

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

ведущего научного сотрудника, доктора биологических наук

Агафонова Александра Викторовича

на диссертационную работу Костерина Олега Энгельсовича

“Эволюция и геногеография дикорастущих форм рода Горох (*Pisum* L.)”,

выполненную на соискание ученой степени доктора биологических наук

по специальности 03.02.07 – Генетика

На основании прочтения раздела **Введение** можно полностью согласиться с автором в отношении **Актуальности** исследований по проблеме эволюции и геногеографии именно дикорастущих представителей рода *Pisum*. Применение молекулярных маркеров в последние десятилетия однозначно показали, что культивируемый посевной горох представляет лишь одну из множества филетических ветвей гороха, тогда как большинство прочих ветвей никогда не вовлекалось в селекционный процесс.

Прежде чем перейти к конкретным деталям, необходимо дать формальную характеристику работы.

Диссертация имеет традиционную композицию, изложена на 324 страницах машинописного текста, что превышает рекомендуемый ВАК объем работы в 300 страниц. Диссертация включает разделы: Введение (27 стр.), Обзор литературы (115 стр.), Главы 2 — Материалы и методы (24 стр.), Главы 3 — Геногеография по полекулярным маркерам (26 стр.), Главы 4 — Опыт реконструкции филогении рода *Pisum* на межвидовом и внутривидовом уровне с использованием генов гистона H1 (24 стр.), Главы 5 — Репродуктивная совместимость базового набора образцов, отражающего генетическое разнообразие гороха восточного Средиземноморья (60 стр.), Заключение (6 стр.), Выводы (3 стр., 11 пунктов), Список литературы (391 источник, из которых 326 – зарубежные).

Первый подраздел **Введения**, раскрывающий **Актуальность** исследования, убедительно раскрывает суть проблемы, но изложен излишне подробно и объемно. **Введение** было бы необходимо формулировать более лаконично. Значительную часть материалов, очевидно, следовало бы изложить в главе **Обзор литературы** либо сократить без малейшего риска утратить принципиально важные положения. Подраздел **Введения**, озаглавленный как **Степень разработанности темы диссертации**, занимает более 4-х страниц. Нет сомнений, что степень разработанности темы диссертации достаточно высокая, но здесь также желательно более краткое изложение.

Подразделы **Цель и задачи исследования, Научная новизна и Теоретическая и практическая значимость работы**, а также **Методология и методы исследования** описаны достаточно четко и ясно.

Одним их ключевых подразделов главы **Введение** являются **Защищаемые положения** или **Положения, выносимые на защиту**. Их в представленной работе насчитывается 8, совершенно разных по значимости. Было возможно более краткое изложение именно **основных** положений из числа действительно нуждающихся в защите в числе не более 5. Так, видится совершенно излишним положение **«Большинство дикорастущих форм посевного гороха не имеют реципрокных транслокаций, отличающих их от культурного подвида»**.

Глава 1 **Обзор литературы** состоит из двух основных подразделов и 36 мелких подразделов. Каждый из подразделов содержит полезную информацию, но в сумме литобзор занимает **115 страниц**, это слишком много даже для докторской диссертации. Я обращал внимание соискателя на этот факт еще на стадии рецензирования, поскольку большой объем обзора затрудняет его осмысление, и что сокращенная часть расширенного литературного обзора может быть вполне востребованной в будущей монографии, на радость читателей. То есть, с позиций рецензирования, чрезмерный объем **литературного обзора** с избытием мелких фактов становится не достоинством, а недостатком работы. Как пример: проблеме статуса абиссинского гороха посвящено 13 страниц текста!

