

ОТЗЫВ

официального оппонента

на диссертацию *Малых Сергея Юрьевича*

«Род *Dryopteris* Adans. в России»,

представленную к защите на соискание ученой степени

кандидата биологических наук по специальности 1.5.9. Ботаника

Актуальность исследования. Несмотря на широкое распространение рода *Dryopteris* почти что на всех материках, всестороннее рассмотрение таксономического состава этого рода наблюдается пока нечасто. В новейших публикациях по роду *Dryopteris* освещаются скорость гибридизации в естественных популяциях отдельных видов по территории Европы, данные по хромосомным числам и гибридизации видовых комплексов из Китая, генетическое разнообразие видов в Северной Америке. На русском языке последние обработки рода *Dryopteris* были сделаны 2003 и 2009 гг. Н. Н. Цвелевым и А. И. Шмаковым и основаны на морфологическом анализе вай, без анализа ультраструктуры спор и пересмотра значений хромосомных чисел. Кроме того, в работах Н. Н. Цвелева и А. И. Шмакова, не были затронуты вопросы внутривидовой изменчивости и разграничения отдельных видов *Dryopteris dilatata* комплекса.

Научная новизна диссертации заключается в том, что впервые для территории России составлен конспект рода *Dryopteris* с обновлёнными морфологическими описаниями видов рода. Автор указывает, что сделал макрофотографии спор представителей *Dryopteris dilatata* комплекса (*D. expansa* (C. Presl) Fraser-Jenk. & Jermy, *D. dilatata* (Hoffm.) A. Gray и *D. carthusiana* (Vill.) H.P. Fuchs) из различных регионов России и Европы. Для решения вопроса о присутствии *D. dilatata* на территории России с использованием метода проточной цитометрии был установлен размер генома и содержание ДНК у представителей *Dryopteris dilatata* комплекса из разных регионов России и Европы. Для получения дополнительных доказательств нецелесообразности деления *D. expansa* s.l. на *D. expansa* s.s. и *D. assimilis* были проведены молекулярно-генетические исследования (ISSR-PCR) нескольких российских и европейских представителей *D. expansa*.

Теоретическая и практическая значимость работы. Были выявлены диагностические и недиагностические признаки видов рода, установлены морфологические границы видов *Dryopteris dilatata* комплекса, определено число видов рода в России, составлены подробные морфологические описания и ключи для определения российских видов рода. Результаты работы могут быть использованы для оценки генетической структуры и изменчивости других, неисследованных в настоящее время, видов *Dryopteris* в России. Сведения о генетическом разнообразии *Dryopteris dilatata* комплекса (подглава 4.4) представляют ценность как материал для сравнения результатов ISSR-PCR, полученных при анализе генетической изменчивости любой группы папоротниковидных в России, а также как основа эффективного мониторинга состояния генофонда рода *Dryopteris* в регионах страны.

Оценка содержания диссертации. Диссертация С. Ю. Малых содержит 135 страниц, 10 таблиц и 10 рисунков. Диссертация состоит из введения, 5 глав, выводов и списка использованной литературы. Список литературы включает 186 источников, 114 из которых на иностранном языке. Приложения в работе отсутствуют.

Во **Введении** (стр. 5–9) обоснована актуальность работы. Сформулированы цели и задачи исследования. Раскрываются научная новизна и практическая значимость диссертационной работы, сформулированы положения, выносимые на защиту. Автор отмечает личное участие в проведении исследований, представляет сведения об апробации работы и научных публикациях.

Глава 1 Обзор литературы (стр. 10–19).

Глава содержит обзор литературных источников. В начале главы рассматриваются современные представления о виде у растений. В **подглаве 1.3** кратко перечислены пути видообразования у папоротниковидных, специфичная черта которых – отсутствие презиготического механизма несовместимости (характерного для цветковых растений), который предотвращает слияние гамет. В заключительной **подглаве** обсуждаются два крупнейших видовых комплекса рода *Dryopteris* на территории России, а также некоторые эволюционные взаимоотношения внутри данных комплексов.

Глава 2. Принципы работы, объекты и методы исследования (стр. 20–43).

В **подглаве 2.1** «Принципы работы» автор объясняет основной принцип работы: устранение субъективности при выделении таксонов видового ранга. Кроме того, автор отдельно подчеркивает возможность и целесообразность создания системы рода с привлечением большого числа таксономических признаков.

