

## ОТЗЫВ

на диссертационную работу Костерина Олега Энгельсовича  
«Эволюция и геогеография дикорастущих форм рода горох (*Pisum L.*)»,  
представленную на соискание ученой степени доктора биологических наук  
по специальности 03.02.07 – «генетика».

Диссертация Костерина Олега Энгельсовича посвящена изучению генетического разнообразия, а именно филогении, филогеографии и отношений репродуктивной совместимости, небольшого рода растений с неясной таксономией, распространенного в Средиземноморье. Актуальность его исследования обусловлена тем, что представитель этого рода представитель входил в число растений, доместичированных первыми в момент возникновения сельского хозяйства на Ближнем Востоке, и ныне известен всем как посевной горох – важная зерновая, овощная, кормовая и сидерационная культура. Однако диссертация Костерина О.Э. посвящена гороху как дикорастущему растению. В ней изучены немногочисленные существующие в мировых коллекциях генетического материала образцы гороха, собранные из редких в наше время природных популяций гороха. Проведена большая и кропотливая предварительная работа по надежной идентификации этих образцов, некоторые новые образцы собраны автором лично или коллегами по его просьбе. Изучение генетического разнообразия дикорастущих родственников культурных растений, несомненно, является актуальной задачей с практической точки зрения. В то же время, углубленное изучение генетического разнообразия и филогеографии отдельной группы растений является важным и с точки зрения фундаментальной науки, поскольку расширяет наши знания о механизмах эволюции и истории растительного мира.

В диссертации применен широкий спектр подходов – от традиционного анализа фенотипа в отношении внешних признаков и гибридологического анализа до молекулярных методов, включающих как секвенирование кодирующих генов, так и «ускоренный» CAPS-анализ, основанный на полиморфизме в отношении сайтов рестрикции. Полученные данные квалифицированно рассматриваются в эколого-географическом контексте. С методической точки зрения работа является основательной и достоверной.

Диссертационная работа Костерина О.Э. достаточно оригинальна и ее научная новизна проявляется на многих уровнях. В ней применены новые принципы подбора исходного материала, в первую очередь, эффективная проверка образцов на «дикость».

Применены также новые для филогенетических исследований маркеры – гены гистона H1. Важнейшим новым результатом является выявление не известной ранее (несмотря на более чем столетнюю историю исследования) «скрытой» дивергенции дикорастущих представителей *P. sativum* на две крупные эволюционные ветви. На основе критического анализа и обширных собственных исследований автор предложил и новую и при этом достаточно обоснованную таксономию рода. Автором также впервые проведен полный цикл реципрокных скрещиваний различных образцов гороха, что позволило существенно расширить знания о механизмах репродуктивной несовместимости.

О названии работы. Форма – это по кодексу ботанической номенклатуры низший таксон во внутривидовой систематике: вид - подвид - разновидность - форма. В диссертации же речь идет не только и не столько о формах, сколько обо всех остальных "этажах" ботанической номенклатуры от рода и ниже. Слово "форма" автор, надо полагать, употребил в другом, не строгом смысле: для обозначения всех проявлений разнообразия. Это создает заметную двусмысленность и вводит читателя в заблуждение. Впрочем, это ведь форма, а главное в диссертации – ее содержание.

Диссертация изложена на 324 страницах и имеет обычную структуру: состоит из введения, шести глав, первая из которых является обзором литературы, заключения и списка использованных источников. В работе содержится 13 таблиц и 29 рисунков.

Введение изложено на 27 страницах и содержит необходимые для диссертационной работы подразделы «Актуальность проблемы», «Степень разработанности темы диссертации», «Цель и задачи исследования», «Научная новизна работы», «Теоретическая и практическая значимость работы», «Методология и методы исследования», «Личный вклад автора», «Положения, выносимые на защиту» (8 положений), «Апробация результатов и степень их достоверности», «Публикации». Из последнего раздела становится ясно, что приведенные в диссертации результаты почти полностью опубликованы. Это 30 статей, в том числе, 19 в журналах из международной базы «Web of Science» или списка ВАК; 2 учебных пособия. Автор усматривает актуальность разрабатываемой им проблемы в той практической значимости, которые имеют адекватные знания о генетическом разнообразии дикорастущих родственников культурного гороха, и находит данную тему недостаточно разработанной ввиду не вполне адекватных, по его мнению, существующих представлений об этой изменчивости. Эти вопросы он обсуждает во введении весьма подробно и убедительно.