В частности, для меня, как специалиста, интересующегося вопросами таксономии, показалось не совсем последовательное изложение проблемы таксономии рода *Pisum* (стр 51). С одной стороны, во избежание разнобоя автором принимается таксономическая система, в которой различают три вида гороха: дикий горох красно-желтый (*Pisum fulvum*), горох посевной (*Pisum sativum*) с двумя подвидами и окультуренный горох абиссинский (*Pisum abyssinicum*). (Стр. 11 и стр. 58). Но при всем уважении к глубине авторского изложения мне так и не удалось понять конечный смысл подраздела **1.2.2.4. Необходимые дополнения (стр. 59)**, в котором изложены прямо противоположные тезисы. Читаем на стр. 60: **«Упразднение рода *Pisum* и включение видов гороха в качестве секции в род *Lathyrus* (Coulot, Rabaute, 2016), в данном тексте не принимаемое, потребовало важных изменений законных названий видов и подвидов»** и далее на стр. 61. **«В той же работе автор (Костерин, 2017) предложил новую комбинацию *Lathyrus fulvus* (Sibthorp et Smith) Kosterin для гороха красно-желтого»**.

Далее автор суммирует соответствие **правильных** названий таксонов гороха в

составе рода *Lathyrus* (Coulout, Rabaute, 2016; Костерин, 2017) с названиям в системе Макстеда и Амброуза. То есть, в составе рода *Lathyrus* таксоны гороха относятся к секции *Lathyrus* L. sect. *Pisum* (L.) Kosterin (стр 62). Так все-таки, можно ли считать самостоятельный родовой ранг *Pisum* валидным, как обозначено в теме работы, или он входит в родовой комплекс *Lathyrus* в ранге секции? И здесь важно уточнить позицию автора в настоящий момент.

Важный вывод, который можно сделать из аналитического обзора литературы — это то, что ни хорология, ни таксономия, ни частная генетика рода *Pisum* не могут считаться близкими к завершению.

Глава 2 Материалы и методы, состоящая из 9 подразделов разных уровней, в целом написана более четким стилем, чем **Обзор литературы**, но по характеру изложения подраздел **2.1. Сбор нового материала дикого гороха в природе** более соответствует одному из разделов **Результатов исследования**, поскольку в нем приводится не только краткая характеристика мест сбора, но и достаточно глубокий хорологический и морфологический анализ собранного автором материала. Первое, что обращает на себя внимание – это обширнейший набор дикорастущих образцов гороха и масштаб проведенных скрещиваний для оценки репродуктивной совместимости. В других подразделах главы достаточно кратко и ясно описываются применяемые молекулярные методы.

Глава 3 Геногеография по молекулярным маркерам состоит из 5 подразделов и характеризует важные этапы дифференциации рода на примере трех найденных диморфных молекулярных маркеров. Устойчивые комбинации этих маркеров позволили выявить наиболее древнюю (предковую, или презиоморфную) комбинацию А и производную комбинацию В, характерную для образцов культурного подвида *P. sativum*. Обнаружены эволюционно промежуточные состояния С и D, а также относительно редкие комбинации, обозначенные буквой R от английского rare. Приведены количественные данные о соотношении разных маркерных сочетаний среди разных таксономических групп и географических рас. Построена карта географического происхождения разных типов по морфологии цветков у дикорастущих форм *P. sativum*. Показана необходимость пополнения генетических коллекций дикорастущими формами гороха из восточной части ареала — Ирана, Туркменистана, Кавказа и Аравийского полуострова.

В главе 4 приводятся данные по реконструкции филогении рода *Pisum* с использованием генов гистона H1. Она состоит из 5 подглав, в которых раскрываются разные этапы филогенетического анализа на основе этого белкового маркера.

