



"Утверждаю"

профессором по научной работе
Санкт-Петербургского университета

Н. Г. Скворцов
"22" 04 2011 г.

Отзыв

Ведущей организации о диссертации
Николая Николаевича Носова

"Молекулярно-филогенетический анализ видов *Poa* L.
флоры России",

представленной на соискание учёной степени кандидата биологических
наук по специальности 03.02.01 – ботаника

Род *Poa* L., мятлик, насчитывает более 500 видов, является одним из крупнейших родов семейства *Poaceae* Varnhart и непростым в таксономическом отношении. Многие из видов рода – полиплоиды, некоторые склонны к апомиксису, нередки и межвидовые гибриды. Эти обстоятельства затрудняют построение системы рода, вносят неопределённость в разграничение видов. Наряду с традиционным подходом к таксономическим и филогенетическим исследованиям растений на основе сравнительно-морфологического метода, начиная с 90-х гг. 20-го века широкое применение среди ботаников находят методы молекулярной систематики. Род *Poa* не стал исключением, последовательности участка *trnT-trnF* хлоропластного генома мятликов были исследованы L. Gillespie и её соавторами (Gillespie et al., 2006). Однако в этой работе не были учтены многие критические виды, произрастающие на территории России. Поэтому молекулярно-филогенетическое исследование видов *Poa* флоры России, предпринятое Н. Н. Носовым, является актуальным.

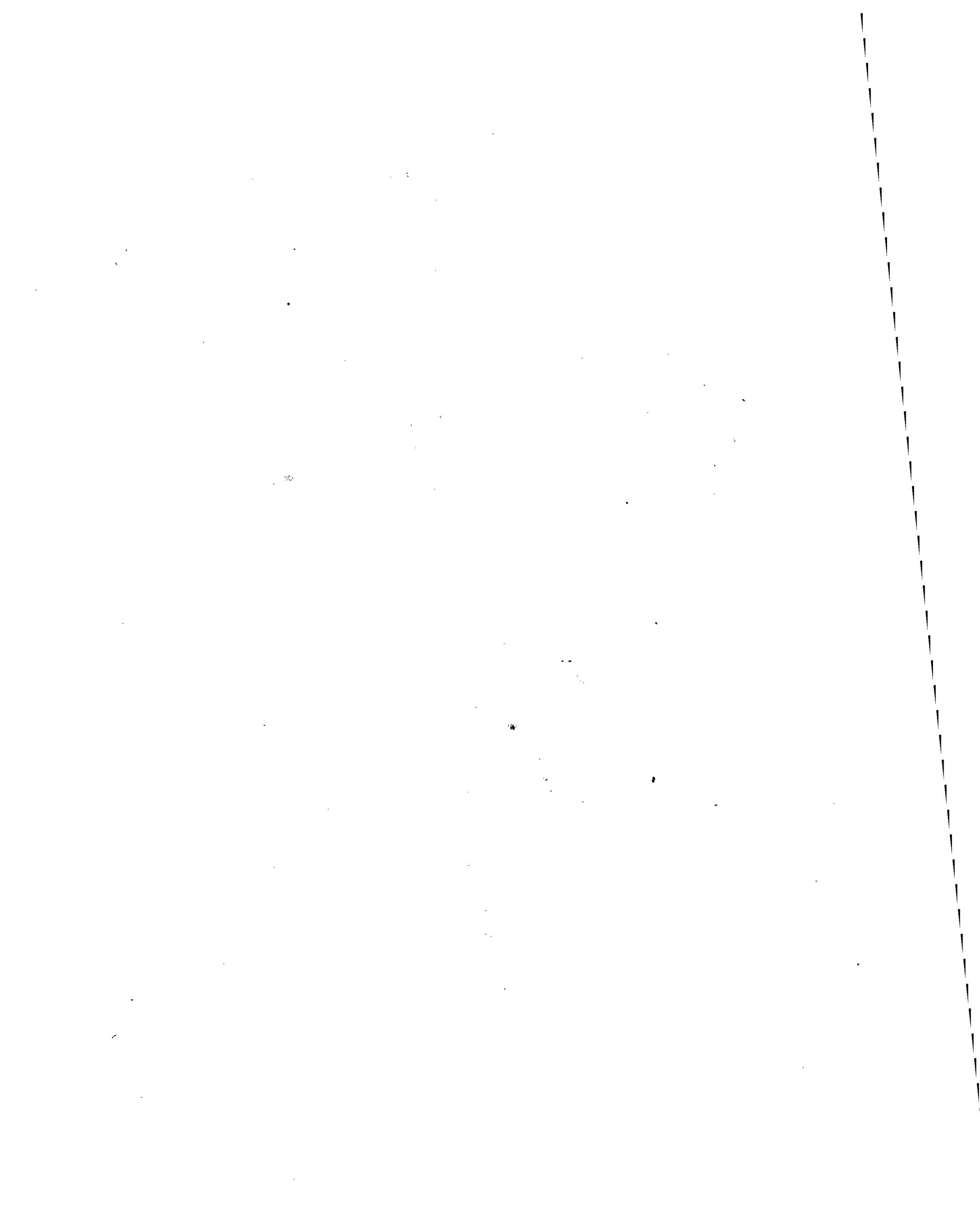
Основным методом исследования Н. Н. Носова был молекулярно-филогенетический анализ. Материал для исследований собран во время экспедиций сотрудников лаборатории Биосистематики БИН РАН в разных регионах России, а также предоставлен сотрудниками лаборатории Растительности Крайнего Севера БИН РАН. В ходе работы впервые секвенированы последовательности участка ITS1-ген 5.8 рРНК-ITS2 ядерного генома у 42 видов *Poa* s.l. и некоторых родственных *Poa* родов и последовательности участков *trnT-trnL* и *trnL-trnF* генома хлоропластов у 10 видов *Poa* s.l.