Глава 1 – «Обзор литературы». Она занимает 115 страниц, то есть около трети всей диссертации; его рубрикация доходит до заголовков пятого уровня. Глава состоит из двух

отдельных частей. Первая часть (это 17 страниц) посвящена истории гороха в качестве генетического объекта. Вторая часть содержит всестороннее рассмотрение объекта исследований – дикорастущим формам гороха, в том числе их таксономии, биогеографии, экологии, генетической структуры, представленности в генетических коллекциях и степени изученности. Разделы, посвященные географии и экологии, наиболее велики по объему и изложены с максимальной детализацией – очевидно намерение автора сделать исчерпывающую сводку собранных им данных на этот счет. Раздел написан в довольно критическом ключе – автор считает своим долгом указать на все усмотренные им недостатки почти по любому вопросу – таксономической трактовке, этикетированию и определению коллекционного материала, методологии предшествующих молекулярно-филогенетических исследований. Также по ходу обзора автор нередко делает свои собственные обобщения информации, полученной из литературы, иногда привлекая и некоторые собственные результаты частного характера, уместные по контексту. Таким образом, вторая часть обзора является не столько собранием информации, опубликованной другими авторами, сколько творческим переосмыслением знаний, накопленных наукой по обсуждаемым вопросам. Будучи неожиданно и нетрадиционно огромной, глава 1 очень содержательна. Это не подготовка к исследованию, а собственно исследование методом анализа уже имеющейся информации. Такой подход к использованию научной литературы, на мой взгляд, заметно снизил возможности автора в обсуждении его собственных результатов. Более выигрышной мне представляется обычная структура научной работы: относительно лаконичная постановка проблемы с формулированием рабочей гипотезы → изложение результатов → их обсуждение с привлечением всех необходимых для этого литературных источников → построение новой теории. Однако это вопрос вкуса и существенным недостатком данной диссертации не является. Впрочем, остается не вполне ясным, какое отношение имеет часть информации, сообщаемой в разделе 1.1 («Горох как генетический объект») непосредственно к теме диссертации, поскольку в большинство упомянутых генетических исследований вовлекались только культурные представители рода.

Глава 2, «Материалы и методы», занимает 24 страницы и имеет три естественные части – характеристику использованного материала, методы работы с растениями и молекулярные методы. Раздел 2.1, «Сбор дикого гороха в природе», содержит не столько «материалы», сколько результаты исследований (что, впрочем, оговорено во введении), но композиционно и по смыслу находится на своем месте. Автор уделяет много внимания проверке используемых образцов на принадлежность к дикорастущим формам, что также

относится скорее к результатам, чем к методам. Это вообще очень характерная особенность авторского стиля исследований: он не доверяет источникам информации, а эффективно проверяет их. Используемые методы исследования, как традиционные, так и молекулярные, тщательно подобраны и безупречно адекватны поставленным задачам.

Глава 3, «Геногеография по молекулярным маркерам», изложена на 24 страницах, и излагает один из важных результатов данной работы – выявление технически простым CAPS-методом двух генетических общностей внутри казавшегося ранее гомогенным дикорастущего подвида посевного гороха. В последнем подразделе обсуждаются внешние признаки принадлежащих к ним растений, однако надежных внешних диагностических признаков выявить, к сожалению, не удаётся. На основании анализа мутаций, маркирующих две эволюционные линии гороха, предложена реконструкция истории расселения дикорастущих форм гороха по их современному ареалу.