Подглава 4.1 проясняет ряд вопросов в плане возможности использования этого гистона и соответствующих генов для филогенетического маркирования. Отсутствие универсальных праймеров не позволяет широко использовать целые гены гистона H1 в качестве филогенетических маркеров. Тем не менее, обрисованы некоторые подходы в их использовании для целей филогении. **В Подглаве 4.2**, показана изменчивость первичной структуры генов для субтипов 5 и 7 гистона H1. Расписанные данные суммируются в таблице с параметрами нуклеотидного разнообразия для генов *His5* и *His7*, к которой дан развернутый комментарий. **В Подглаве 4.3** приводятся построенные дендрограммы по реконструкции филогенетического дерева у представителей рода на основе первичной структуры генов *His5* и *His7*. Даны необходимые комментарии. **Подглава 4.4** составляет необходимые комментарии и обсуждение результатов предыдущих подглав, и обозначена как «**Филогеографические следствия филогенетического анализа, проведенного на основании генов гистона H1**». Отмечено, что «на реконструкциях, полученных на основании гена *His5*, представители комбинаций маркеров А и С образуют многие ветви первоначальной дивергенции вида *P. sativum*..., а линия В представляет собой одну из таких ветвей, самую мощную и включающую как дикорастущие, так и культурные формы» (стр. 217). И далее: «В то же время ни географические, ни филогенетические реконструкции не подтвердили... первоначальное предположение, что современные носители комбинации D представляют потомков переходного звена между носителями комбинаций А и С». Далее дано возможное объяснение этому факту.

Подглава 4.5 «Возможная таксономическая интерпретация проведенного филогеографического и филогенетического анализа» на мой взгляд, начинается с концептуально-краткого итога предыдущих глав о разделении рода на эволюционные ветви А, В, АС и рекомбинантные комбинации D и R. Эти рассуждения было бы уместно как-то продублировать более ясным стилем и более отчетливо обозначить эти ветви и комбинации на приведенных ранее дендрограммах, поскольку этот существенный момент совершенно тонет в подробных, но не столь эволюционно-значимых рассуждениях. На наш взгляд, этот аспект более ясно выражен в **Заключении**. Далее в главе дан последовательный анализ результатов с морфологических и таксономических позиций. Предложенную систему подвидов *Pisum sativum* можно считать важным итогом всей проделанной работы.

Главе 5. Репродуктивная совместимость базового набора образцов, отражающего генетическое разнообразие гороха Восточного Средиземноморья

содержит 8 подглав и 7 подразделов **подглавы 5.3**. В подглавах и более мелких подразделах последовательно приводятся результаты секторальных исследований. Методологическая основа главы раскрывается в подглаве 5.1., где логично обосновывается целесообразность создания базового набора образцов для выявления репродуктивной совместимости. Сформирован набор гороха Восточного Средиземноморья, составивший 8 образцов и проиллюстрированный дендрограммой филогенетической реконструкции по гену *His5*. В подглаве 5.2. приводится схема эксперимента по диаллельному скрещиванию. Результаты скрещиваний последовательно приводятся и логично иллюстрируются в 7 подразделах **подглавы 5.3. Подраздел 5.3.7.** содержит важное заключение по скрещиваниям базового набора с культурных подвидом *P. sativum* subsp. *sativum* (образец WL1238). Как и ожидалось автором, выявлены значительные репродуктивные барьеры с представителями других видов рода *P. fulvum* и *P. abyssinicum*.

Серии скрещиваний образцов базового набора с *P. fulvum*, и *P. abyssinicum* прокомментированы в подглавах 5.4. и 5.5. Подглава 5.6. раскрывает подробности репродуктивных отношений внутри серии образцов *P. sativum* subsp. *elatius*. Результаты свидетельствуют, что внутри подвида существуют множественные репродуктивные барьеры, картина которых сложна и не укладывается в простую иерархическую или дихотомическую схему.

