80 образцов *A. sativum* из коллекции ВИР различного эколого-географического происхождения, представляющих современный культигенный ареал чеснока, а также центр происхождения данного вида. Впервые проведен анализ геномного полиморфизма методом AFLP и анализ вариабельности восьми некодирующих участков ядерного, хлоропластного и митохондриального геномов у представителей секции *Allium*, что позволило определить филогенетические отношения внутри секции, а для ряда образцов уточнить их таксономический статус. Впервые определена полная нуклеотидная последовательность пластидного генома чеснока *A. sativum* и проведен сравнительный анализ с пластомом *A. cepa*. Впервые для видов *Allium* идентифицированы и описаны гены, кодирующие белки холодового шока и определены паттерны их экспрессии при нормальных температурных условиях и при холодовом стрессе. Показано существование у растений белков холодового шока с восемью цинковыми пальцами. Практическая значимость работы заключается в том, что идентифицированные среди анализируемых образцов *A. sativum* генотипы, отличающиеся по спектрам AFLP-фрагментов и пулу генов

устойчивости, могут быть вовлечены в селекционный процесс для создания новых сортов чеснока и расширения его генетической базы.

Значимость для науки и производства (практики) полученных автором диссертации результатов

Полученные соискателем в диссертационной работе результаты найдут применение в таксономических и филогенетических исследованиях рода *Allium*. Данные о полиморфизме генома чеснока могут быть использованы в селекционной работе: ряд идентифицированных генотипов *A. sativum*, отличающихся по спектрам AFLP-фрагментов и пулу генов устойчивости, может стать исходным материалом для создания новых сортов чеснока.

Обоснованность и достоверность научных положений, выводов и заключений

Исследование Филюшина М.А. проведено на высоком научно-методическом уровне, с применением современных методов анализа генома. Статистическая обработка данных проведена с использованием современных программ. Научные положения и выводы согласуются с литературными данными.

Соответствие автореферата основным положениям диссертации

Автореферат полностью соответствует содержанию диссертации.

Подтверждение основных результатов диссертации в научной печати

Все основные положения диссертации нашли отражение в публикациях автора, в том числе в 4 научных статьях в рецензируемых научных журналах, а также в докладах на научных конференциях.

Заключение о соответствии диссертации критериям, установленным

Положением о порядке присуждения ученых степеней

По уровню научной значимости полученных результатов, по их новизне и оригинальности диссертационная работа Филюшина Михаила Александровича «Анализ полиморфизма генома чеснока *Allium sativum* и родственных видов секции *Allium*» полностью соответствует требованиям «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. №842 (в редакции с изменениями, утвержденными Постановлением Правительства РФ от 21 апреля 2016 г. №335), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, а ее автор М.А. Филюшин

заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – генетика.

Отзыв обсужден и утвержден на семинаре Лаборатории постгеномных исследований Института молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук (ИМБ РАН), протокол № 9 от «18» сентября 2017 г.

Старший научный сотрудник
Лаборатории постгеномных исследований
Федерального государственного бюджетного
учреждения науки Институт молекулярной
биологии им. В.А. Энгельгардта Российской
академии наук (ИМБ РАН), кандидат
биологических наук


Мельникова Н.В.

Подпись Мельниковой Н.В. удостоверяю
Ученый секретарь ИМБ РАН
кандидат ветеринарных наук



Бочаров А.А.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук (ИМБ РАН)

Адрес: ГСП-1, 119991, г. Москва, ул. Вавилова, д. 32.

Телефон: 8(499)135-23-11, 8(499)135-11-60

Факс: 8 (499) 135-14-05

e-mail: isinfo@eimb.ru