

Отзыв официального оппонента
на диссертацию Михайловой Юлии Владимировны
«Таксономическое положение и филогеография аркто-альпийского вида
***Silene acaulis* (L.) Jacq. (Caryophyllaceae)», представленную к защите на**
соискание ученой степени кандидата биологических наук
по специальности 03.02.01 - «Ботаника»

Диссертационная работа Ю.В. Михайловой посвящена одному из интересных вопросов географии растений - формированию ареалов растений арктической флоры. Несмотря на то, что сам вид *Silene acaulis* достаточно хорошо морфологически обособлен от других представителей рода, к вопросам, связанным с возникновением широкой дизъюнкции в ареале, добавляются проблемы установления границ внутривидовых таксонов и взаимоотношения вида с другими представителями семейства гвоздичных. Возникает необходимость изучения этой группы с применением современных молекулярно-генетических методов. Именно в этом ключе выполнена диссертация Ю.В. Михайловой, что определяет актуальность выбранной темы, а также обоснованность используемых подходов. Результаты работы имеют не только теоретическое, но и практическое значение, так как данные о родственных взаимоотношениях этой группы позволят осуществлять поиск биологически активных веществ.

Автором была определена цель работы выявить путь возникновения современного ареала аркто-альпийского вида *Silene acaulis* с помощью филогеографических методов и уточнить его таксономическое положение с помощью молекулярно-филогенетических методов. Для достижения этой цели автором были поставлены следующие задачи: провести анализ генетической изменчивости *Silene acaulis* с помощью методов филогеографического анализа на всём ареале и в отдельных его частях; провести анализ генетической изменчивости *Silene acaulis* по региону ITS1-5.8S рРНК-ITS2; сравнить генетическое разнообразие двух подвидов *Silene acaulis* в Северной Америке и Берингии, оценить таксономический статус и распространение *Silene acaulis* subsp. *subacaulescens*; реконструировать филогенетическое дерево рода *Silene* по молекулярным маркерам ядерного и хлоропластного происхождения и выявить близкие к *Silene acaulis* виды; проверить методами молекулярной филогении обоснованность выделения *Xamilenis* в качестве самостоятельного рода.

В работе использован обширный гербарный материал, как собранный автором на Чукотском полуострове, в Санкт-Петербурге и Ленинградской области, так и хранящийся в гербариях Санкт-Петербурга (лаборатория растительности Крайнего Севера БИН РАН, LE), Иркутска (IRK), Москвы (МНА), Осло (O), Виктории (UVIC, V), Фэрбанкса (ALA). Значение

проводимого исследования повышает то, что автор оперирует данными о *Silene acaulis* в мировом масштабе, имея целостное представление об изучаемой группе.

Морфологических признаков, использовавшихся до настоящего времени в систематике вида *Silene acaulis*, явно не достаточно как для разграничения входящих в него таксонов, так и для объяснения особенностей его ареала. Появление данных о недооцененном генетическом разнообразии арктических растений способствовало привлечению новых методов исследования, главным образом молекулярно-генетических. Были проанализированы AFLP-маркеры, на основании которых предложен сценарий формирования современного ареала вида и оценено генетическое разнообразие популяций на протяжении всего обширного ареала. Причем для растений с таким широким ареалом подобная работа проведена впервые. Для уточнения филогенетических гипотез диссертантом были дополнительно использованы методы, основанные на анализе нуклеотидных последовательностей внутренних транскрибируемых спейсеров (ITS) ядерной рибосомной ДНК и интрона гена *trnL* хлоропластной ДНК. Использование этих методов оправдано как высокой вариабельностью маркеров на низком таксономическом уровне, так и большим массивом уже имеющихся данных, позволяющим решать задачи самого разного уровня. Это позволило провести наиболее полную на сегодняшний день филогенетическую реконструкцию трибы *Sileneae*.

На основании проведенных филогеографических и филогенетических исследований диссертантом уточнена таксономическая структура вида *Silene acaulis*, выявлен круг близкородственных видов и представлен путь формирования современного ареала.

Диссертационная работа изложена на 211 страницах, состоит из введения, четырех глав, выводов, заключения, списка сокращений, списка цитируемой литературы и двух приложений, содержит 29 рисунков и 7 таблиц. Список цитированной литературы включает 304 источника, из них 240 - на иностранных языках.

Во введении автор ясно излагает важность выбора для исследования именно вида *Silene acaulis* и молекулярно-генетических методов. Помимо сложностей с пониманием наличия обширной дизъюнкции в ареале, отмечены вопросы о разграничении внутривидовых таксонов и родственных связях *Silene acaulis* с другими группами гвоздичных. Из изложенных проблем логично вытекают цели и задачи исследования. При перечислении молекулярно-филогенетических маркеров в отношении участков ITS и *trnL* указывается, что один из них ядерного, а другой - хлоропластного происхождения. В данном случае подобная характеристика кажется не совсем удачной, подразумевая эволюционную составляющую. Правильнее

было бы просто указать, что один участок ядерной, а другой - хлоропластной ДНК. Имеется опечатка при описании потенциального хозяйственного значения вида (фидоэксдистероиды вместо фитоэксдистероиды).

