

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 005.008.01
НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО
УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ «НАЦИОНАЛЬНЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР МОРСКОЙ
БИОЛОГИИ» ДАЛЬНЕВОСТОЧНОГО ОТДЕЛЕНИЯ РОССИЙСКОЙ
АКАДЕМИИ НАУК ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ
СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 20 октября 2017 г. № 6

О присуждении Никулину Артуру Юрьевичу, гражданину России, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Филогенетические связи и филогеография *Orostachys spinosa* (L.) Sweet (Crassulaceae J. St.-Hil.) по данным анализа нуклеотидных последовательностей межгенных спейсеров ядерной и хлоропластной ДНК» по специальности 03.02.07 – генетика принята к защите 19 июля 2017 г., протокол № 5, диссертационным советом Д 005.008.01 на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Национальный научный центр морской биологии» Дальневосточного отделения Российской академии наук, 690041, г. Владивосток, ул. Пальчевского, д. 17, приказ Минобрнауки России 105/нк от 11.04.2012 г.

Соискатель Никулин Артур Юрьевич, 1991 года рождения. В 2013 году соискатель окончил Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Дальневосточный федеральный университет» по специальности «биохимия». В 2017 году соискатель окончил очную аспирантуру при Федеральном государственном бюджетном учреждении науки «Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии» Дальневосточного отделения Российской академии наук, работает в должности ведущего инженера в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки «Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии» Дальневосточного отделения Российской академии наук.

Диссертация выполнена в лаборатории низших растений Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии» Дальневосточного отделения Российской академии наук.

Научный руководитель – доктор биологических наук Гончаров Андрей Анатольевич, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии» Дальневосточного отделения Российской академии наук, врио директора.

Официальные оппоненты:

1. Семериков Владимир Леонидович, доктор биологических наук, заведующий лабораторией молекулярной экологии растений, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт экологии растений и животных Уральского отделения Российской академии наук
2. Туранов Сергей Викторович, кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории молекулярной систематики, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Национальный научный центр морской биологии» Дальневосточного отделения Российской академии наук

дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Ботанический институт им. В.Л. Комарова Российской академии наук (БИН РАН), г. Санкт-Петербург, в своем положительном заключении, подписанном Александром Викентьевичем Родионовым, доктором биологических наук, профессором, заведующим лабораторией биосистематики и цитологии, указала, что по своей актуальности, теоретическим и практическим результатам, использованным методам и научной новизне диссертационная работа отвечает требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание степени кандидата наук, и критериям, установленным п. 9. «Положения о присуждении научных степеней», утвержденным постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 г., а автор заслуживает присуждения искомой степени.

Соискатель имеет 10 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации **10**, работ, опубликованных в рецензируемых научных изданиях, **2**. Общий объем опубликованных работ **4,4** п.л., работ по теме диссертации – **4,4** п.л. Работы посвящены изучению генетического разнообразия и популяционной структуры вида *Orostachys spinosa*, а также родственных отношений между другими видами трибы Telephieae (Sempervivoideae, Crassulaceae). Во всех 10 работах Никулин А.Ю. является первым автором, что свидетельствует о большом личном вкладе соискателя. В статьях и в материалах конференций опубликованы основные результаты исследований.

Наиболее значимые работы по теме диссертации:

1. **Никулин А.Ю.**, Никулин В.Ю., Гончаров А.А. К вопросу о филогенетической структуре трибы Telephieae (Sempervivoideae, Crassulaceae) по данным сравнения нуклеотидных последовательностей ITS-региона рДНК // Ботанический журнал. 2015. Т. 100, № 10. С. 1030–1040.

2. **Nikulin A.Yu.**, Nikulin V.Yu., Gontcharova S.B., Gontcharov A.A. ITS rDNA sequence comparisons resolve phylogenetic relationships in *Orostachys* subsection Appendiculatae (Crassulaceae) // Plant Systematics and Evolution. 2015. Vol. 301, № 5. P. 1441–1453.

3. **Nikulin A.Y.**, Gontcharova S.B. Phylogeography of *Orostachys spinosa* (L.) C.A. Mey (Crassulaceae DC.) inferred from variation in non-coding chloroplast DNA sequences // Modern achievements in population, evolutionary and ecological genetics: International Symposium, Vladivostok – Vostok Marine Biological Station, September 2–6, 2013: Program & Abstracts. – Vladivostok, 2013. P. 55.

На диссертацию и автореферат поступило 16 положительных отзывов.