В **подглаве 2.2** «Регионы и объекты исследования» приводится перечень экспедиций с целью сбора гербарного материала и оценки способности вай к перезимовке. Полевые исследования проходили в восьми субъектах Российской Федерации: Московской, Ленинградской и Мурманской областях, Карелии, Карачаево-Черкессии и Кабардино-Балкарии, Пермском и Ставропольском краях. Во всех перечисленных регионах осуществлялась оценка способности вай к перезимовке. Места сбора материала приведены в таблице 1 (стр. 29–37). Автором с 2015 по 2022 гг. был собран гербарий в количестве более 500 образцов, критически обработан Гербарий Южно-Сибирского ботанического сада (ALTB) для отбора растений из разных регионов России, Европы и один образец – из Северной Америки.

В **подглаве 2.3** «Методы исследования» перечислены методы, использованные в работе: морфологический анализ вегетативных органов, анализ ультраструктуры спор, проточная цитометрия и молекулярно-генетический анализ. Автор обосновывает выбранный подход к сбору гербария (3 вайи с одного растения), позволяющий оценить диапазон изменчивости спорных признаков, которые тут же перечисляет. Приведено описание работы по анализу ультраструктуры спор. Подробно описано применение метода проточной цитометрии и молекулярно-генетического анализа. Всего автором проанализирован полиморфизм 112 растений с пятью праймерами (560 проб).

В главе 3 «Род *Dryopteris* Adans. в России» (стр. 44–53) приведен обзор работ разных лет (начиная с 1820 г.) по разнообразию рода в России, диагностические признаки видов рода и данные по сохранности вай в зимний период. Автором выявлено, что первые упоминания растений, относимых в настоящее время к роду щитовник, содержатся в «Санкт-Петербургской флоре» 1802 г. В этом источнике щитовники условно отнесены к роду многоножка. Далее последовательно приведены специальные флористические сводки – «Флоры» в современном понимании: от «Flora Rossica» Ledebour (1853) до «Сосудистых растений России и сопредельных государств» С.К. Черепанова (1995) и специализированных работ, опубликованных после 2000 г. В итоге рассмотрения источников автор делает вывод, что единого мнения о числе видов рода *Dryopteris* в России до настоящего времени нет и связывает это с различием в оценках объема рода, которые, в свою очередь, обусловлены высокой степенью изменчивости представителей рода.

В подглаве 3.1 перечислены морфологические признаки видов рода *Dryopteris*: общее очертание и размеры вайи взрослого здорового растения; степень рассеченности пластинки вайи; цвет, оттенок и характер поверхности пластинки вайи; отношение длины черешка к длине пластинке вайи; длина ближайших к рахису базипетальных пёрышек (сегментов 2-го порядка) самых нижних перьев (сегментов 1-го порядка); форма, цвет и оттенок чешуй, наличие или отсутствие железистых волосков). Все эти признаки содержатся в различных ключах для определения видов, подготовленных преимущественно после 2000 г. (соответствующие ссылки на источники приведены, всего 3 источника). Автором подробно рассматривается каждый из признаков и обосновывается возможность или невозможность его использования как диагностического при идентификации представителей рода *Dryopteris*.

В подглаве 3.2 автор отдельно приводит доводы в пользу того, что длительность жизни вайи и способность к перезимовке не следует использовать в качестве диагностического признака и выводит закономерность: «чем севернее или выше в горах произрастает конкретная особь, тем вероятнее её вайи будут отмирать на зиму» на основе своих наблюдений, а также описывает подобную ситуацию с видами рода *Polystichum* Roth из литературных источников.

Глава 4 «*Dryopteris dilatata* комплекс в России и Европе» (стр. 54–88) содержит результаты исследований морфологии вегетативных органов, анализа ультраструктуры поверхности спор, исследований ДНК и анализа генетического разнообразия. Это наиболее объемная часть диссертации.

В подглаве 4.1 автор объясняет невозможность правильно диагностировать по морфологическим признакам (см. 3.1) *Dryopteris assimilis* и утверждает, что «выделение *assimilis*-формы вряд ли можно считать оправданным, поскольку географически изолированная и занимающая свое особое место в экосистемах Европы хромосомная раса (*dilatata*) может считаться видом, а вырванная из конкретных экологических условий разновидность или форма (*assimilis*) – нет», т. е. исключает нахождение в России *D. assimilis*.

В подглаве 4.2 представлены результаты исследования ультраструктуры поверхности спор. Даны качественные фотографии ультраструктуры спор *Dryopteris expansa* из двух пунктов – УНБ «Предуралье» и заповедник «Басеги», сделанные при помощи электронного микроскопа.

