

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

на диссертационную работу Бархатова Анатолия Сергеевича «Популяционная структура комплекса средневропейских зеленых лягушек (*Pelophylax esculentus* complex) в условиях юга Среднерусской возвышенности», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.15. Экология (биологические науки)

Проблемы точной идентификации биоразнообразия и эколого-генетических аспектов являются важнейшим моментом при изучении вопросов его исторической динамики и трансформации в условиях современной биосферы. Исследование этих процессов на примере озерной лягушки, которая по современным данным представляет комплекс криптических видов или форм, дает важнейшую информацию о направленности адаптивных и эволюционных процессов в природных популяциях. По этим причинам, перспективность и актуальность диссертационного исследования А.С. Бархатова не вызывает сомнений.

Цель работы: выявить особенности адаптивных реакций в популяциях комплекса средневропейских зеленых лягушек (*Pelophylax esculentus* complex) на территории юга Среднерусской возвышенности под действием антропогенных и абиотических факторов среды. Работа А.С. Бархатова представляет собой рукопись общим объемом 168 страниц. Она иллюстрирована 29 таблицами и 26 рисунками. Диссертация состоит из введения, 7 глав, заключения, выводов, списка использованной литературы из 269 источников (в том числе 120 на иностранных языках) и приложений.

Содержание данного исследования связано с изучением адаптационных особенностей гибридогенного комплекса средневропейских зеленых лягушек (*Pelophylax esculentus* complex), обитающих в условиях антропогенной нагрузки юга Среднерусской возвышенности.

По теме диссертации А.С. Бархатова опубликовано 10 работ, в том числе 5 статей, входящих в перечень ВАК РФ и индексируемых в базах данных Web of Science и Scopus. В работах отражены все основные положения и выводы диссертации. Результаты исследований неоднократно обсуждались на международных, всероссийских, региональных симпозиумах, конференциях и совещаниях.

Экспериментальные и полевые исследования проведены автором в период с 2017 по 2020 год. Экспериментальная часть проведена на базе НИЦ геномной селекции НИУ «БелГУ». Суммарно личное участие автора в работе составляет более 80 %.

В ходе проведения исследований изучены выборки *P. esculentus* complex из 37 локалитетов в количестве 770 особей (684 – *P. ridibundus*; 85 – *P. esculentus*; 1 – *P. lessonae*).

Для достоверной оценки состояния популяций комплекса средневропейских зеленых лягушек использовали комплекс методов: морфометрические, морфофизиологические, фенотипические признаки, а также молекулярно-генетические методы. Статистический анализ данных и его последующая интерпретация проведен с использованием современного программного обеспечения.

Все основные положения и выводы работы обоснованно аргументированы. Автором выполнена вся математическая обработка первичного материала, сформулированы все выводы и положения работы.

Научная новизна работы состоит в том, что А.С. Бархатовым впервые на территории юга Среднерусской возвышенности проведено исследование популяций *P. esculentus* complex с использованием морфологических и молекулярно-генетических методов. Получены данные о видовом составе криптических форм *P. ridibundus* complex. На основе микросателлитных маркеров проанализирована генетическая структура популяций, входящих в «Северско-Донецкий центр биоразнообразия зеленых лягушек». Методом гель-электрофореза изолированных клеток (ДНК-комет) оценена устойчивость криптических форм *P. ridibundus* complex к действию генотоксичных поллютантов.

Теоретическое значение работы состоит в том, что проведена оценка микроэволюционных процессов и адаптационных механизмов в популяциях зеленых лягушек в условиях урбанизированных ландшафтов юга Среднерусской возвышенности.

Практическая значимость исследования А.С. Бархатова состоит в том, что результаты, диссертации применяются в учебном процессе кафедры биологии ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ») по дисциплинам «Зоология», «Генотоксикология», «Экологическая генетика» и «Экология животных». Собранный материал был включен в криобанк научно-исследовательского центра геномной селекции НИУ «БелГУ». По результатам диссертационного исследования дана рекомендация о необходимости включения в региональную Красную книгу *P. lessonae*.

Во введении автором аргументировано обосновывается проблематика диссертационного исследования, грамотно сформулированы цели и задачи исследования, а также основные положения, выносимые на защиту.

Глава 1 представляет собой обзор отечественной и зарубежной научной литературы, в котором А.С. Бархатовым рассматривается роль популяции в эволюционной судьбе вида, особенности популяционных систем в гибридогенных комплексах европейских зеленых лягушек, затронуты проблемы гибридогенеза у зеленых лягушек, а также затронуты различные аспекты экологических, эколого-морфологических, молекулярно-генетических и цитогенетических подходов в исследовании бесхвостых земноводных рода *Pelophylax*.

Глава 2 содержит подробную физико-географическую и флоро-фаунистическую характеристику юга Среднерусской возвышенности и описание специфики техногенной нагрузки для территорий, где проводились исследования.

В главе 3 автор приводит сведения об объеме и точной локализации мест сбора материала. Также приводится детальное описание методов исследования материала (морфологический; молекулярно-генетические: электрофорез, ПЦР, метод ДНК-комет).

Статистическая обработка материала проведена в программных пакетах PAST V.3.1, GenAlEx v.6.5 (Peakall, Smouse, 2006), divMigrate (Sundqvist et al., 2016), NeEstimator.2 (Do et al., 2014).