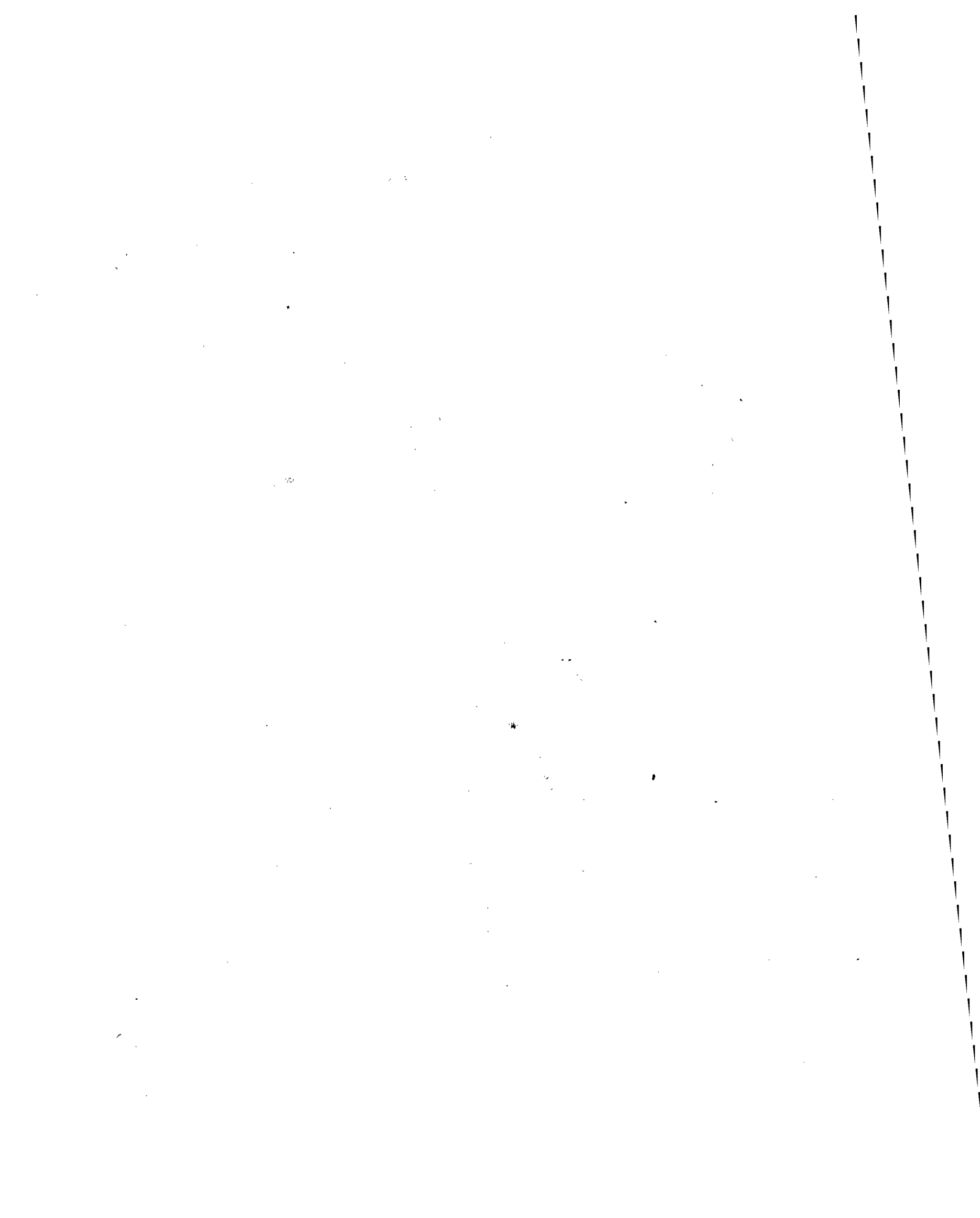
Глава первая диссертации посвящена истории таксономического изучения рода *Poa*. Автор даёт обзор важнейших систематических работ по роду *Poa* и близким к нему родам, рассматривает проблему внутривидового деления *Poa*, приводит варианты системы рода, предложенные P. Ascherson и P. Graebner (1900), P. Ю. Рожевицем (1934), J. A. Nannfeldt (1935), Н. Н. Цвелёвым (1976), М. В. Олоновой (1998), R. Soreng (2007) и другими авторами. В этой

