

## ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию

**Шипоша Валерии Дмитриевны**

**«Род *Brachypodium* P. Beauv. на территории Евразии:**

**систематика, география, биоразнообразие, филогения»,**

представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук

по специальности 03.02.01 – Ботаника

Комплексные популяционно-генетические и эколого-климатические исследования конкретных таксонов приобретают особую актуальность в связи с выявлением биоразнообразия, прогнозированием адаптации таксонов к климатическим изменениям, и для выяснения эволюционных процессов, сопровождающих эти изменения на видовом уровне и при гибридизации.

Работа посвящена комплексному изучению представителей рода *Brachypodium* (Poaceae, Polygoneae), который служит модельным объектом для изучения эволюционных процессов в семействе злаков в целом и для решения фундаментальных вопросов сравнительной геномики и экологии. Род содержит диплоиды и аллотетраплоиды, и актуальна задача выяснения их эволюционного и биологического потенциала, зависящего от исходного генетического разнообразия. Эти исследования актуальны также в связи с недостаточной изученностью рода на территории России.

В результате исследования автором уточнен видовой состав рода на территории Евразии, приведен аннотированный список с указанием типовых образцов, распространения и экологических предпочтений. Для избранных видов и групп рода *Brachypodium* впервые с разной степенью подробности и полноты проведены анализы морфологической изменчивости, популяционно-генетического разнообразия видов и гибридов, выявлены эколого-климатические профили и потенциальные ареалы.

Впервые для комплекса *Brachypodium pinnatum* проведено исследование морфологической изменчивости, уточнен видовой состав и ареалы, выявлена морфологическая неоднородность комплекса, получены эколого-климатические

профили видов комплекса и смоделированы их потенциальные ареалы, установлено наличие экологической дифференциации комплекса. Полученные данные задают рамку для дальнейших молекулярно-генетических и кариологических исследований. Для трех видов комплекса *Brachypodium distachyon* с Пиренейского полуострова впервые на основе анализа микросателлитов выявлено популяционно-генетическое разнообразие и вероятные пути расселения. Показано неоднократное возникновение *Brachypodium hybridum* за счет гибридизации родителей с несколько отличным составом SSR-маркеров. Результаты анализа пиренейского комплекса *Brachypodium distachyon* задают вектор для аналогичного исследования сибирских видов в будущем.

Диссертация состоит из введения, 5 глав, заключения, списка литературы (160 работ, из них 140 на иностранных языках), изложена на 155 страницах текста, включая 16 таблиц и 55 рисунков.

Во введении обоснована актуальность работы, приводятся цели и задачи, научная новизна, положения, выносимые на защиту, теоретическая и практическая значимость работы. Достоверность и обоснованность полученных результатов обеспечивается использованием самых современных методов популяционно-генетического и филогенетического анализа и методов выявления эколого-климатической ниши.

Первая глава представляет собой обзор литературы, отражающей сведения о положении трибы Pooideae в филогенетических реконструкциях семейства злаков, о положении рода *Brachypodium* в филогении трибы; показана степень изученности рода *Brachypodium* с точки зрения морфологии, биологии, генетического и геномного разнообразия, эволюции и экологии, роли гибридизации в видообразовании. Приведены оценки времени возникновения и диверсификации рода. Приведены данные о наличии разных цитотипов у видов рода. Показана перспективность моделирования эколого-климатических ниш для оценки ее неоднородности у видов и выявления потенциальных мест встреч и гибридизации. В качестве замечания следует отметить, что таксономическое положение рода в семействе злаков следовало отразить уже в заглавии работы, а не в конце вводной главы. Литературные данные, касающиеся конкретных

исследований и их методов, предваряют также последующие главы 3–5, которые содержат конкретные результаты и их обсуждение.

Вторая глава представляет собой аннотированный список рода *Brachypodium*, однако для 7 видов из 21 отсутствует указание типовых образцов.

Третья глава посвящена анализу морфологической изменчивости комплекса *Brachypodium pinnatum*. Проведен одномерный и многомерный анализ количественных признаков и анализ качественных признаков. К сожалению, приступая к анализу морфологических признаков трех видов, автор не указал области распространения и диагностические признаки, по которым они были идентифицированы до начала анализа. Также неясно, дал ли анализ что-то новое в плане выявления новых диагностических признаков или подтверждения старых. Неясно, учтена ли эндогенная изменчивость. На графиках крайние значения стандартных отклонений от выборочных средних значений признаков сильно перекрываются, но сделан вывод о различиях средних, и не ясно из изложения, насколько статистически достоверны эти различия. Для сопоставления множества средних необходимо было воспользоваться дисперсионным анализом и проверить гипотезу о равенстве средних или применить критерий достоверно значимой разности Тьюки (Tukey's range test) для сравнения множества средних. Непонятно, было ли это сделано.

При описании результатов многомерного анализа по методу главных компонент (рис. 3.1, стр. 37) очевидно, перепутаны местами главные компоненты. Качественные признаки, касающиеся характера опушения, наверняка коррелируют с климатическими параметрами. Широко используя климатические параметры при определении эколого-климатических ниш в главе 4, автор не попытался поискать корреляцию между значениями признаков опушения и климатическими параметрами, что вызывает сожаление. Можно было бы включить климатические данные как дополнительный признак при обработке методом главных компонент и посчитать корреляции между признаками и компонентами.

