

ОТЗЫВ

официального оппонента к.б.н. Князева Михаила Сергеевича на диссертационную работу Дениса Александровича Кривенко "Эндемики Прибайкалья *Astragalus olchonensis* Gotsch. и *Astragalus sericiocanus* Gotsch. (Fabaceae): эколого-биологические особенности ценопопуляций, вопросы филогении, охрана", представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности: 03.02.01 – Ботаника

Диссертация посвящена морфологическим, экологическим и генетическим исследованиям двух редких, псаммофитных видов рода *Astragalus* L., произрастающих в Прибайкалье – *A. olchonensis* Gotsch. (астрагал ольхонский) и *A. sericiocanus* Gotsch. (астрагал серебристо-седой), в сравнении с рядом близких, сибирских видов. Также Д.А. Кривенко проведено исследование полиморфизма гена 45S пре-р-РНК у 9 видов более отдалённого родства, родовых комплексов *Astragalus*, *Oxytropis*, данные по которым использованы для сравнения с основными объектами работы. Актуальность данного исследования, по нашему мнению, определяется, прежде всего, слабой изученностью *Astragalus olchonensis* и *A. sericiocanus*, как в отношении распространения, численности популяций, так и в отношении морфологических признаков, их изменчивости, тем более генетических маркеров, кариологических особенностей. В практическом смысле, актуальность исследования этих видов определяется необходимостью организации их научно обоснованной охраны. Как видно из результатов исследования, соискателем также получены данные, интересные в чисто теоретическом смысле, полезные для понимания процесса видообразования под воздействием факторов инсультации и эффекта основателя.

Научная новизна. Впервые проведено комплексное исследование 2 редких видов *A. olchonensis* Gotsch. (астрагал ольхонский) и *A. sericiocanus* Gotsch. (астрагал серебристо-седой). Следует подчеркнуть, что один из изученных (астрагал ольхонский) – вид Красной книги РФ (2008); второй включен в основной список Красной книги Республики Бурятия (2013).

Рекомендации по использованию результатов диссертационного исследования.

Результаты исследований могут быть использованы в учебном процессе, прежде всего в ВУЗ ах, должны учитываться при составлении Красных книг и практических мероприятиях по охране исследованных видов на федеральном и региональном уровнях.

Диссертация состоит из введения, 6 глав, Выводов, списка литературы (254 наименования, из них 87 на иностранных языках) и приложения; изложена на 129 страницах машинописного текста, содержит 16 таблиц, 18 рисунков.

В качестве цели диссертации соискателем выбрано комплексное изучение двух редких видов астрагала в Прибайкалье.

В соответствии с этой целью были поставлены следующие задачи:

- 1) Уточнить распространение астрагала ольхонского и астрагала серебристо-седого

- 2) изучить особенности онтогенетической структуры популяций этих видов;
- 3) уточнить филогенетические отношения изучаемых видов, по кариологическим данным и молекулярно-генетическим маркерам;
- 4) Выявить факторы лимитирующие численность и распространение исследуемых видов, в практическом плане дать рекомендации по охране этих видов.

В процессе подготовки диссертации Денисом Александровичем Кривенко освоены ряд современных и традиционных методов исследования, в том числе: ITS метод анализа и метод выделения ДНК из гербарных образцов, изозимный анализ, определение числа хромосом и др.

Поставленная цель и задачи исследования не вызывают возражений.

Ниже дадим краткое обсуждение содержания диссертации.

В главе 1 «Физико-географическая характеристика района исследования» дается подробная информация о физико-географических условиях района исследования – острова Ольхон и восточного побережья оз. Байкал против острова Ольхон. Представленная справка (стр. 8-15) вполне достаточна и не избыточна..

В главе 2 «Материалы и методы исследования» даны точные координаты и характеристика модельных популяций; приводится подробное описание методов исследования, в том числе изозимного анализа, определения полиморфизма гена 45S пре-р-РНК и определения числа хромосом.

Справка по используемой методике исследования вполне достаточна и не избыточна. Статистическая обработка данных выполнена корректно.