В подглаве 4.3 представлена информация о числе хромосом в обследованных образцах. Было изучено 68 образцов из разных частей России и зарубежной Европы. Анализ образцов показал наличие форм с разной ploidy: диплоидных (Урал, Алтай, Европейская часть России) и тетраплоидных (зарубежная Европа), т.е. полиплоидия у *Dryopteris expansa* в России – явление нечастое или отсутствующее, в отличие от зарубежной Европы.

Подглава 4.4 содержит результаты анализа генетического разнообразия папоротников *Dryopteris dilatata* комплекса в России и Европе. Автор грамотно подобрал и использовал молекулярно-генетические и статистические методы исследования и интерпретации результатов. Итогом молекулярно-генетического анализа стала дендрограмма генетического сходства изученных образцов *Dryopteris expansa*, из которой видно, что изученные образцы не формируют устойчивых групп по регионам России, вплоть до разграничения на образцы из европейской и азиатской частей страны. Четко отграничивается только североамериканский образец. На следующем уровне (первое деление евразийский представителей рода) отграничиваются образцы из Алтая и Хакасии (этой группой автор пренебрегает из-за расстояния в 2200 км от мест сбора растений), далее – образцы из зарубежной Европы, что, по мнению автора, вполне предсказуемо.

Глава 5 «Конспект рода *Dryopteris* Adans. в России» (стр. 89–115) является результатом полевых наблюдений автора, проведенным с 2015 по 2022 гг., критической ревизии рода в гербарных коллекциях заповедника «Басеги», Пермского Государственного Национально Исследовательского Университета (PERM), Ботанического института им. В.Л. Комарова РАН (LE), Южно-Сибирского ботанического сада (ALTB), а также анализа литературных данных и цифровых материалов гербариев МГУ и Kew Gardens.

Конспект рода *Dryopteris* составлен по образцам, принятым в фундаментальных русскоязычных флористических сводках. В начале конспекта содержится описание типового вида – *Dryopteris filix-mas* (L.) Schott., затем приводится ключ для определения 16 видов рода, известных в России. В ключе для определения видов почти не используются признаки, которые автор считает неподходящими для идентификации видов (см. подглаву 3.1.). Некоторые признаки все же используются в ключе (например, цвет чешуй на черешке, железистые волоски), но применение их обосновано в подглаве 3.1.

После ключа для определения видов приведен аннотированный список видов рода *Dryopteris* в России. Список состоит из 16 видов. Для каждого вида приведены номенклатурные характеристики, распространение по России, морфологическое описание, хозяйственное значение. Конспект качественно выполнен и соответствует признанным работам подобного рода (флористические сводки уровня крупных географических выделов и региональные флоры субъектов РФ).

Достоверность сделанных **выводов** не вызывает сомнений, т. к. автором собран большой объем материала и использованы общепринятые в аналогичных исследованиях методы.

Автореферат адекватно отражает содержание диссертации. Список из 16 видов можно было бы разместить в основной части автореферата (перед «ключом для определения видов»).

Результаты исследования отражены в 9 научных работах, в том числе 5 статей, опубликованных в рецензируемом журнале, рекомендованном ВАК МОН РФ, 1 статья в рецензируемом журнале из Web of Science/Scopus, 2 статьи в изданиях, входящих в РИНЦ. Материалы работы были представлены автором на четырех научных конференциях.

Обоснованность и вероятность заключительных выводов

Достоверность сделанных выводов не вызывает сомнений, т. к. автором собран большой объем материала и использованы общепринятые в аналогичных исследованиях методы.

Автореферат адекватно отражает содержание диссертации. Список из 16 видов можно было бы разместить в основной части автореферата (перед «ключом для определения видов»).

Полнота опубликованности положений и результаты диссертации

Результаты исследования отражены в 9 научных работах, в том числе 5 статей, опубликованных в рецензируемом журнале, рекомендованном ВАК МОН РФ, 1 статья в журнале, входящем в международную базу Scopus, 2 статьи в изданиях, входящих в РИНЦ. Материалы работы были представлены автором на четырех научных конференциях.

Основные замечания по диссертационной работе

1. Замечание касается структуры работы. В **главе 1**, на мой взгляд, нецелесообразно вынесение в отдельный пункт 1.4.1 «*Dryopteris dilatata* комплекс» поскольку не приводится подробного описания группы *Dryopteris filix-mas*. Считаю, лучше было бы эту информацию включить в подглаву 1.4.

В первой части **главы 3** приведены литературные источники по роду *Dryopteris*. На мой взгляд, логичнее ее было бы разместить в главу 1 с обзором литературы, т. к. не содержит результатов собственных исследований автора и информация в ней связана с подглавой 1.4.

