

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА НА ДИССЕРТАЦИОННУЮ РАБОТУ

Трифоновой Аи Арслановны

«ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ В ПОПУЛЯЦИЯХ ОСОБО ОХРАНЯЕМЫХ ВИДОВ РАСТЕНИЙ ВОЛГОГРАДСКОЙ ОБЛАСТИ», ПРЕДСТАВЛЕННУЮ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК ПО СПЕЦИАЛЬНОСТИ 03.02.07 – ГЕНЕТИКА

На фоне возрастающей антропогенной нагрузки на природные сообщества, исчезновения или трансформации большого числа естественных местообитаний, глобального изменения климата чрезвычайно острой общебиологической проблемой стал вопрос динамики генетического разнообразия видов. С активным внедрением в практику современных молекулярно-генетических методов, основанных на анализе ДНК-маркеров с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) стала возможной достаточно точная оценка уровня этого разнообразия. Множество научных работ последних десятилетий посвящены не только структуре, но и динамике ДНК-полиморфизма у дикорастущих и культурных растений, в том числе у редких и охраняемых видов. Одним из практических направлений подобных исследований является выработка оптимальной стратегии сохранения редких видов – особенно в условиях, когда невозможно обеспечить сохранность всего ареала. Таким образом, представленная на рассмотрение оппонента диссертационная работа достаточно актуальна по своей тематике. Немаловажно отметить, что предметом изучения стали особо охраняемые виды растений с территории России. К настоящему времени число исследований, посвящённых динамике генетического разнообразия у видов, произрастающих в России, невелико. В то же время проблема сохранения редких видов России не утрачивает своей значимости – скорее напротив, становится всё более острой, требующей самых современных и оперативных мер для своего решения. Сложно сомневаться в актуальности темы диссертационной работы.

Коль скоро редкие виды России практически не изучены с точки зрения генетического полиморфизма, исследование, подобное настоящей диссертационной работе, в некотором смысле «обречено» на новизну. Автором впервые были получены данные о генетическом разнообразии трёх охраняемых видов Волгоградской области – бальзамина сарматской, лука регелевского и полыни белойлочной. Часть полученных результатов значимы для описания изменчивости в локальных популяциях редких видов, планирования программ их сохранения и тому подобных прикладных задач. Однако были получены данные, которые имеют более общебиологический характер. В частности, Трифоновой А.А. в ходе выполнения диссертационной работы были впервые получены нуклеотидные последовательности ядерного и хлоропластного маркеров, используемых в систематике. Эти данные имеют значение для определения таксономического положения изучаемых видов, и их родственные отношения действительно были охарактеризованы в рамках представленной диссертации. Таким образом, полученные результаты имеют не

только узколокальную ценность, но и значимы для решения задач, не связанных с конкретным регионом. Также большой интерес представляют данные, которые помогают лучше понять особенности изученных видов, вносящие вклад в формирование генетической изменчивости в популяциях. Таково, например, ценное обсуждение вклада разных типов размножения в формирование полиморфизма у полыни белойлочной (с. 167).

Обсуждаемая диссертационная работа построена по традиционному плану. После введения приведён обзор литературы (глава 1). Он разделён на три логичные части, посвящённые соответственно сохранению генофондов растений, использованию молекулярных маркеров в изучении генетического полиморфизма и трём объектам исследования. Обзор литературы написан чрезвычайно подробно, в список использованных источников вошли 327 публикаций. В ряде случаев автор пыталась включить в обзор вообще все доступные источники, посвящённые генетическому полиморфизму у редких видов. Цитирование большого числа работ по генетическому полиморфизму редких растений и краткий пересказ основных результатов этих исследований читается с трудом. Возможно, стоило сосредоточиться хотя бы на видах, таксономически близких тем, что были изучены автором.

Раздел «Материалы и методы» достаточно подробный и содержит описания всех использованных методик. Все использованные в ходе работы типы ДНК-маркеров достаточно традиционны. Стоит заметить, что методы RAPD и ISSR, хотя и позволяют охарактеризовать полиморфизм у малоизученных видов без предварительных сведений о нуклеотидной последовательности генома, уже являются не очень популярными. Причиной тому стало общепринятое мнение о невысоком уровне воспроизводимости результатов, получаемых при подобном маркировании; особенно это относится к RAPD-маркерам. Таким образом, использованию таких маркеров в генотипировании должны предшествовать некоторые исследования того, насколько хорошо воспроизводятся полученные с их помощью результаты. Судя по дальнейшему тексту работы, подобная оценка была произведена в двукратной повторности.