главе подробно рассмотрены публикации отечественных агростологов Н. Н. Цвелёва, Н. С. Пробатовой, М. В. Олоновой, посвященные систематике рода в целом, а также отдельных секций или групп видов. Пристальное внимание диссертанта к работам российских учёных вполне оправдано, поскольку оригинальные данные автора, представленные в диссертации, получены на материале с территории России, а научные достижения отечественных специалистов в этой области пользуются заслуженным уважением в мире. В особых разделах первой главы диссертации представлены история кариосистематических исследований *Poa* и обзор молекулярно-филогенетических исследований рода, проведённых за последние два десятилетия. Автор осветил результаты исследований выдающихся отечественных специалистов в области кариосистематики злаков Н. П. Авдулова (1928, 1931), А. П. Соколовской и О. С. Стрелковой (1940, 1960, 1962), А. П. Соколовской и Н. С. Пробатовой (1968, 1973). Отмечено важное значение результатов, полученных известными зарубежными исследователями Т. G. Tutin (1957), А. Müntzing (1940, 1954), J. Clausen (1961) и др. Показано большое значение в эволюции мятликов на уровне вида явления авто- и аллополиплоидии, отмечена роль апомиксиса в стабилизации форм гибридного происхождения. Отмечены немногочисленные работы, выполненные с использованием изоферментного метода (Brysting et al., 1997; Сарапульцев, 1998). Обсуждены результаты исследований рестрикционных фрагментов хлоропластной ДНК (Soreng, 1990; Gillespie, 2001; Gillespie, Soreng, 2005), а также исследований нуклеотидных последовательностей хлоропластных и ядерных ДНК (Stoneberg et al., 2004; Patterson et al., 2005; Родионов и др., 2007).

