**МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**Федеральное государственное бюджетное учреждение науки**
**Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова**
**Российской академии наук**
**(ИОГен РАН)**

ул. Губкина, д. 3, г. Москва, ГСП-1, 119991
Тел.: (499) 135-62-13, (499) 135-20-41
Факс: (499) 132-89-62
E-mail: iogen@vigg.ru
http: www.vigg.ru

03.02.2026 № 92-02-13/45

На №_____

УТВЕРЖДАЮ
Директор ИОГен РАН,
д.б.н.
_____А.В. Мисюрин
«03» февраля 2026 г.

# ОТЗЫВ

**ведущей организации о научно-практической значимости диссертации**

**Антонец Марии Евгеньевны**

на тему **«Идентификация и сравнительный анализ генетических последовательностей вирусов на основе геномных и транскриптомных данных колорадского жука (Leptinotarsa decemlineata)»**

на соискание ученой степени **кандидата биологических наук**

по специальности: 1.5.8. – математическая биология, биоинформатика (биологические науки)

## 1. Актуальность избранной темы.

Тема диссертации является актуальной и соответствует приоритетным направлениям развития научно-технологического развития страны (см Указа Президента Российской Федерации «Об утверждении приоритетных направлений научно-технологического развития и перечня важнейших наукоемких технологий» № 529, от 18 июня 2024 г.), а именно: Приоритетное направление п.3: «Высокопродуктивное и устойчивое к изменениям природной среды сельское

хозяйство», Критическая технология п.10: «Технологии создания биологических и химических средств для повышения урожайности сельскохозяйственных культур и их защиты от болезней и вредных организмов (природного или искусственного происхождения).

Колорадский жук (Leptinotarsa decemlineata) – один из наиболее и экономически значимых вредителей сельского хозяйства в мировом масштабе, демонстрирующий стремительную эволюцию устойчивости к инсектицидам. Изучение его вирома (совокупности вирусов) открывает перспективы для разработки экологически безопасных методов биоконтроля на основе энтомопатогенных вирусов, так как является одним из путей открытия новых вирусов. Поэтому исследование виромов вредителей сельскохозяйственных растений является важной научно-прикладной задачей. Использование современных метагеномных и биоинформатических подходов для решения этой задачи соответствует уровню развития современной вирусологии и биоинформатики.

**2. Новизна исследования и полученных результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации.**

2.1. Разработан оригинальный программный конвейер uncoVir для поиска вирусного генетического материала в данных высокопроизводительного секвенирования, адаптированный для анализа образцов с высоким содержанием геномной ДНК хозяина.

2.2. В вироме исследованных образцов *Leptinotarsa decemlineata* идентифицированы контиги, относящиеся к 6 типам известных вирусов: Artverviricota, Kitrinoviricota, Negarnaviricota, Nucleocytoviricota, Pisuviricota, Preplasmiviricota (всего, 32 семейства вирусов, 97 видов). Также обнаружены контиги 48 видов вирусов, таксономическую принадлежность которых до семейства установить не удалось (предположительно, новые таксоны).

2.3. Детально генетически исследованы геномы нескольких вирусов. В том числе, охарактеризованы геномы двух новых вирусов, из предкуколок колорадского жука, погибших от неизвестной инфекции: Leptinotarsa iflavirus 1 и Leptinotarsa solinvi-like virus 1.

2.4. Впервые экспериментально подтверждено наличие в геноме колорадского жука протяженных эндогенных фрагментов браковирусов (семейство *Polydnaviriformidae*).

2.5. Анализ генетических последовательностей вирусов растений, так как potato virus S, выявленных в образцах колорадского жука, указывают на его возможную роль в передаче данного вируса и в целом подчеркивает роль растительноядных насекомых в распространении вирусов растений

**3. Значимость для науки полученных автором диссертации результатов.**

3.1. Результаты имеют большое значение для фундаментальной науки: вносят весомый вклад в понимание виромного разнообразия членистоногих, впервые комплексно характеризуя виромную составляющую такого экономически значимого вида, как колорадский жук (*L. decemlineata*).