Основная часть работы (глава 3 – «Результаты и обсуждение») изложена достаточно подробно и при чтении воспринимается несколько монотонно, хотя нет никаких сомнений, что проделана очень большая экспериментальная работа. Используются подходы, в основном хорошо себя зарекомендовавшие в изучении внутривидовой изменчивости. Автором применена адекватная статистическая обработка. Текст диссертации достаточно хорошо снабжён иллюстрациями и таблицами; также есть фотографии электрофореграмм, содержащих первичные данные.

К обсуждаемой диссертационной работе можно предъявить ряд вопросов и замечаний.

1. Некоторые сомнения вызывает выделение отсутствия амплифицируемого фрагмента в качестве самостоятельной категории («ноль-аллель»). В частности,

совершенно непонятно, как интерпретировать случай, когда на электрофореze визуализируется единственный фрагмент: как гомозиготность по одному из аллелей или как гетерозиготность с участием «ноль-аллеля». В работе в качестве меры сходства между образцами использован коэффициент Дайса, не учитывающий сходство по отсутствию фрагмента. Более того, при использовании праймеров, изначально разработанных для других видов (как в случае микросателлитных маркеров), причины отсутствия продукта могут быть очень разными, но на электрофореграмме будет отмечен «ноль-аллель». Эта категория выглядит сомнительной.

2. Несмотря на то, что воспроизводимость использованных маркеров была проверена, непривычно видеть электрофореграммы без дорожки, соответствующей отрицательному контролю. Использование подобного контроля традиционно для мультилокусных ДНК-маркеров со случайным ампликоном (в первую очередь, это относится к RAPD).

3. Не совсем понятно, какой смысл имеет сравнение оригинальных результатов с данными, полученными в других исследованиях. С одной стороны, обсуждение результатов предполагает сопоставление с материалом предшествующих сходных работ. С другой стороны, неясно, что даёт сравнение, например, собственных данных автора о внутривидовой изменчивости *Scilloideae* с тем, что известно о популяциях других видов из подсемейства *Scilloideae* (с. 85-86). Сравнимые данные получены для разных видов, имеющих разные стратегии размножения и обитающих в разных условиях, в популяциях разной численности и т.д. По мнению оппонента, едва ли стоит пытаться сделать собственные результаты, полученные для популяций Волгоградской области, материалом для глобального сравнения: они заведомо носят локальный характер, что совершенно не умаляет их ценности.

4. В ряде случаев размеры сравниваемых популяций очень малы. Были ли для анализа взяты все растения, составляющие популяцию? Если да, то, вероятно, более корректным было бы считать некоторые выборки не самостоятельными популяциями, а объединить (например, группы «хутор Белогорский №1» и «хутор Белогорский №2»). Если были собраны образцы лишь с части растений популяции, то едва ли оправданы суждения об уникальности того или иного аллеля для популяции. В самом деле, если аллель, встреченный в выборке из 30 образцов, не был обнаружен в группе из 7 образцов, однозначно ли это признак того, что он уникален для первой выборки?

5. Есть некоторое количество замечаний к оформлению и стилистике работы. Так, например, на Рис. 3.15 и некоторых других отсутствует дорожка, соответствующая маркеру молекулярной массы, что неудачно. Едва ли понятие «смешанный генотип» применимо к популяциям. В тексте содержатся опечатки, есть сомнительные моменты с точки зрения вёрстки.


Остаётся надеяться, что возникшие у оппонента вопросы и замечания будут учтены в дальнейшей работе соискателя учёной степени. Перечисленные недочёты отчасти носят

дискуссионный характер и не снижают общего – достаточно высокого – впечатления от работы.

Можно резюмировать, что по актуальности и объёму проведённых исследований диссертационная работа Трифионовой Аи Арслановны «Генетическое разнообразие в популяциях особо охраняемых видов растений Волгоградской области» вполне соответствует требованиям п. 9 «Положения о присуждении учёных степеней» от 27 сентября 2013 г. № 842, утверждённого постановлением Правительства Российской Федерации, предъявляемым к диссертациям на соискание учёной степени кандидата биологических наук. Автор работы заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – генетика.

22.09.2018

Канд. биол. наук,
доцент каф. генетики
Биологического факультета
МГУ имени М.В.Ломоносова


_____ Синушин А.А.

Тел.: +7 (495) 939-54-90

E-mail: asinjushin@mail.ru

ПОДПИСЬ РУКИ
ЗАВЕРЯЮ

ЗАВ. КАНЦЕЛЯРИЕЙ БИОЛОГИЧЕСКОГО ФАКУЛЬТЕТА