Во второй главе диссертации представлены сведения о материалах и методиках, применявшихся в молекулярно-филогенетическом исследовании. Третья, наиболее объёмная глава диссертации, посвящена результатам проведённого исследования и их обсуждению. Рассмотрена общая характеристика последовательностей ITS1 и ITS2 у видов *Poa* и близких к нему родов *Arctopoa* (Griseb.) Probatova, *Austrofestuca* (Tzvelev) E. B. Alexeev, *Eremopoa* Roshev., *Hyalopoa* (Tzvelev) Tzvelev, *Nicoraepoa* Soreng et L. J. Gillespie. Данные автора отчасти подтверждают установленную ранее при изучении рода *Helictotrichon* Bess. закономерность (Greibenstein et al., 1998), согласно которой содержание GC-пар нуклеотидов у однолетних видов меньше, чем у многолетних видов того же рода. У двух изученных однолетних видов мятлика из секции *Ochlopoa* (Asch. et Graebn.) Jirásek выявлено самое низкое содержание GC-пар нуклеотидов в ITS1 и ITS2. Установлено, что в ITS1 содержание GC-пар нуклеотидов снижается при переходе от базальных видов к филогенетически более молодым видам. Менее закономерно изменяется среди исследованных видов содержание GC-пар нуклеотидов в ITS2, хотя у видов из секций *Alpinae* (Nyman) Stapf и *Ochlopoa* оно низкое.

Автор исследовал внутри- и межвидовую изменчивость первичной последовательности ITS1 и ITS2 у видов *Poa* s.l. Данные по генетическим расстояниям между секциями *Poa* s.str. и близкими к *Poa* родами *Eremopoa* Roshev. и *Hyalopoa* (Tzvelev) Tzvelev представлены в таблице 3. Отметим





небольшую неточность, допущенную при оформлении этой таблицы: в ней приведено родовое название *Nicoraepoa*, хотя из подписи к таблице следует, что автор принимает этот таксон в ранге подрода. Необходимо уточнить, в каком ранге автор признаёт таксоны, рассматриваемые в тексте диссертации то как особые роды *Arctopoa* и *Nicoraepoa*, то как подроды *Poa* s.l. В результате проведённого сравнения сделан вывод о том, что генетические расстояния между секциями подрода *Poa* сходны с генетическими расстояниями между родами подтрибы *Poinae* Stapf, что может быть связано с эволюционной молодостью родов, а также с происходившими в прошлом межвидовыми и межродовыми гибридизациями.

Для молекулярно-филогенетического анализа Н. Н. Носовым были использованы как собственные результаты, так и последовательности ITS1 – гена 5.8S рРНК – ITS2 40 видов, доступные через Генбанк (NCBI). На основе проведённого анализа были построены кладограммы (филогенетические деревья последовательностей ITS1 – гена 5.8S рРНК – ITS2) тремя методами: методом связывания ближайших соседей (NJ), методом максимальной парсимонии (MP) и методом байесовского филогенетического анализа (BA). Все виды анализа дали сходные результаты, сопоставимые с существующими системами рода *Poa*. С помощью методов молекулярной филогенетики впервые показано, что род *Poa* в традиционном (широком) понимании его объёма парафилетичен. Представители подродов *Arctopoa* и *Andinae* *Nicora* далеко отстоят от *Poa* s.str. и группируются с другими базальными родами из подтрибы *Poinae*. В составе *Poa* s.str. выделяются базальные клады, включающие виды секций *Ochlopoa*, *Alpinae* + *P. bulbosa* (секция *Bolbophorum* Asch. et Graebn.).