Размер устьиц и пыльцевых зерен нередко коррелирует с уровнем пloidности, что справедливо отмечено автором. Однако промеры пыльцы в 56 популяциях не представлены, а для длины замыкающих устьичных клеток

приведены только усредненные данные по регионам, что не позволяет выявить полиморфизм, если он есть. Из рис. 3.30 на стр. 65 следует, что *Brachypodium pinnatum* демонстрирует максимальный разброс длины устьиц в Сибири, что позволяет заподозрить наличие более одного цитотипа. То же наблюдается в Средиземноморье у *B. rupestre*. Для выявления внутривидовых вариантов с разным размером устьиц и пыльцы необходимо сопоставление выборок из популяций.

Последний раздел 3 главы назван «Криптические виды *Brachypodium*», однако говорить о криптических видах здесь преждевременно. В данном случае налицо повышенная изменчивость по некоторым признакам и эколого-географическая дифференциация. Не доказано, что внутривидовая изменчивость связана с разными цитотипами или генетически отличными вариантами. Она может быть связана с наличием внутривидовых эколого-климатических рас, что следует также из Главы 4. К концу 3 главы все еще непонятно, по каким признакам различаются эколого-географические расы, и почему их следует считать разными видами, а не подвидами.

Есть ряд неудачных выражений, например, «перекрывающееся, но сегрегированное распределение», «количественное определение криптических видов», «выявление частот изменчивости», «аллотетраплоидные цитотипы», и другие.

Четвертая глава посвящена моделированию и сопоставлению эколого-климатических ниш ряда видов рода, показавших явные межвидовые отличия и неоднородность ниш в пределах видов, что следует считать одной из удач исследования. Поскольку глава дает представление о видовом разнообразии и распространении видов, ее стоило бы поместить вслед за аннотированным списком видов, до анализа морфологической изменчивости у одного из комплексов. Убедительно показана неоднородность климатических ниш у *Brachypodium pinnatum* и *Brachypodium sylvaticum*. Она может быть следствием внутривидовой дифференциации, связанной с адаптацией к разным климатическим условиям. На рис 4.4 не обозначены климатические параметры для ряда гистограмм.

Пятая глава посвящена исследованию генетического разнообразия однолетних видов *Brachypodium* на территории Пиренейского полуострова и

близлежащих островов. Данный раздел работы выполнен на самом современном уровне, с использованием популяционных выборок, и является наиболее убедительным, с точки зрения методов, результатов и обсуждения. Результаты исследования генетического разнообразия по микросателлитным маркерам в популяциях двух видов *Brachypodium stacei* и *Brachypodium distachyon* и их гибрида показали высокую долю гомозигот в популяциях родителей и гибридов, высокую степень изоляции популяций, связанную с преобладанием самоопыления, а также связь генетической неоднородности обоих родительских видов и гибридов с географией и температурой. Следует отметить, что разные частоты аллелей, найденных у видов *Brachypodium* в разных географических районах, более наглядны при отражении их в виде секторальных диаграмм по каждому локусу, нанесенных на географическую карту.

К сожалению, в данной главе не все методы описаны и не все результаты обсуждены достаточно подробно. В частности, непонятно, как определялись фенотипы субгеномов родительских видов на основе SSR аллелей, на которых основаны анализы генома *Brachypodium hybridum*, что затрудняет восприятие. В этом разделе, видимо, применен метод максимального правдоподобия (Maximum Likelihood), но непонятно, в какой программе. Значения Бутстрэп-поддержки на рис. 5.15 не читаются. Опущены методы получения двух хлоропластных участков, на который основана ML-филогения, приведенная на рис. 5.16. Неясно, кто получал эти последовательности, для каких образцов. Некоторые термины употреблены неверно, например «гетерозиготные аллели» (имеются в виду гетерозиготы).

Последняя фраза вывода 2 кажется нам преждевременной, поскольку не показано, что автор имел дело с разными хромосомными расами. Вывод 7 изложен не вполне ясно.

Сделанные замечания не умаляют значимости диссертационного исследования. В целом, диссертационная работа Валерии Дмитриевны Шипоша «Род *Brachypodium* P. Beauv. на территории Евразии: систематика, география, биоразнообразие, филогения» актуальна, имеет важное теоретическое и практическое значение, основана на большом фактическом материале, является

завершенным научным исследованием. Диссертация отвечает требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 № 842 (в редакции от 01.10.2018); ее автор, соискатель Шипоша Валерия Дмитриевна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.01 – Ботаника.

Официальный оппонент

старший научный сотрудник кафедры высших растений  
федерального государственного бюджетного  
образовательного учреждения высшего образования  
«Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова»,  
кандидат биологических наук (03.02.01 – Ботаника)

Юрцева Ольга Витальевна

119991, г. Москва, Ленинские горы, 1;  
тел. (495) 939-10-00; info@rector.msu.ru; www.msu.ru

21.10.2019

Подпись О. В. Юрцевой удостоверяю:

Декан биологического факультета  
МГУ имени М. В. Ломоносова,  
академик



М.П.Кирпичников