3.2. Разработанный оригинальный конвейер uncoVir является методологическим инструментом для метагеномного анализа виромов, специально адаптированным для работы с образцами, содержащими высокую долю геномной ДНК хозяина, что расширяет арсенал исследовательских методов научного сообщества.

3.3. В результате проведенного исследования, в настоящее время Leptinotarsa iflavirus 1 и Leptinotarsa solinvi-like virus 1 могут рассматриваться как вероятные кандидаты, связанные с заболеваниями *L. decemlineata*. Для обоих вирусов полученные данные (полногеномные последовательности, аннотация генов) создают фундаментальную основу для планирования и проведения дальнейших экспериментальных исследований, направленных на доказательство или опровержение их патогенной роли.

**4. Значимость для практики полученных автором диссертации результатов.**

Обнаружение вирусов, потенциально патогенных для колорадского жука (в частности, как указывает автор, Leptinotarsa iflavirus 1), создает основу для разработки принципиально новых биологических средств защиты растений и борьбы с резистентностью вредителя.

Результаты диссертации носят прикладной характер.

Рекомендуется:

Провести экспериментальные исследования патогенности и специфичности Leptinotarsa iflavirus 1, а также Leptinotarsa solinvi-like virus 1. Оценить их потенциал в качестве биологических агентов для биоконтроля численности колорадского жука.

Рекомендовать к использованию разработанный программный конвейер uncoVir в научных организациях, занимающихся метагеномным анализом виромов насекомых и других объектов.

**5. Обоснованность и достоверность научных положений, выводов и заключений.**

Научные положения, выводы и заключения работы в целом обоснованы и достоверны. Автор использовала современные и адекватные цели исследования методы: комплекс биоинформатического анализа (включая разработанный автором конвейер для биоинформатического анализа метавиромных образцов), высокопроизводительное секвенирование (Illumina, Oxford Nanopore), молекулярные методы (ПЦР, секвенирование по Сэнгеру), филогенетический анализ. Выводы логично вытекают из представленных результатов.

**6. Оценка содержания диссертации, ее завершенность в целом.**

Диссертация является завершенной научно-квалификационной работой. Она имеет четкую структуру, состоит из введения, четырех глав, заключения, списка литературы и приложений. Объем и содержание работы полностью соответствуют поставленным цели и задачам. Изложение материала последовательное, логичное, сопровождается необходимыми иллюстрациями и таблицами.

Диссертационная работа изложена на 128 страницах, построена по стандартной схеме и включает следующие разделы: введение, четыре главы («Обзор литературы», «Методы», «Результаты», «Обсуждение»), заключение, список литературы и приложения. Работа также включает 16 рисунков, 4 таблицы. Список литературы содержит 144 источника. Приложение состоит из 3х частей (1-3) и содержит 4 таблицы, в которых перечислены ссылки на онлайн ресурсы, содержащие информацию о собранных контигах и идентифицированных вирусных семействах, репозиторий с программным конвейером, последовательности олигонуклеотидов, использованных в работа для подтверждения наличия определенных вирусных фрагментов, список идентифицированных таксонов (видов, семейств и порядков вирусов) в собранных таксонах.

Обзор литературы посвящен теоретическим основам вирусной метагеномики. В нем систематизированы возможности и ограничения метагеномного подхода для изучения вирусов, рассмотрены современные биоинформатические инструменты и алгоритмы, включая сборщики на основе графов де Брейна и OLC, классификаторы на основе BLAST, k-меров (реализованные в классификаторах Kraken2, Kaiju и Centrifuge и HMM). Также очень кратко (стр. 33-35) обобщены существующие данные по метаганомным исследованиям виромов насекомых и представлены биологические особенности колорадского жука как объекта (стр. 35-38). Также дана детальная информация о

ряде вирусов насекомых (Baculoviridae, Iridoviridae, Iflaviridae, Dicistroviridae и др.) и вирусов растений, переносимых насекомыми.