Доцент кафедры биоэкологии и биологического образования Башкирского государственного педагогического университета им. М. Акмуллы д.б.н. Гайсина Л.А. спрашивает, наблюдается ли какая-либо корреляция между генетическим и морфологическим разнообразием популяций *O. spinosa*, и отмечает, что включение в автореферат иллюстраций исследуемых объектов украсило бы работу. Зав. кафедрой генетики Башкирского государственного педагогического университета им. М. Акмуллы д.б.н. профессор В.Ю.

Горбунова спрашивает: учитывая, что хлоропластный геном наследуется только по материнской линии, нельзя ли для филогении использовать более консервативные межгенные спейсеры и ген хлоропластов. Старший научный сотрудник лаб. систематики растений и флорогенетики Центрального сибирского ботанического сада СО РАН к.б.н. Ковтонюк Н.К. и научный сотрудник лаб. интродукции редких и исчезающих видов растений Центрального сибирского ботанического сада СО РАН к.б.н. Кобозева Е.В. отметили, что: 1) в автореферате не указана секция рода *Orostachys*, которой принадлежат исследуемые подсекции; 2) авторы трибы не указаны при первом упоминании, хотя встречаются позднее; 3) оценка уровней поддержки ветвей филогенетических деревьев, построенных разными способами (ML, MP и PP), дана несколько субъективно; 4) в черно-белой печати автореферата на сети хлоротипов по тону очень трудно распознать различные популяции и цифры. Старший научный сотрудник лаб. экотоксикологии популяций и сообществ Института экологии растений и животных УрО РАН к.б.н. Микрюков В.С. заметил, что автор мог бы попробовать обобщить полученную топологию филогенетических деревьев трибы *Telephieae*, которые были построены с помощью 3 методов (ML/MP/BI), с использованием подходов филогенетических супердеревьев, сетей или ретикулограмм. Ведущий научный сотрудник лаб. биосистематики и цитологии Ботанического института им. В.Л. Комарова РАН д.б.н. Шнеер В.С. отметила, что: 1) количественные показатели высокой дивергенции последовательностей ITS-региона не приведены ни для группы в целом, ни для отдельных видов; 2) черно-белый рисунок в автореферате не так нагляден, как цветной в диссертации; 3) на рис. 4 не отражен размер выборок и не прокомментировано, оказывало ли это влияние на количество хлоротипов в популяции; 4) из текста автореферата непонятно, сколько популяций *O. chanetii* и других видов было взято для исследования.

Отзывы без замечаний подписали: профессор каф. биохимии и биотехнологии Башкирского государственного университета д.б.н., проф. Абдуллин Ш.Р., ведущий научный сотрудник лаб. геносистематики животных Научно-исследовательского института физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского МГУ д.б.н. Алёшин В.В., ведущий научный сотрудник лаб. молекулярной биологии и нанобиотехнологии Института биохимии и генетики

Уфимского НЦ РАН д.б.н. Баймиев А.Х., старший научный сотрудник лаб. экотоксикологии популяций и сообществ Института экологии растений и животных УрО РАН к.б.н. Дуля О.В., научный руководитель Федерального научного центра биоразнообразия наземной биоты восточной Азии ДВО РАН академик РАН Журавлев Ю.Н. и научный сотрудник лаб. биотехнологии этого центра к.б.н. Холина А.Б., старший научный сотрудник лаб. биосистематики и цитологии Ботанического института им. В.Л. Комарова РАН к.б.н. Коцеруба В.В., старший научный сотрудник лаб. молекулярной биологии и нанобиотехнологии Института биохимии и генетики Уфимского НЦ РАН д.б.н. Кулуев Б.Р., старший научный сотрудник лаб. низших растений Центрального сибирского ботанического сада СО РАН к.б.н. Романов Р.Е., ведущий научный сотрудник лаб. физиологии растений Уфимского института биологии РАН к.б.н. Сельдимирова О.А., директор Сахалинского филиала Ботанического сада-института ДВО РАН к.б.н. Таран А.А., старший научный сотрудник лаб. Гербарий Центрального сибирского ботанического сада СО РАН к.б.н. Эрст А.С.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается тем, что официальные оппоненты являются высокопрофессиональными специалистами в области молекулярной филогенетики и геносистематики, а ведущая организация – научным учреждением, в число основных направлений фундаментальных и прикладных научных исследований которого входят систематика, филогения, эволюция и экология растений.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований получены новые сведения о структуре внутреннего транскрибируемого спейсера ядерной рибосомной ДНК (рДНК) у представителей рода *Orostachys* (Crassulaceae), относимых к подсекции *Appendiculatae*. Термодинамическое моделирование вторичных структур транскриптов спейсеров ITS1 и ITS2 рДНК позволило произвести оптимизацию выравнивания дивергентных нуклеотидных последовательностей для представителей подсекции. Обнаружен внутригеномный полиморфизм ITS1 у культивируемых садовых экземпляров вида *O. japonica*. Филогенетический анализ на основе нуклеотидных последовательностей ITS-района выявил