В кладограмме BA выделяется умеренно поддержанная клада, включающая *Parodichloa* + (*Ochlopoa* + *Pandemos*) + (*Alpinae* + *Bolbophorum*). Отдельную кладу на этой кладограмме (С. 105, рис. 9) формируют представители секций *Stenopoa* Dumort., *Tichopoa* Asch. et Graebn., *Oreinos* Asch. et Graebn., *Secundae* V. Marsh ex Soreng и *P. pseudoabbreviata* Roshev. из секции *Abbreviatae* Nannf. ex Tzvelev. Сделан вывод об эволюционной молодости этой группы секций. Виды секций *Homalopoa* Dumort., *Macropoa* Fr. Herm. ex Tzvelev, *Nivicolae* (Roshev.) Probat и *Poa* занимают неопределённое положение на кладограмме рода. Обсуждено положение на кладограммах 2 небольших родов, родственных *Poa*. Два образца *Hyalopoa pontica* (Balansa) Tzvelev с Кавказа занимали различное положение на кладограмме BA: первый демонстрировал сходство с *Poa* s.str., другой же объединялся в одну кладу с родами *Catabrosa* P. Beauv. и *Paracolpodium* (Tzvelev) Tzvelev. Автор считает, что различие между ITS-последовательностями *H. pontica* свидетельствует о гибридном происхождении этого вида. На этой же кладограмме *Eremopoa altaica* (Trin.) Roshev. занимает неопределённое положение среди секций *Homalopoa*, *Macropoa*, *Nivicolae* и *Poa*. Сделан вывод о межполюсной дизъюнкции некоторых родственных групп мятликов. Так, по результатам анализа ITS-последовательностей группа, включающая 11 тетраплоидных видов *Poa* из Новой Зеландии, оказалась в одной кладе с представителями

секции *Malacanthae* (Roshev.) Olan., объединяющей северопацифические и арктоальпийские виды.

Было проведено исследование последовательностей и вторичной структуры 5.8S рРНК по специфическим заменам нуклеотидов, отмечено сходство видов из подродов *Arctopoa* и *Andinae*. Специфические замены отмечены также для секций *Ochlopoa* и *Pandemos* и у 9 видов клады (*Stenopoa* + *Oreinos* + *Tichopoa* + *P. hartzii* + *P. pseudoabbreviata*), что, по мнению автора, указывает на филогенетическую близость этих секций.

Автором диссертации был проведён молекулярно-филогенетический анализ участка trnT-trnL и участка trnL-trnF хлоропластных последовательностей у видов *Poa* и некоторых представителей близких к нему родов, основанный как на собственных результатах, так и на доступных через Генбанк (NCBI) последовательностях 43 видов *Poa* и других родов. Последовательности были проанализированы отдельно, т.к. для ряда видов была установлена лишь одна из двух последовательностей. На основе проведённого анализа построены кладограммы методом связывания ближайших соседей, максимальной парсимонии и байесовского анализа. В кладограмме, построенной для последовательностей trnT-trnL методом максимальной парсимонии, выделяется клада, включающая подрод *Arctopoa* и секции *Ochlopoa* + *Alpinae* + *Bolbophorum* из типового подрода. *Poa trivialis* (секция *Pandemos*) монофилетичен с группой секций *Stenopoa* + *Tichopoa* + *P. veresczaginii* (секция *Nivicolae*) + *P. leptocoma* (секция *Oreinos*). Высокой поддержкой во всех типах анализа отличается клада, включающая секции *Poa*, *Malacanthae*, *Homalopoa* и *P. densa* (*Bolbophorum*).

По мнению автора диссертации, три кладограммы, построенные для последовательностей trnL-trnF разными методами, топологически не различаются, хотя соответствующие клады в них поддержаны в разной степени (С. 166). Это не вполне верно. Так, виды *Arctopoa* образуют сестринскую кладу по отношению к кладе *Dupontia* + *Arctagrostis* в кладограммах, построенных методом связывания ближайших соседей (рис. 33) и байесовского анализа (рис. 35). Однако на кладограмме, построенной методом максимальной парсимонии (рис. 34), виды *Arctopoa* образуют сестринскую кладу по отношению к кладе *Poa s.str.* + *Eremopoa*. На кладограммах, построенных методом максимальной парсимонии (рис. 34) и байесовского анализа (рис. 35) секции *Ochlopoa* + *Alpinae* + *Bolbophorum* монофилетичны при умеренной поддержке, а на кладограмме, построенной методом связывания ближайших соседей (рис. 33), секция *Ochlopoa* формирует отдельную кладу, сестринскую по отношению к прочим представителям *Poa*. Как и при анализе участка trnT-trnL выделяется клада *Stenopoa* + *Tichopoa* + *P. veresczaginii* (секция *Nivicolae*) + *P. leptocoma* (секция *Oreinos*). Ещё одной кладой, слабо поддержанной в кладограммах, построенных методом связывания ближайших соседей и методом максимальной парсимонии, и хорошо поддержанной в кладограмме, построенной с использованием байесовского анализа, является группа *Homalopoa* + *Madropoa* + *Dioicopoa* + *Dasypoa* + *Dissanthelium* + “*Punapoa*”. Автор отмечает случаи несоответствия в схемах, построенных по участку ITS1