В главе 3 «Редкие псаммофитные виды *A. olchonensis* и *A. sericiocanus*» даётся краткая характеристика рода *Astragalus* в целом (распространение, история изучения, таксономические отношения с родственными родовыми комплексами и т.д.), также как и двух основных объектов исследования: *Astragalus olchonensis* и *A. sericiocanus*. Для астрагала ольхонского и а. серебристо-седого приводятся цветные фото типовых образцов (LE), даются подробные морфологические характеристики (уточнённые по результатам собственных исследований), крупномасштабные карты распространения этих видов (уточнённые Д.А. Кривенко), приводится справка по истории описания этих таксонов.

В целом, содержание этой главы имеет превосходную справочную ценность и оставляет самое благоприятное впечатление. Можно порекомендовать составителям нового издания Красной книги РФ поручить написание очерка по астрагалу ольхонскому Д.А. Кривенко.

В главе 4 «Оценка состояния природных популяций *A. olchonensis* и *A. sericiocanus*» приводятся результаты исследования численности, возрастной структуры и её динамики, по оценке семенной продуктивности в 1 ценопопуляции *A. olchonensis* и 1 ценопопуляции *A. sericiocanus* (стр. 50-70). Подобные исследования вполне традиционны при исследовании редких видов растений и полезны в практическом отношении, поскольку позволяют грамотно организовать их охрану. С другой стороны, сложно оценить научную

составляющую этой части диссертации, поскольку, по настоящему интересные результаты в подобных исследованиях можно получить лишь при многолетних и повторных на протяжении вегетационного сезона исследованиях, тогда как онтогенетическая структура по первому виду изучалась Д.А. Кривенко лишь при двух посещениях (2009, 2011 гг.), а по второму – только однократно (2011 г.).

Глава 5 «Числа хромосом и изменчивость молекулярно-генетических маркеров у представителей секций *Hemiphaca* и *Cenantrum*»

Глава 5 представляет смысловое ядро, наиболее трудоёмкую и информативную часть диссертации. Её автор продемонстрировал здесь значительное прилежание и превосходную квалификацию в различных методах генетических исследований, как традиционных, так и вполне современных. Числа хромосом установлены для 35 ценопопуляций 7 видов рода *Astragalus* (табл. 12); в том числе, для *Astragalus olchonensis* впервые удалось точно определить гексаплоидный кариотип $2n=48$. Интересны «побочные» результаты этих исследований, например, доказано гибридное происхождение *Astragalus rtyensis* Stepanitsova от диплоидной расы $2n=16$ *A. versicolor* и тетраплоидного $2n=32$ *A. austrosibiricus* (или *A. inopinatus*). На основании установления и подтверждения ранее установленных кариотипов, а также морфологического сравнения Д.А. Кривенко, вполне резонно, предполагает в качестве вероятного предкового вида для *Astragalus olchonensis* – *Astragalus bifidus* (распространённого в Северной Монголии и Южном Прибайкалье).

ДНК анализ маркера ITS (внутренних межгенных транскрибируемых спейсеров, участка генома ответственного за продуцирование рибосомальной РНК) проведён по трём близким видам – *Astragalus olchonensis*, *A. bifidus*, *A. versicolor* (секция *Hemiphaca*), а также по трем видам других секций *Astragalus schelekhovii*, *A. tugarinovii*, *A. tolmachevii* которые использовали для сравнения. Следует отметить, что данное исследование дало вполне ожидаемый результат – не удалось показать значимые отличия между *Astragalus olchonensis*, *A. bifidus*, *A. versicolor*. ITS-маркеры скорее могут рассматриваться как «генетические часы», показатели длительности обособления – они вполне полезны при установлении особенностей филогении на уровне рядов и секций, но даже весьма существенное эволюционное событие (хорошо замечаемое на морфологическом уровне), скорее всего, не будет выявлено этим методом если оно произошло лишь 50-100 тысяч лет назад; и наоборот – популяция сохраняющая основные диагностические признаки, при длительном обособлении будет «замечаться» маркерами ITS.