Глава 4 включает, помимо подглав 4.1-4.4, «**Обсуждение результатов анализа генетического разнообразия**» (стр. 82–86) и «**Заключение**» (стр. 86–88). Эти разделы не включены в основное содержание диссертационной работы. Кроме того, подобные разделы содержатся в научных статьях, а не в диссертациях.

2. Отмечу, что автором приводятся ссылки на крайне ограниченное количество источников, по которым подготовлен обзор литературы. (около 20 источников). Например, в подглаве 1.2 «Теория о виде как иерархия концепций» приводятся ссылки на всего лишь

семь литературных источников. При этом осталось впечатление о непроработанности данного вопроса автором диссертации.

3. В разделе «Научная новизна» указано, что автором сделаны макрофотографии спор представителей *Dryopteris dilatata* комплекса (*D. expansa* (C. Presl) Fraser-Jenk. & Jermy, *D. dilatata* (Hoffm.) A. Gray и *D. carthusiana* (Vill.) H.P. Fuchs) из различных регионов России и Европы. Далее в подглаве 4.2 автор пишет, что «Помимо дополнительных доказательств нецелесообразности деления *D. expansa* на *D. expansa* s.s. и *D. assimilis* были получены данные, на основании которых можно сделать заключение о том, что споры образцов, определяемых как *D. expansa*, и споры предполагаемых *D. dilatata* не имеют выраженных различий как по размеру, так и по особенностям периспория, т. е. структура поверхности спор не может быть использована в качестве диагностического признака». При этом в тексте диссертации (подглава 4.2) рисунки 2–5 подписаны как споры *D. expansa* из двух географических пунктов России. Возникает вопрос – на каком основании автор сделал вывод об отсутствии различий в строении спор *D. expansa* и *D. dilatata*?

4. Поскольку речь идет о разнообразии рода *Dryopteris* в границах крупнейшей по площади страны – России, возникает вопрос, как автор при подготовке конспекта обошелся без ревизии рода в таких значимых гербарных коллекциях, как, например, Гербарий Главного Ботанического сада им. Н.В. Цицина РАН (МНА, доступен онлайн) и Гербарий им. П.Н. Крылова Томского государственного университета (ТК)?

5. Отсутствие иллюстративного материала в ключе для определения видов и в конспекте рода *Dryopteris*, что затрудняет однозначную трактовку («узнавание») приведенных диагностических признаков. Использование современных возможностей цифровой фотографии, сканирующей техники, наличие онлайн-ресурсов открытого доступа существенно бы упростили подготовку иллюстративного материала к этому разделу. В случае заимствования из работ других авторов, рисунки можно было бы разместить в виде приложений со ссылками на источники.

6. В диссертации имеются многочисленные опечатки, нарушена нумерация рисунков (два рисунка б). Кроме того, имеются несоответствия ссылок на литературные источники в тексте диссертации и списка литературы. Например, в списке литературы указан источник Мочалов и др., 2010, на который отсутствует ссылка в тексте диссертации. Наоборот, в тексте диссертации имеется ссылка на Князева и др., 2016, описания которой нет в списке литературы.

Заключение по диссертационной работе

Отмечу, что высказанные замечания не снижают общего впечатления от работы. Считаю, что работа выполнена на хорошем научном уровне и представляет интерес для специалистов, показывает соискателя освоившим современные методы исследования и представления полученных результатов в систематике растений. Диссертационная работа «Род *Dryopteris* Adans. в России» отвечает всем требованиям пунктов 9–11, 13, 14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842, предъявляемых на соискание ученой степени кандидата биоло-

гических наук, а её автор, Сергей Юрьевич Малых, заслуживает присуждения учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.9. Ботаника.

Официальный оппонент, старший научный сотрудник лаборатории экспериментальной экологии и акклиматизации растений Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Ботанический сад Уральского отделения Российской академии наук», кандидат биологических наук по специальности 03.00.05 – Ботаника

Письмаркина Елена Васильевна

«25» января 2024 г.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Ботанический сад Уральского отделения Российской академии наук», 620144, г. Екатеринбург, ул. 8 марта, 202а. Тел.: 8(343)-210-38-59. Адрес электронной почты: elena_pismar79@mail.ru

Я, Письмаркина Елена Васильевна, даю согласие на включение своих персональных данных в документы, связанные с работой диссертационного совета, и их дальнейшую обработку.

Подпись Е.В. Письмаркиной заверяю

Директор федерального государственного бюджетного учреждения науки «Ботанический сад Уральского отделения Российской академии наук»



И.В. Петрова

25.01.2024 г.