В главе 1 приводится комплексная характеристика *Silene acaulis*, включающая географическое распространение, экологические предпочтения, внутривидовое разнообразие и положение в трибе *Sileneae*. К этой главе отнесены разделы, освещающие вопросы динамики ландшафтов Крайнего Севера и формирования арктической флоры, а также использования молекулярных маркеров в филогеографии растений и способов их анализа. Глава производит хорошее впечатление. Можно отметить, что здесь можно было бы кратко изложить сведения об используемых молекулярных маркерах в филогенетическом анализе, поскольку подобное направление исследования также входит в задачи работы, поставленные автором. Первый абзац главы 1.2.5, посвященный генетическому разнообразию и видообразованию в Арктике на примере рода *Draba*, мне кажется не совсем удачным и логически выстроенным в том отношении, что сначала констатируется более высокий уровень генетического разнообразия в северных популяциях, по сравнению с южными, в то время как далее по тексту обсуждаются возможные причины снижения генетического разнообразия при расселении на север. В целом необходимо отметить обстоятельность этого литературного обзора, где проанализированы многочисленные литературные источники.

Глава 2 содержит описание материалов и методов исследования. Производит хорошее впечатление набор методик, которые освоил и успешно использовал автор в ходе работы над диссертацией. Можно отметить наличие небольшого числа опечаток при указании международной базы данных по нуклеотидным последовательностям (GeneBank вместо GenBank). Требуется пояснения почему после амплификации анализируемых участков ДНК для последующей очистки проводилось вырезание фрагмента нужной длины из геля, а не прямая очистка ПЦР-продукта из реакционной смеси. Связана ли данная процедура с наличием нескольких фрагментов разной длины?

Глава 3 содержит сведения по результатам анализа нуклеотидных последовательностей двух изучаемых фрагментов ДНК, а также AFLP-маркеров. В характеристике последовательностей указываются пределы варьирования длин фрагментов, процентное содержание нуклеотидов GC, а также наиболее яркие события в эволюции фрагментов (например, протяженные вставки и делеции). Считаю, что автор мог дополнить характеристики фрагментов информацией, касающейся непосредственно вида *Silene acaulis*, сделав акцент на варьировании показателей внутри и между популяций этого вида. На странице 89 при описании внутривидовой изменчивости ITS рДНК у вида *Silene acaulis* отмечается несколько полиморфных позиций в последовательностях. Было бы важно пояснить,

свидетельствует ли наблюдаемый полиморфизм о гибридном происхождении образца или связан с возникновением мутаций в последовательностях некоторых аллелей, апоморфных для данной популяции. На рисунке 3.8, представляющем филогенетическое дерево по последовательностям интрона гена *trnL* разные образцы *Silene acaulis* не разделены, чтобы их можно было соотнести с ваучерной информацией, представленной в таблице 2.1 главы 2 «Материалы и методы». Для некоторых образцов на дереве не указано географическое происхождение. Требуется пояснения, почему эта информация была не доступна.

В главе 4 - «Обсуждение результатов» - автор анализирует данные молекулярно-генетического анализа, проводя сравнение с существующими классификациями, построенными на основе морфолого-географического подхода, выявляет таксономические связи внутри трибы *Sileneae*, уточняет родство и структуру вида *Silene acaulis* и предлагает сценарий расселения вида из центра происхождения на юго-восток и на север, логично объясняя наличие обширной дизъюнкции результатом послеледниковой колонизации вида из двух различных рефугиумов. Сопоставление результатов молекулярного анализа с морфологическими признаками показывает высокую лабильность морфологических признаков как для трибы *Sileneae* в целом, так и для вида *Silene acaulis* в частности. Результаты анализа молекулярных маркеров лучше согласуются с географическим распространением таксонов, чем с морфологическими данными. Интересный вывод получен при сопоставлении существующих систем трибы *Sileneae* с молекулярно-филогенетическими деревьями. Показано, что основные различия связаны не с составом, а с таксономическим рангом естественных групп. Пояснения относительно выбора молекулярных маркеров для анализа филогении трибы *Sileneae* уместнее перенести в главу 1.

Далее следуют выводы, которые вытекают из полученных автором результатов и отражают содержание работы. Перечисленные недочеты легко устранимы и не снижают значения работы и уровня квалификации исследователя.

Материалы представляемой работы неоднократно докладывались и обсуждались на международной и российских конференциях, по теме диссертации опубликовано 13 работ, причем среди них статья в журнале, реферируемом в Web of Science. Автореферат соответствует содержанию работы.

Научная новизна и практическая значимость исследования не вызывает сомнений: диссертация будет представлять интерес для широкого круга исследователей, работающих в области систематики гвоздичных, флористики и фитохимии.

Диссертация «Таксономическое положение и филогеография аркто-альпийского вида *Silene acaulis* (L.) Jacq. (Caryophyllaceae)», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук, выполнена на высоком научном уровне с привлечением современных методов исследования, соответствующих поставленным задачам. По своей актуальности, новизне и научному значению полученных данных работа соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям, установленным в пункте 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 года № 842, а ее автор - Юлия Владимировна Михайлова - заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.01 - «Ботаника».

Кандидат биологических наук
старший научный сотрудник
Ботанического сада биологического
факультета

Дегтярева
Галина Викторовна

Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего
образования «Московский государственный
университет имени М.В.Ломоносова»
119991, Россия, Москва, Ленинские горы,
д. 1, стр. 12, Ботанический сад.
Тел. (495) 939-31-93, факс. (495) 939-31-81
degavi@mail.ru

28 сентября 2016 г.

Подпись руки старшего научного сотрудника,
канд. биол. наук Дегтяревой Г.В. заверяю

декан биологического ф-та Московского государственного
университета имени М.В.Ломоносова,
академик



М.П. Кирпичников