Эта реконструкция выглядит красиво и логично. Однако возникает вопрос: как горох с его не очень-то эффективным способом распространения семян мог так быстро «сходить» из Палестины в Португалию по южной половине Средиземноморья, а затем вернуться обратно по северной? Это примерно 5 000 км туда и столько же обратно, т.е. 10 000 000 м. Если бы он без проблем и препятствий непрерывно и целенаправленно шел со скоростью 1 м в год, то ему понадобилось бы на это 10 млн. лет. Между тем, непрерывность и целенаправленность в данном случае маловероятна, а гороху посевному от силы 1 млн. лет. Можно надеяться, что в дальнейшем, с привлечением других молекулярных маркеров и методов, выявленные автором события удастся датировать и привязать к определенным эпохам прошлого.

Глава 4 посвящена ставшему в последнее время традиционным филогенетическому анализу, основанному на кодирующих последовательностях, однако в данном случае – нетрадиционных для подобных работ генов – генов гистона H1. Выбор этих генов по всей видимости, обусловлен личной научной биографией автора, ранее занимавшегося изучением влияния изменчивости по генам гистона H1 на фенотип растений и его роли в эволюции, с использованием гороха в качестве экспериментального объекта. В то же время нельзя не отметить, что гены гистона H1 относятся к числу самых изменчивых эукариотических ядерных генов, что делает их перспективным объектом для филогенетики. Действительно, анализ последовательности одного из этих генов позволил успешно реконструировать филогению гороха даже на внутривидовом уровне, в то время как другой, паралогичный ген, кодирующий более функционально специфичный субтип гистона H1, оказался менее пригодным для этой цели. Данные результаты интересны как

в практическом (с точки зрения методов филогенетического анализа), так и в теоретическом (пригодность разных генов для такого анализа) отношении. Проведенное филогенетическое исследование в целом подтвердило предварительные выводы, полученные на основе CAPS-анализа и изложенные в предыдущей главе. Данная глава изложена на 24 страницах. На рисунках 14 и 15 никак не помечены четыре комбинации молекулярных маркеров, маркирующие две выделяемые автором эволюционные линии гороха, хотя они активно обсуждаются в тексте в связи с этими рисунками. Читателю, по всей видимости, предлагается устанавливать такую принадлежность на основании рисунка 13, где комбинации отмечены значками, сличая номера конкретных образцов, что не делает чести автору. Поскольку в данных рисунках стояла задача отразить как формальную таксономическую принадлежность, так и условные комбинации маркеров, предлагаемые автором, эти рисунки лучше было бы сделать цветными.

В конце главы несколько неожиданно появляется подраздел, посвященный возможному пересмотру таксономии вида *Pisum sativum* на основе полученных данных. По всей видимости, он является общим заключением к главам 3 и 4, но автор воздержался от выделения его в особую главу из-за его небольшого объема. Предварительная система подвидов почему-то предложена до анализа материала по репродуктивной совместимости. Это, по меньшей мере, странно. Ведь репродуктивная совместимость – главный признак для вида и того, что под и над видом. У биологического вида не может быть иной базовой концепции, кроме биологической. А в биологической концепции вида главный видовой критерий – это репродуктивная совместимость-несовместимость. Для подавляющего большинства таксонов просто невозможно использовать этот критерий из-за отсутствия информации о совместимости-несовместимости. Но по гороху-то она, как раз есть, в том числе, полученная самим автором! Недостатком предложенной системы подвидов посевного гороха является также полное отсутствие у предлагаемых двух дикорастущих подвидов внешних диагностических признаков. По этим причинам автор и сам не вполне уверен в целесообразности введения своей системы, поэтому предлагает ее лишь для дискуссии.

Глава 5 посвящена изучению репродуктивной совместимости небольшого набора образцов, в максимальной степени представляющих генетическое разнообразие гороха Восточного Средиземноморья, предложенного самим автором с использованием скорее эвристического, чем объективно-систематического подхода, что вызвано необходимостью ограничиться небольшим количеством образцов. Впрочем, контрастность выбранных форм не вызывает сомнений. Основному опыту

предшествовала важная работа по совершенствованию самой технологии скрещивания дикорастущих форм гороха. Это позволило получить более надежные результаты.