родственные связи между основными эволюционными линиями трибы *Telephieae* и подсекции *Appendiculatae* рода *Orostachys*. Установлено близкое родство между видом (монотипным родом) *Meterostachys sikokiana* и видами подсекции *Appendiculatae*. Методом «молекулярной датировки» определено время диверсификации основных линий трибы. Выявлены информативные на популяционном уровне молекулярные маркеры хлоропластной ДНК (хпДНК). Разработана система риботипов и хлоротипов, раскрывающая высокое генетическое разнообразие, популяционную структуру (высокая межпопуляционная дифференциация, наличие двух дивергентных групп популяций) и филогеографию *O. spinosa*, горноколосника колючего – одного из самых широко распространенных видов семейства. Определен центр происхождения *O. spinosa* (горный Алтай), разработана концепция расселения вида в Восточной Сибири, на Урале, в Якутии и Северо-Восточной Азии.

Теоретическая значимость исследования состоит в том, что полученные молекулярно-генетические данные существенно дополняют имеющиеся представления о филогенетических отношениях в трибе *Telephieae* подсемейства *Sempervivoideae* (*Crassulaceae*) и способствуют решению вопросов о генетической изменчивости, структуре популяций и реконструкции путей распространения *O. spinosa*. Результаты работы могут быть использованы при чтении курсов лекций для студентов, специализирующихся на кафедрах ботаники, генетики и биотехнологии.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что в базу данных GenBank (NCBI) депонировано 84 последовательности ITS-района рДНК (ITS1–5.8S–ITS2) и 621 последовательность некодирующих районов хпДНК (по 207 последовательностей спейсеров *trnH-psbA*, *trnQ-rps16* и *rpl32-trnL*) для *Orostachys spinosa* и других представителей трибы *Telephieae*. На основе выявленных риботипов и хлоротипов могут быть разработаны эффективные ДНК-штрихкоды. Экспериментальные подходы, использованные соискателем, могут быть применены для мониторинга состояния природных популяций цветковых растений с целью сохранения их генетического разнообразия и введения в биотехнологию.

Оценка достоверности результатов исследования выявила, что в работе использованы современные методы определения нуклеотидных последовательностей, в том числе молекулярное клонирование, а также многочисленные методы обработки информации (программы и алгоритмы для реконструкции филогенетических деревьев и генеалогических сетей гаплотипов), адекватные поставленным задачам. Достоверность результатов не вызывает сомнений благодаря значительному объему выборки (261 растение из 47 популяций 6 видов рода *Orostachys*), разностороннему анализу и обобщению собственных данных и данных из базы GenBank (NCBI). В работе использовано сертифицированное современное оборудование: ПЦР-амплификатор «XP Cycler (TC-XP)» (Bioer Technology Co., Ltd., Китай), система визуализации (Gel Doc XR, Bio-Rad Inc., Великобритания), генетический анализатор ABI PRIZM 3130 (Applied Biosystems, США).

Личный вклад соискателя состоит в непосредственном участии на всех этапах процесса: анализе литературных данных по теме исследования, планировании экспериментальной работы, получении, обработке и интерпретации экспериментальных данных, подготовке публикаций по теме диссертации и апробации результатов исследования.

На заседании 20 октября 2017 г. диссертационный совет принял решение присудить Никулину Артуру Юрьевичу ученую степень кандидата биологических наук. При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве **16** человек, из них **5** докторов наук по специальности 03.02.07 – генетика, участвовавших в заседании, из **22** человек, входящих в состав совета, дополнительно введены на разовую защиту **0** человек, проголосовали: за **16**, против **0**, недействительных бюллетеней **0**.

Председатель диссертационного
совета, академик РАН

Ученый секретарь
диссертационного совета,
кандидат биологических наук
20 октября 2017 г.



Адрианов
Андрей
Владимирович
Ващенко
Марина
Александровна