Подглава 5.7. Отношения репродуктивной совместимости образцов базового набора в свете таксономии гороха. Автором справедливо отмечается, что «для любого направления скрещиваний, вовлекающих дикорастущих представителей посевного гороха, характер совместимости невозможно предсказать заранее, исходя из внешних признаков растения... Скрещивая культурные и дикие формы, можно столкнуться как с серьезными однонаправленными репродуктивными барьерами (стр. 271). Это вполне ожидаемый эффект. Но в то же время достаточно категорично звучит утверждение, что «**Ориентация на таксономическую принадлежность контрпродуктивна, поскольку сами внутривидовые таксоны гороха во многом иллюзорны**». Можно согласиться с тем, что построить строго филогенетически ориентированную таксономическую модель любого рода высших растений практически невозможно из-за многочисленных проявлений сетчатой эволюции, но отменить необходимость построения таких моделей на консенсусном принципе было бы ошибочным. Такие модели создавались столетиями и будут совершенствоваться впредь ввиду их фундаментальной значимости. При их создании критерий скрещиваемости особей изначально не был основным, а тем более единственным по целому ряду вполне объективных причин.

Кроме того, это утверждение перечеркивает значимость результатов, изложенных в подглаве 4.5. Попытка смягчить такой жесткий постулат была, на наш взгляд, сделана в конце подглавы 5.7.

Подглава 5.8., обозначенная как **Скрещивания сами-с-собой**, поставленная в конце всех глав, выглядит совершенно не на своем месте. Эти данные логично было представить частично в **Материалах и методах** и частично в разделах, описывающих особенности репродуктивных отношений.

В **Заключении** не только подводится итог проделанной работе, но и кратко, но емко обрисовываются перспективы дальнейших исследований по степени важности. **Заключение** написано большей частью ясным и четким языком. Тем не менее, можно поспорить с некоторыми концептуальными утверждениями, как, например, тезис, что **«Применение же ботанической классификации внутри вида *P. sativum* вообще следует признать контрпродуктивным»** (стр. 287). Но в этом и заключается позиция автора, который, безусловно, является профессионалом высокого в данной области. Следует согласиться с автором в главном, что, цитирую, **«В целом... исследования значительно пополнили знания о генетическом разнообразии дикорастущих сородичей культурного гороха и о филогении рода Горох, которые имеют как теоретическое значение, так и могут в дальнейшем могут оказаться полезными для практического использования этого генетического разнообразия в селекции»**.

Раздел **Выводы** состоит из 11 пунктов. **Вывод 1** сформулирован достаточно размыто, совершенно неконкретно и без малейшего ущерба для работы мог бы быть изъят. **Вывод 2** было бы логичнее расположить одним из последних. **Вывод 10** не может быть убедителен только от отсутствия находок реципрокной транслокации. Для этого необходимо изучить достаточно репрезентативную выборку образцов, относящихся к двум подвидам. Остальные выводы полностью подтверждаются проведенными исследованиями.

Список литературы пронумерован.

Диссертация в целом написана синтаксически выверенным, но достаточно сложным стилем, в ряде случаев трудным для восприятия. В тексте имеются отдельные грамматические ошибки по типу описок. Это же замечание касается изложения реферата, который составлен верно и соответствует содержанию диссертации.

Заключение оппонента.

По моему заключению диссертационная работа Олега Энгельсовича Костерина

на тему «Эволюция и геногеография дикорастущих форм рода Горох (*Pisum L.*)» является законченным научно-исследовательским трудом и содержит новые результаты в области генетики. Это комплексная в методическом отношении работа, основанная на многолетних исследованиях. Достоверность результатов, полученных в работе, не вызывает сомнения, что подтверждается достаточным числом публикаций в международных и российских журналах.

По оригинальности, новизне, достоверности материалов и сформулированным выводам диссертационная работа полностью соответствует требованиям, предъявляемым к докторским диссертациям (пп. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней» за № 842 от 24 сентября 2013 г.), а ее автор заслуживает присуждения искомой степени доктора биологических наук по специальности 03.02.07 — генетика.

Доктор биологических наук,
ведущий научный сотрудник



Агафонов Александр Викторович

Лаборатория редких и исчезающих видов растений
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Центральный сибирский ботанический сад
Сибирского отделения Российской академии наук
634090 г. Новосибирск, ул. Золотодолинская, д. 101
Телефон: +7 (383) 339-97-91, 913-456-4839
e-mail: agalex@mail.ru

10.10.2017