– гена 5.8S рРНК – ITS2 ядерных генов и по участку trnT-trnF хлоропластного генома, что можно рассматривать как проявление «сетчатой эволюции».

В диссертации обсуждено изменение вторичной структуры транскрипта гена 5.8S рРНК у видов трибы *Poeae* R.Br. и у представителей других триб подсемейства *Pooideae* A.Br. Отмечено, что схема эволюционного изменения последовательности 5.8S рРНК соответствует высказанным в систематической литературе представлениям об эволюции подсемейства *Pooideae* от представителей древних триб *Brachypodieae* Hayek, *Stipeae* Dumort., *Meliceae* Endl. к трибам *Triticeae* Dumort. и *Bromeae* Dumort., а от них к *Aveneae* Dumort. и *Poeae*.

Список литературы содержит 226 работ, из них 146 на иностранных языках.

Несмотря на общее благоприятное впечатление от диссертации, у нас есть некоторые замечания, касающиеся оформления и содержания работы. Вряд ли автору стоило выделять особую вторую часть главы 3-й «Общая характеристика гена 5.8S рРНК у видов *Poa sensu lato*», т.к. эта часть состоит из трёх предложений; содержащуюся в этой части информацию логично было бы изложить в начале шестой части третьей главы «Характеристика первичной и вторичной структуры 5.8S рРНК видов *Poa*». Также не следовало в третьей части третьей главы «Общая характеристика внутривидовой и межвидовой изменчивости первичных последовательностей участка ITS1-ген 5.8S рРНК-ITS2 у видов *Poa sensu lato*» выделять единственный (!) подраздел «Изменчивость последовательностей участка ITS1 и ITS2 у видов *Poa sensu lato*». Кладограмма на рис. 8 (С. 103) не до конца отредактирована: 2 образца, представляющие аутгруппу, *Triticum monococcum* L. и *Deschampsia flexuosa* (L.) Trin., находятся по разные стороны кладограммы. Рисунки 10-23, представляющие внешний вид некоторых образцов *Poa* и детали строения этих образцов (колоски), представлены без масштабных линеек. В подписях к кладограммам на рис. 30, 31, 33, 34 не указано, что числа на схеме представляют бутстрэп-индекс. На рис. 9, 32, 35 значения постериорной вероятности представлен в процентах, хотя более принято выражать эти значения в долях единицы. Имена иностранных авторов без особой системы приводятся то на их родном языке, то в транслитерации, например R. Soreng (С. 58, 60, 100) и Р. Соренг (С. 111, 118, 126, 167), а имя L. Gillespie приведено только на латинице (С. 58, 100, 174).

Список литературы весьма полный, но его хорошо дополнили бы работы Р. Ю. Рожевица о Камчатке как местном центре эндемизма мятликов (1927) и А. П. Соколовской о полиплоидии среди цветковых растений разных ландшафтов СССР (1982). Есть мелкие недочёты в оформлении списка литературы. Например, не указан год выхода в свет работы J. V. Hair и E. J. Beuzenberg, посвящённой полиплоидии у мятликов из Новой Зеландии.