В разделе «Материалы и методы» описан подход, сочетающий биоинформатический анализ, экспериментальные методы молекулярной биологии и филогенетический анализ. Основу работы составил анализ публичных геномных и транскриптомных данных, для которого автором был разработан оригинальный программный конвейер uncoVir, с применением Snakemake, включающий этапы контроля качества, фильтрации по референсному геному, сборки *de novo* и таксономической классификации контигов. Для валидации результатов и получения новых данных применялись: секвенирование нового поколения (Illumina) и третьего поколения (Oxford Nanopore) генетического материала из различных тканей жука, стерильных яиц и погибших личинок; методы молекулярной биологии (ПЦР, секвенирование по Сэнгеру); сборка и аннотация вирусных геномов; а также филогенетический анализ с построением деревьев максимального правдоподобия.

В разделе "Результаты" указано, что с помощью разработанного автором программного конвейера uncoVir в публичных геномных и транскриптомных данных колорадского жука были идентифицированы последовательности, гомологичные вирусам более чем 30 семейств, включая вирусы насекомых, растений и эндогенные вирусные элементы. Экспериментально подтверждено, с применением методов ПЦР, таргетных праймеров (подобраны автором) и секвенирования по Сенгеру, наличие в образцах различных тканей *L. decemlineata* фрагментов геномов браковирусов (Polydnaviriformidae), в результате анализа референсного генома *L. decemlineata*, в нем были найдены участки(последовательности), гомологичные вирусам рода Bracoviriform (Polydnaviriformidae), на основании полученных экспериментальных данных высказано обоснованное предположение о возможной эндогенной природе выявленных браковирусных фрагментов. Впервые собраны практически полные геномы двух новых вирусов — Leptinotarsa iflavirus 1 (именно этот вирус автор ассоциирует с летальной инфекцией у личинок колорадского жука) и Leptinotarsa solinvi-like virus 1. Кроме того, собраны полногеномные последовательности вирусов растений (potato virus S, potato virus Y), демонстрирующие почти 100% идентичность референсным штаммам.

**7. Замечания по работе.**

Существенных замечаний, снижающих научную ценность работы или степень обоснованности выводов, не имеется. Можно отметить, что дальнейшие исследования в области практического применения выявленных вирусов потребуют значительных дополнительных экспериментальных и технологических усилий, что выходит за рамки задач данной диссертации. Однако имеется ряд минорных замечаний:

7.1. Предположение о том, что «многие эукариотические гены, кодирующие неохарактеризованные и гипотетические белки, могут иметь вирусное происхождение» не обоснована. Можно предложить и иные равноценные гипотезы: (1) Поскольку в образцах, очевидно, содержатся нуклеиновые кислоты бактериальной компоненты микробиоты, следует также предположить, что в метагеномных данных секвенирования собираются не только вирусные, но и бактериальные контиги, поэтому «неохарактеризованные и гипотетические белки» могут иметь бактериальное происхождение; (2) «Неохарактеризованные и гипотетические белки» могут относиться к неаннотированным участками генома *L. decemlineata*, кодирующим функциональные, важные для насекомого белки; (3) это могут быть технические артефакты сборки.

7.2. Автор предполагает, что один из двух вирусов, для которых был собран полный геном - Leptinotarsa iflavirus 1 и Leptinotarsa solinvi-like virus - может вызывать летальную инфекцию у личинок у *L. decemlineata*. Не совсем понятно, почему только Leptinotarsa iflavirus 1 выбран «основным подозреваемым» (цит. из текста «Показано, что Leptinotarsa iflavirus 1 может быть связан с летальной инфекцией колорадского жука», аналогично в тексте публикации по теме диссертации «Antonets M et al., Sci Rep. 2024 Jan 3;14(1):352. doi: 10.1038/s41598-023-51093-1). Да, у близкородственных ифлавирусов чаще описаны патогенные свойства для насекомых, а также у Leptinotarsa iflavirus 1 более высокое покрытие генома, однако это не может являться однозначны аргументом в пользу только Leptinotarsa iflavirus 1. В любом случае для подтверждения этиологической роли любого из этих вирусов необходимы отдельные экспериментальные исследования.

