

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу

Волковой Полины Андреевны

**«Использование молекулярно-генетических данных для анализа
миграционных путей сосудистых растений Восточной Европе в
позднеледниковье»,**

представленную на соискание ученой степени доктора биологических наук

(специальность - 03.02.01 - ботаника)

Работа посвящена актуальной теме анализа филогеографических реконструкций для сосудистых растений Восточной Европы с использованием молекулярно-генетических маркеров. Выбор нескольких объектов определен общими или сходными задачами, среди которых оценка положения рефугиумов, в том числе внетропических, выявление роли долготного градиента континентальности в анализе миграционных путей. Научная новизна работы не подлежит сомнению, впервые с помощью молекулярных маркеров изучены пути миграции растений Восточной Европы в позднеледниковье, показано наиболее вероятное расположение рефугиумов для ряда таксонов, оценена роль внетропических рефугиумов, выявлены факторы снижения генетического разнообразия периферических популяций, изучена структура гибридных зон в зоне вторичных контактов.

Диссертационная работа построена по традиционному плану, состоит из Введения, восьми глав (из которых первая функционально представляет обзор литературы, а последняя – заключение), и Выводов, а также списка литературных источников. Общее число страниц 226, из которых 150 составляет основной текст, остальное – список литературы (содержит 314 источников, из них 56 на русском языке) и 9 Приложений, в которые вынесена информация о морфологии, окраске, гаплотипах, ссылки на последовательности ДНК и иные первичные данные. Работа содержит 10 таблиц и 24 рисунка.

В главе 1 автор дает масштабную картину трансформаций ареалов растений в плейстоцене и факторов их динамики. Подчеркивается роль исторических факторов. Анализ методов палеофлористических реконструкций показал как

эффективность, так и ограниченность сравнительного анализа ареалов, обобщения палеоботанических данных, а также моделирования ареалов, что приводит к выводу о необходимости применения молекулярных технологий. Автор анализирует сущность филогеографии как науки о формировании внутривидовых паттернов генетической дифференциации, в т.ч. миграционных путей, и роль молекулярных методов анализа нерекombинирующей пластидной ДНК как ее методологической основы. В очень содержательном разделе 1.4. автор приводит данные о влиянии климатических флуктуаций на видовые ареалы и генетическое разнообразие. Здесь же выдвигается на рассмотрение положение о роли периферических популяций для сохранения генетического разнообразия.

Глава 2 представляет собой описание модельных объектов исследования, их биологии, таксономии, имеющимся сведениям по биогеографии, включая молекулярные данные. Особое внимание уделяет автор рассмотрению этих вопросов в свете поставленных в качестве задач исследования фундаментальных проблем. Автором выбраны представители рр. *Primula*, *Erythronium*, *Helianthemum*, *Carex* и *Picea*, представляющие различные таксономические группы высших растений, имеющие европейский ареал и различные экологические предпочтения. Группы объектов явились модельными для анализа значимости периферийных популяций для сохранения видового генетического разнообразия (*Helianthemum nummularium* s.l. и *Primula vulgaris* s.l.) и исследования структуры гибридных зон (*Picea* spp. и осоки группы *Carex salina*).

Глава 3 посвящена описанию материала и использованных методов исследования. В разделе 3.1 **Материал** подробно описаны исследованные растительные объекты. Выбор представителей родов *Primula*, *Erythronium*, *Helianthemum*, *Carex* и *Picea* в качестве модельных объектов и схемы сбора материала хорошо обоснованы, процедуры собственно отбора, депонирования и первичного анализа биоматериала тщательно документированы. В целом по всем группам объем материала достаточен для решения поставленных задач. Некоторые сомнения вызывает, впрочем, подход, принятый для *Primula vera*, а именно – достаточно ли собрать в 120 популяциях по 1 растению, а в 6 – по 2, чтобы оценить размах внутривидовой изменчивости. Аналогичным образом был спланирован сбор материала по *Erythronium* и *Helianthemum*. От 1 до 5 растений на

популяцию бралось для *Carex*, около 10 – для *Picea*. В дальнейшей работе можно было бы посоветовать автору использовать более репрезентативные выборки для анализа внутривидового генетического разнообразия.