Особое сожаление вызывает то, что многочисленные высказывания автора, касающиеся собственно систематики рода *Poa*, его подродов, секций и близких к мятлику родов почти не отражены в выводах. Так, автор в выводе 2 упоминает подроды *Arctopoa* и *Andinae*, хотя в обсуждении результатов

молекулярно-филогенетического анализа неоднократно указывает на обособленность этих таксонов от *Poa* s.str. и, фактически, поддерживает их родовой статус (С. 90). Критикуя предложение L. Gillespie и её соавторов объединить секции *Ochlopoa*, *Alpinae* и *Bolbophorum* в один подрод *Ochlopoa* (С. 173), автор ни словом не упомянул об этом в выводах. Отказ от таксономической интерпретации результатов исследования, по нашему мнению, снижает ценность выводов диссертации. Наконец, в выводе 2 следовало бы указать, что в кладу, обозначенную как «*Poa* s.str.» входят также олиготипные роды *Austrofestuca* и *Eremopoa*. Этот факт необходимо интерпретировать с точки зрения монофилетичности или парафилетичности *Poa* s.str.

К сожалению, в тексте диссертации встречаются неудачно сформулированные фразы, например «Это лесной циркумбореальный вид с остистыми нижними цветковыми чешуями, причём они отходят чуть ниже верхушки (а не из неё, как у представителей *Festucinae*)» (С. 109) или «...Данные анализа хлоропластных генов говорят о родстве *Cinna* с *Trisetum* – видом «классических» *Aveneae*» (С. 110). Есть и неудачные выражения, например «гибридогенное происхождение» (С. 100). На С. 125 автор перечисляет «типичные виды секции *Malacanthae* – *P. smirnowii*, *P. mariae*, *P. lanata*»; очевидно, автор имел в виду не «типичные», а «типичные» виды секции. Следует с удовлетворением отметить, что в тексте диссертации очень мало опечаток.

Высказанные нами замечания не могут повлиять на общую высокую оценку данной диссертации. В результате проведённой Н. Н. Носовым научной работы получены оригинальные данные, имеющие большое теоретическое значение. Впервые выявлено неопределённое базальное положение на кладограмме секции *Pandemos*, подтверждена обоснованность разделения широко понимаемой секции *Poa* на родственные друг другу секции *Alpinae* и *Bolbophorum* и сравнительно удалённую от них секцию *Poa*. Выявлены интересные случаи сетчатой эволюции во многих секциях рода. Сделан вывод о парафилетичности рода *Poa* s.lat., включающего подроды *Arctopoa* и *Andinae*. Уточнены родственные связи некоторых критических видов *Poa*, отмечены различия на молекулярном уровне между видами секции *Abbreviatae*, *P. pseudoabbreviata* и *P. abbreviata* R.Br., впервые выявлено родство *P. densa* Troitzky с видами секций *Macropoa* и *Homalopoa*.

Практическое значение диссертации определяется возможностью использования её материалов в преподавании теоретических курсов по систематике растений и молекулярной филогенетике в высших учебных заведениях, а также в таксономических исследованиях.

Выводы диссертации вполне достоверны, т.к. они основаны на тщательном и аккуратном изучении большого фактического материала. Диссертация Н. Н. Носова производит хорошее впечатление, содержит много нового, оригинального материала, имеет теоретическое и практическое значение и достойна положительной оценки.

Автореферат полностью соответствует содержанию диссертации, её основные положения опубликованы в 16 работах, в том числе 6 статьях в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК.

Считаем, что рассматриваемая диссертация отвечает требованиям пункта 8 положения II ВАК «О порядке присуждения учёных степеней», а её автор, Николай Николаевич Носов, заслуживает присуждения учёной степени кандидата биологических наук.

Отзыв составлен доцентом кафедры ботаники биолого-почвенного факультета СПбГУ, к.б.н. Ю. А. Иваненко.

Отзыв рассмотрен и утверждён на заседании кафедры ботаники биолого-почвенного факультете Санкт-Петербургского государственного университета протокол № 11 от 19.04.2011 г.

Заведующий кафедрой ботаники СПбГУ,
Доктор биологических наук
А. А. Паутов



Доцент кафедры ботаники СПбГУ, к.б.н.
Ю. А. Иваненко