7.3. В выводах указано, что «Большинство последовательностей были отнесены к вирусам насекомых», а также «вирусам растений». Однако, строго говоря, у автора нет уверенности, что вирусы, чьи геномы были установлены полностью, частично или фрагментарно, действительно поражают насекомых/растений. В метагеномных исследованиях, особенно на основе гомологии, мы определяют не хозяина, а происхождение последовательности. Очевидно, автор допустил опечатку, опустив термин «гомологичные» (например,

«...последовательности, гомологичные вирусам насекомых...» вместо «...последовательности вирусов насекомых...»).

7.4. К сильным сторонам работы относится разработка оригинального аналитического конвейера. Для повышения убедительности данного раздела необходимо усилить обоснование его уникальности. Автору следует более явно сопоставить функциональность uncoVir с описанными в обзоре аналогами, наглядно продемонстрировав, какие конкретные технические или алгоритмические проблемы, актуальные для анализа транскриптомных/геномных данных насекомых, решает новая разработка и почему они не могли быть решены с помощью уже существующих инструментов.

**8. Соответствие автореферата основным положениям диссертации.**

Автореферат диссертации отражает ее основное содержание, научные положения, результаты и выводы.

**9. Подтверждения опубликованных основных результатов диссертации в научной печати.**

Основные результаты диссертационной работы изложены в 2 (двух) статьях, опубликованных в рецензируемых научных журналах, входящих в базы данных Scopus и Web of Science (Viruses и Scientific Reports), что соответствует требованиям, предъявляемым ВАК:

1. Starchevskaya (Antonets) M., Kamanova E., Vyatkin Yu., Tregubchak T., Bauer T., Bodnev S., Rotskaya U., Polenogova O., Kryukov V., Antonets D. The metagenomic analysis of viral diversity in Colorado potato beetle public NGS data. Viruses. 2023, V. 15, P. 395.

2. Antonets M., Bodnev S., Rotskaya U., Kosman E., Tregubchak T., Bauer T., Azaev M., Kryukov V., Antonets D. Nearly complete genome sequences of the first two identified Colorado potato beetle viruses. Scientific Reports. 2024, V. 14, P. 352.

Разработанный оригинальный конвейер uncoVir опубликован в отрытом доступе: https://github.com/starchevskayamaria17/uncoVir

Также научные результаты были представлены научному сообществу на 4 всероссийских и международных конференциях в виде стендовых и устных докладов и, таким образом, прошли апробацию.

**Заключение.**

Таким образом, диссертация Антонец Марии Евгеньевны является законченной научно-квалификационной работой на актуальную тему, проведенной на современном научном уровне, с применением современных методов биоинформатики. В работе на основании выполненных автором исследований

содержится решение актуальной задачи – проведения первичного анализа вирома колорадского жука (Leptinotarsa decemlineata), что вносит вклад в развитие вирусологии, экологии и защиты растений. Положения и результаты работы, включая разработку оригинального программного конвейера и идентификацию новых вирусных агентов, создают научную основу для идентификации и таксономической характеристики новых патогенов, разработки современных биологических методов защиты сельскохозяйственных культур.

Работа М.Е. Антонец соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, перечисленным в пункте 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденных постановлением Российской Федерации от 24 сентября 2013 года №842 в текущей редакции, а ее автор заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата биологических наук по специальности: 1.5.8. – математическая биология, биоинформатика (биологические науки)

**Отзыв обсужден на заседании на расширенном семинаре лаборатории ДНК-метилом и редактирование транскриптома, от 03.02.2026 № 2, с привлечением сотрудников центра технологического обеспечения генетических исследований и лаборатории системной биологии и вычислительной генетики ИОГен РАН.**

Заведующий лабораторией
анализа генома,
врио заведующего лабораторией
ДНК-метилом и редактирование
транскриптома,
в.н.с. центра технологического
обеспечения генетических
исследований — Сперанская Анна Сергеевна

«3» февраля 2026 г.

Подпись Сперанской Анны Сергеевны заверяю:

Учёный секретарь ИОГен РАН, д.б.н. — Горячева Ирина Игоревна

«3» февраля 2026 г.