«Не популярный», часто рассматриваемый как «устаревший» изозимный метод генетического анализа, в ряде случаев (прежде всего, для диплоидных видов) может дать более однозначные и хорошо интерпретируемые результаты. Поэтому представляется вполне корректным, что для генетического сравнения *A. sericiocanus* Д.А. Кривенко использовал изозимный анализ – для этого вида и всех близких видов секции *Cenantrum* свойственен диплоидный набор хромосом $2n=16$, что весьма упрощает интерпретацию и статистическую обработку данных. Изозимный анализ проведён по 2 ценопопуляциям *Astragalus frigidus* s.l., 4

– *A. mongolicus* s.l. и 1 ценопопуляции *A. sericiocanus*. Анализ по изозимным маркерам оказался вполне эффективным для различия этих видов. Были выявлены видоспецифичные аллели и различные частоты общих аллелей между *Astragalus sericiocanus*, *A. mongolicus* и *A. frigidus*. Надо отметить, что эти результаты, опять же, вполне ожидаемые, поскольку эти виды превосходно отличаются как морфологически, так и экологически. На наш взгляд, более интересен «побочный» результат – установление генетической мономорфности и своеобразия резко обособленной Зауральской популяции *A. mongolicus* s.l.. По всей видимости, Д.А. Кривенко удалось продемонстрировать идеальный случай эффекта основателя для резко (и, по всей видимости, весьма давно) пространственно обособленной популяции. Интересно провести сравнение этой популяции по ITS-маркерам (скорее также будет показано её резкое обособление). С другой стороны, вполне вероятно, что эта популяция, в действительности относится не к *A. mongolicus*, а к близкому средневропейскому виду *A. penduliflorus* Lam. – на наш взгляд, Д.А. Кривенко мог бы высказать такое мнение (это было бы вполне уместно и выигрышно).

В главе 6. «Проблемы и перспективы охраны эндемиков Прибайкалья *A. olchonensis* и *A. sericiocanus*»

В этой части диссертации (стр. 97-102) обсуждаются проведённые соискателем практические меры и даются рекомендации по сохранению двух редких псаммофитных видов *A. olchonensis* и *A. sericiocanus*. Д.А. Кривенко проводились опыты по реинтродукции и созданию искусственных популяций этих двух видов – к сожалению, в большинстве случаев они не привели к созданию жизнеспособных популяций, но этот опыт будет, несомненно, полезен в дальнейших подобных попытках. На наш взгляд, не следует пытаться создать новые популяции астрагала ольхонского в зоне интенсивной рекреации, а перспективнее подыскать практически недоступные и мало посещаемые участки перевеваемых песков, не обязательно на Ольхоне или уже после организации микро-заповедника на северо-западном берегу острова Ольхон.

Соответствие **Выводов** поставленным задачам и полученным результатам.

Выводы соответствуют поставленным задачам, логично вытекают из материалов работы.

Большинство приведенных замечаний во многом носят дискуссионный характер и не существенны для оценки рецензируемой работы как добротного научного исследования, они не снижают научной ценности работы, объективности выводов.

Автореферат отражает структуру и содержание диссертации. По теме исследования опубликовано 26 работ, в том числе 10 – в изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки России. Результаты исследования обсуждались на всероссийских и международных научных конференциях.

Заключение. Диссертационная работа " Эндемики Прибайкалья *Astragalus olchonensis* Gotsch. и *Astragalus sericiocanus* Gotsch.(Fabaceae): эколого-биологические особенности ценопопуляций, вопросы филогении, охрана" является законченным научным исследованием,

соответствует требованиям «Положения о присуждении учёных степеней» (пп. 9–14), утверждённого постановлением Правительства РФ от 24.09.2013, № 842, предъявляемым к диссертациям на соискание учёной степени кандидата наук, а ее автор – Кривенко Денис Александрович заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальностям: 03.02.01 – Ботаника.

Отзыв подготовлен кандидатом биологических наук, заведующим лабораторией экспериментальной экологии и акклиматизации растений (ЭЭАР) Федерального государственного бюджетного учреждения науки Ботанического сада УрО Российской академии наук Михаилом Сергеевичем Князевым (кандидатская диссертация защищена по специальности 03.00.05 – «Ботаника», диплом №011609).

Старший научный сотрудник, кандидат биологических наук, заведующий лабораторией экспериментальной экологии и акклиматизации растений Ботанического сада УрО РАН.
knyasev_botgard@mail.ru

Князев
Михаил Сергеевич

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Ботанический сад Уральского отделения
Российской академии наук
620144, г. Екатеринбург, ул. 8-е Марта,
202 а
тел.8 (343)210-38-59
e-mail: common@botgard.uran.ru
Web-сайт: <http://botgard.uran.ru/>



15 мая 2015 г.



Подлинность подписи М.С. Князева подтверждаю
Главный специалист по кадрам
Ботанического сада УрО РАН
Г.П. Латинская