Экспериментальная работа состояла в проведении около 3,5 тысяч скрещиваний по диаллельной схеме и выращивании и анализе полученных гибридов первого поколения. Данная глава изложена на 60 страницах. Она содержит наибольшее количество рисунков и табличного материала, хотя разные подмножества скрещиваний изложены с разной подробностью. Очень интересные результаты получены по репродуктивной совместимости видов, подвидов, географических экотипов, «линий» и просто разных образцов гороха посевного. Оказалось, что внутри вида и даже внутривидовой «линии» репродуктивная несовместимость встречается лишь немногим реже, чем между видами. Даже внутри «линии» возможна полная несовместимость! Получается, что у гороха морфологическая систематика слабо связана с генетической. При этом та и другая слабо связаны с репродуктивной совместимостью. Получается, что внутривидовая систематика гороха и внутривидовая систематика гороха посевного, основанная на традиционном иерархическом принципе, **ВООБЩЕ** невозможна.

На мой взгляд, это главный результат работы, наиболее значимый для теоретической биологии. Он безупречно доказан, но, к сожалению, не обсужден автором на должном уровне. Есть ли подобные примеры в семействе бобовые, есть ли они вообще у каких-то других растений; насколько часто встречаются подобные явления, с чем они могут быть связаны (с самооплодотворяемостью, с фрагментарностью ареала, с особенностями организации генома, с чем-то еще); а главное – какие последствия может иметь получение такого результата для эволюционной теории? Это тем более удивительно, что автор на всем протяжении диссертации демонстрирует замечательную общебиологическую эрудицию. Поэтому отсутствие такого обсуждения я могу объяснить лишь скромностью автора, который наверняка имеет свои соображения и, надеюсь, доложит нам их при публичной защите.

Искусственное опыление образцов гороха собственной пылью представляется хорошим контролем для гибридологических исследований, позволяющим разделить механические эффекты скрещивания и завязываемость как биологическую характеристику. Однако представленные данные демонстрируют невысокую воспроизводимость в разных опытах, что отмечает и сам автор. Хотя вывод о несколько большей компетенции раскрытых цветков к опылению извне у дикорастущих образцов по сравнению с культурными выглядит обоснованным, результаты данного подраздела в целом следует признать предварительными. Они поднимают дополнительный вопрос о

влиянии условий выращивания растений на завязываемость семян при искусственном опышении, который требует дополнительных исследований.

Заключение занимает 6 страниц, содержит один рисунок и в целом хорошо отражает содержание работы. Одиннадцать выводов обоснованы, изложены довольно пространно. Первые два вывода касаются анализа литературы, но поскольку он сделан в критическом ключе и, по сути, также является авторской работой, это вполне оправдано.

Список литературы занимает 35 страниц и включает 391 источник, из них 326 – на иностранных языках (в том числе, публикации XIX и даже XVIII века). Работа написана живым (местами чересчур) языком и почти не содержит опечаток и технических ошибок.

В целом следует заключить, что диссертационная работа Костерина Олега Энгельсовича "Эволюция и геогеография дикорастущих форм рода горох (*Pisum L.*)", представленная на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.02.07 - "генетика" является законченным научным исследованием и квалификационным произведением, имеющим теоретическое значение для генетики и теории эволюции, а также имеет реальное значение для практической селекции гороха. Она выполнена на высоком методическом уровне и по актуальности, новизне, достоверности, объему полученного материала и сформулированным выводам, соответствует требованиям п. 9. «Положения о присуждении ученых степеней», предъявляемым к докторским диссертациям на соискание ученой степени доктора наук по специальности 03.02.07 – «Генетика», а сам автор, безусловно, заслуживает искомой степени доктора биологических наук.

27.09.2017

Официальный оппонент  
доктор биологических наук

Сергей Николаевич Горошкевич

по специальности 03.02.01 Ботаника, главный научный сотрудник, 634055, г. Томск, Академический пр., 10/3, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение Институт мониторинга климатических и экологических систем СО РАН (ИМКЭС СО РАН),

Тел.: (3822) 491-907 (раб.), +7 913 850 23 16. E-mail: [gorosh@imces.ru](mailto:gorosh@imces.ru)

Подпись С.Н.Горошкевича заверяю

Ученый секретарь ИМКЭС СО РАН, к.т.н.



О.В.Яблокова