Использованы современные **методы** (раздел 3.2.) морфометрического анализа – классическая и геометрическая морфометрия и адаптированный для каждого таксона набор молекулярно-генетических маркеров. Методы анализа ДНК изложены достаточно полно для их воспроизведения и адекватны поставленным задачам, при этом они варьируют от одного изучаемого таксона к другому. Широко применялось секвенирование ПРЦ-амплифицированных хлоропластных, митохондриальных и ядерных фрагментов, для отдельных групп (осоки) – AFLP. Статистический, филогенетический и филогеографический анализ молекулярных данных выполнен на современном уровне с привлечением необходимых алгоритмов и компьютерных программ.

В **главе 4** приводятся результаты филогеографического анализа кандыков р. *Erythronium*, показано отсутствие корреляции величины генетических различий с изолирующим влиянием географических барьеров. Результаты работы являются иллюстрацией к ранее высказанной концепции, согласно которой рефугиумы формируются как следствие не только широтного, но и долготного климатического градиента, при этом восточная часть Среднедунайской низменности сочетает признаки криптического восточного рефугиума и криптического северного рефугиума. Высказано предположение, что генетически уклоняющаяся адриатическая популяция *E. dens-canis* возникла в результате дальнего заноса.

В **главе 5** на примере *Primula vulgaris* с помощью хлоропластной и ядерной (рибосомной) ДНК убедительно показана роль вне-средиземноморских и восточных рефугиумов как источников миграций и доноров генетического разнообразия мезофитных растений Европы, а также изолирующую роль степей в формировании разрывов в их генетической изменчивости. Молекулярные данные, приводимые автором, не поддерживают идею деления *P. vulgaris* на несколько видов по цвету венчика, что согласуется и с иными опубликованными результатам.

Глава 6, посвящённая филогеографии солнцезвётов *Helianthemum nummularium*, содержит данные по пространственному распространению

хлоропластных гаплотипов, анализ которого позволил реконструировать эволюционную историю вида в связи с особенностями рельефа разных западной и восточной частей ареала. Показано наличие западной и восточной линий, обособившихся в плейстоцене, причем восточная линия совершила экспансию на запад во время и после ПЛМ, явившись донором генетического разнообразия. Обсуждается возможность неоднократного независимого происхождения морф по опушению и размерам цветка внутри вида.

В главе 7, посвященной анализу структуры гибридных зон, объединены данные по осокам и елям, в основном по признаку широкого распространения межвидовой гибридизации и интрогрессии в родах *Carex* и *Picea*. В разделе 7.1. приведены результаты комплексного морфо-генетического анализа трех видов осок С. Карелии и юга Мурманской области, включая предполагаемые по фенотипу межвидовые гибриды. ДНК-анализ подтвердил гибридность этих форм, в ряде случаев уточнив диагноз по родительским видам и поколению гибридизации (особенно в отношении гетерогенной группы *C. recta* s.l.). В связи с редкостью на Кольском п-ве чистых видов *C. paleacea* и *C. subspathacea* автор делает вывод о необходимости охраны их генофондов.

Раздел 7.2, посвященный гибридизации елей в Карелии, начинается с рассмотрения морфологической изменчивости, а именно промеров семенных чешуй. Показана слабая эффективность этого метода для дискриминации видов и гибридных форм, в первую очередь карельской «финской» (т.е. гибридной ели) от «чистой» *P. obovata*. Фактически это означает прохождение многих поколений интрогрессивной гибридизации, размывшей видовые границы. Молекулярно-генетический анализ (по хпДНК) показал отсутствие статистических ассоциаций морфологических признаков и хлоротипов. Автор делает вывод о конфликте данных морфологической и генетической изменчивости. Карельская ель относится к сибирской по размеру шишек и форме семенных чешуй, на 100% к европейской по мтДНК и на 75% - по хпДНК.

Однако, трудно до конца согласиться с вердиктом автора относительно непризнания видового статуса европейской и сибирской елей, а рассмотрения их в рамках единого вида как географических рас. Все же ситуация сложнее, поскольку крайние формы различаются очень сильно, граница между ними по мтДНК резкая.

Можно отметить, что признание мтДНК как инструмента лишь для изучения геногеографии, но не таксономии у хвойных, как об этом пишет автор – положение, не являющееся аксиоматическим.

Несмотря на общий высокий научный уровень работы, можно сделать некоторые **замечания**, не имеющие принципиального характера.