Глава 4 содержит сведения о проведенной видовой идентификации *Pelophylax esculentus* complex на исследуемых территориях. На основании данных, полученных по маркеру яДНК (SAI-1) распределение частот аллелей «восточной» и «западной» форм озерных лягушек практически одинаково. В то время как в случае мтДНК установлено значимое преобладание гаплотипа «западной» формы (*P. ridibundus*) R_{mt} в 6 раз (R_{mt} – 85%; B_{mt} – 15%). Установлено отсутствие гаплотипов прудовой лягушки (*P. lessonae*) в исследуемых популяциях. Для озерной лягушки были обнаружены все шесть возможных комбинаций маркеров мтДНК и яДНК, в то время как для съедобной лягушки из шести теоретически возможных генетических вариантов были диагностированы четыре: R_{mt}/R_nL_n (5,31%), B_{mt}/R_nL_n (0,25%), R_{mt}/B_nL_n (2,85%), B_{mt}/B_nL_n (2,71%). Интересно, что массовый скрининг выявил только одну особь прудовой лягушки (*P. lessonae*). При этом у этого экземпляра отмечена интрогрессия митохондриальной ДНК восточной формы озерной лягушки (*P. cf. bedriagae*). Отсутствие в регионе исследования «генетически чистых» особей *P. lessonae* свидетельствует об изменениях популяционных систем комплекса средневропейских зеленых лягушек в сторону преобладания генома *P. ridibundus*. Автор предполагает, что экологические изменения, связанные с деградацией водных систем и активные миграции зеленых лягушек могут быть причиной изменения

популяционных систем, что свидетельствует о необходимости включения *P. lessonae* в региональную Красную книгу Белгородской области.

Глава 5 посвящена анализу морфологических показателей исследуемых выборок. Сравнение по морфометрическим показателям было выполнено только для криптических форм озерной лягушки (*P. ridibundus* complex) и показало наибольшее морфометрическое разнообразие отмечено для популяции «Северский Донец». Наибольшее фенотипическое разнообразие было отмечено для выборок из естественных или мало нарушенных местообитаний, в то время как мономорфными оказались популяции, обитающие в урбанизированных ландшафтах, при этом с ростом антропогенной нагрузки наблюдается увеличение доли редких морф. Для морфофизиологических показателей отмечено снижение индекса печени в условиях наибольшей антропогенной нагрузки.

Глава 6 содержит сведения, полученные в ходе анализа популяционной структуры *P. esculentus* complex на основе молекулярно-генетических маркеров. Изоферментный анализ выявил наибольшее генетическое разнообразие по данным в популяциях, обитающих в естественных и относительно слаботрансформированных местообитаниях. В то время как данные микросателлитного анализа, демонстрируют обратную картину - наибольшая генетическая гетерогенность отмечена в популяциях, обитающих в местообитаниях с высокой антропогенной нагрузкой. Это автор объясняет влиянием отбора на формирование аллельного состава популяции по изоферментным локусам. Полученные результаты свидетельствуют о наличии высокой степени панмиксии в регионе исследования. Невысокие значения генетических дистанций по Неи между группами популяций Донского и Днепровского водосборного бассейна по аллозимам и микросателлитам свидетельствуют о значительном обмене генами между популяциями, обитающими в Донском и Днепровском водосборном бассейне. Миграции представителей *P. esculentus* complex в регионе исследования связаны с антропогенным воздействием.

Оценка эффективной численности популяций показала, что большинство исследуемых популяций обладает высоким уровнем жизнеспособности.

В главе 7 приведены результаты оценки степени повреждения геномной ДНК популяций *P. ridibundus* в условиях урбанизации методом ДНК-комет. Поскольку степень повреждений не превышает первого уровня разрушения сделан вывод об интенсивных репаративных процессах в организмах *P. ridibundus* и о высокой жизнеспособности их популяций в условиях урбанизации.

Имеется ряд замечаний и вопросов по отдельным моментам, изложения информации в диссертации. Так, использование термина «биотоп» не совсем корректно правильнее – местообитание. В ходе ознакомления с диссертационной работой возник ряд вопросов. Как согласуется фенотипическое и генетическое разнообразие сравниваемых выборок? Как генетическая гетерогенность популяций может влиять на разнонаправленные изменения морфофизиологических индексов?

Впрочем, эти замечания не снижают ценности и значения выполненной работы.

Результаты исследования представляют собой комплексное оригинальное исследование, достаточно полно отражающее структурно-функциональную специфику гибридогенного комплекса европейских зеленых лягушек на юге Среднерусской возвышенности.

Автор в своем исследовании показал хорошее знание затронутых в диссертации вопросов и специальной литературы. Большой объем материала, обоснованная аргументация сформулированных выводов не оставляют сомнений в научной зрелости автора.

Диссертационная работа соответствует требованиям раздела II Положения о присуждении ученых степеней Федерального государственного автономного учреждения высшего образования «Российский университет дружбы народов» (РУДН), утвержденного Ученым советом РУДН, протокол № 12 от 23.09.2019. Автор диссертации – А.С. Бархатов заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.15. Экология (биологические науки).

Доктор биологических наук (03.02.08 – экология),
профессор, заведующий лабораторией
функциональной экологии наземных животных
Федерального государственного бюджетного
учреждения науки Института экологии растений и
животных Уральского отделения Российской
академии наук.

620144. г. Екатеринбург, ул. 8 Марта, 202
Тел.: +7 (343) 2103858,
e-mail: wow@ipae.uran.ru, vol_de_mar@list.ru
<http://www/ipae.uran.ru>

Вершинин
Владимир
Леонидович

07. 11. 2022 г.

Подпись *Вершинин В.Л.*
Заверяю *Васильев И.В.*
Нач. общего отдела ИЭРЖ УрО РАН