Формулировка указанной первой (по мнению автора - основной?) цели работы имеет смысл скорее не как научная задача (ценность молекулярных данных для фитогеографии не подлежит сомнению, дисциплина филогеография и выросла на ДНК-субстрате, чему посвящены тысячи публикаций мирового уровня), а как просветительская – продемонстрировать эту полезность отечественному ботаническому сообществу на конкретных примерах – видах разных таксонов сосудистых растений Восточной Европы.

Представляется, что имело бы смысл завершить обзор литературы обобщающим разделом, из которого были бы видно общие для всех объектов «белые пятна» и из которого следовали бы логически постановка задач и методологии диссертационной работы.

Фамилия швейцарского ботаника «Де Кандолль» (с.9 стр. 5 св.), как и другие аналогичные франкоязычные фамилии, в русскоязычной традиции пишется обычно слитно, «Декандоль». Учитывая, что отец (Огюстен Пирам) упоминаемого в данном месте Альфонса Декандоля также был известным ботаником, уместно было бы также указать имя последнего.

Требует, по крайней мере, расшифровки тезис о том (с. 18, раздел 1.4.), что «В результате потепления ареалы растений умеренного климата сместятся к югу, что приведет к потере значительной части генетического разнообразия, заключенного в южных регионах (Beatty, Provan, 2011)». Логика подсказывает, что при потеплении в северном полушарии ареалы при потеплении должны смещаться к северу, к новому географическому положению климатического оптимума.

Есть некоторые замечания к списку цитированной литературы. В частности, отсутствуют ссылки на классические работы по елям комплекса *Picea abies* – *P. obovata*: монографии И.Ф. Правдина (1975) и М.А. Голубца (1968), не рассмотрены посвященные карельской ели работы В.И. Бакшаевой (1959, 1962, 1963, 1966) и

М.А. Щербаковой (1975), диссертации М.А. Щербаковой (1973) и А.А. Ильинова (1998). Не упомянуты и многочисленные работы по аллозимной изменчивости елей Палеарктики Г.Г. Гончаренко, В.Е. Падутова, В.В. Потенко и их коллег (1991 – 2005), а также работы последних лет с использованием микросателлитов А.А. Ильинова с соавт. и Е.А. Мудрик с соавт. (пусть опубликованные не в рейтинговых журналах, но в целом доступные и имеющие отношение к исследуемой проблеме).

На с. 18 пропущен год в ссылке Vos et al.

Что касается высокого качества научного и лингвистического стиля текста диссертации, оно не вызывает сомнений и заслуживает самой высокой оценки. Оформлена работа тщательно, рисунки и таблицы в целом наглядные, легко читаемые и воспринимаемые.

По теме диссертации автором опубликована 31 работа в отечественных и зарубежных изданиях, в том числе 22 работы в рецензируемых журналах из списка ВАК.

Практическая ценность работы очевидна. Материалы диссертации использованы при составлении региональных флор и Красных книг, используются при создании учебных курсов по биологической эволюции, систематике и биогеографии растений.

В целом можно отметить, что автором проделан большой объем исследовательской работы, материалы представлены полно, применяемые методы изложены ясно, работа написана хорошим грамотным научным языком, хорошо иллюстрирована, все выводы обоснованы. Объем исследованных выборок и репрезентативность их в отношении ареалов исследуемых видов, высокий методический уровень исследования и адекватные статистические методы анализа не позволяют сомневаться в достоверности полученных автором результатов. Содержание работы достаточно полно отражено в опубликованных статьях и автореферате.

Таким образом, представленная Волковой Полиной Андреевной диссертационная работа отвечает всем требованиям, предъявляемым ВАК к докторским диссертациям, а также изложенным в утвержденном Правительством РФ Положении о присуждении ученых степеней критериям, которым должны

отвечать диссертации, а ее автор Волкова П.А. заслуживает присуждения учёной степени доктора биологических наук по специальности 03.02.01 - ботаника.

Зав. отделом популяционной генетики,
зав. лабораторией популяционной генетики Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН,
доктор биологических наук,
119991, Москва, ГСП-1, ул. Губкина, 3, тел. +7(499)135-5067, +7(499) 135-6213,
email: dmitri_p@inbox.ru, dmitri.p17@gmail.com, Вебсайт <http://www.vigg.ru/>

30 сентября 2015 г.

Полиотов
Дмитрий Владиславович

Подпись
удостоверяю

Ученый секретарь ИОГен РАН
доктор биологических наук

