

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию Бирюк Ольги Викторовны

« ЦИТОГЕНЕТИЧНІ ОСОБЛИВОСТІ СПЕРМАТОГЕНЕЗУ У
ДИПЛОЇДНИХ І ТРИПЛОЇДНИХ ГЕМІКЛОНАЛЬНИХ МІЖВИДОВИХ
ГІБРИДІВ *PELOPHYLAX EXCULENTUS* COMPLEX», представленную на
соискание научной степени кандидата биологических наук по специальности
03.00.15 – генетика.

В соответствии с представлениями синтетической теории эволюции, межвидовая гибридизация в царстве животных признавалась крайне редким феноменом, а возникающие в результате ее гибридные особи считались, как правило, стерильными и, тем самым, являли собой тупики биологической эволюции. Вместе с тем, еще в первой половине XX века в среде эволюционистов-генетиков подчеркивалась важность природной межвидовой гибридизации, как одного из факторов эволюции организмов. В частности, выдающийся биолог-эволюционист века минувшего Ф. Г. Добржанский, в своей монографии 1937 года «Генетика и происхождение видов», проанализировал накопившейся к тому времени экспериментальный материал, касающийся эволюционной роли межвидовой гибридизации, и пришел к выводу решающем значении данного процесса в видообразовании представителей ряда беспозвоночных животных.

Накопившиеся за последние десятилетия экспериментальные данные показали, что гибридизация у животных, в том числе межвидовая, явление весьма распространенное среди позвоночных. В настоящее время, под давлением фактов, полученных, главным образом, в процессе широкого использования при анализе генетической структуры популяций молекулярно-генетических и цитологических методов, идет активное переосмысление вклада гибридизации в биологическую эволюцию рыб, амфибий и рептилий. Полученные данные позволяют уточнить особенности структуры и пути

формирования их популяций, а также переосмыслить традиционные воззрения на природные механизмы видообразования.

Диссертационная работа Бирюк Ольги Викторовны, находится в русле обозначенной проблемы, что делает ее весьма актуальной.

Структура диссертации включает в себя перечень условных обозначений, введение, обзор литературы, материалы и методы, четыре главы результатов экспериментальных исследований, анализ и обобщение результатов, выводы, список использованных источников и приложения. Перечень иллюстративного материала включает 5 таблиц и 38 рисунков.

Глава 1. Обзор литературы состоит из 6 подразделов. В первом автор описывает гибридогенное и полиплоидное видообразование у позвоночных. При этом на большом количестве примеров показана широта распространения данных способов видообразования среди амафибий и рептилий.

В дальнейших подразделах рассматриваются результаты исследований, связанных с гибридогенезом зеленых жаб, разнообразием их гемиклональных популяционных систем, особенностями кариотипов и генотипов, механизмов гаметогенеза их межвидовых гибридов и эффективности различных методов определения видовой принадлежности образующихся при этом типов гамет. В заключительном подразделе представлены данные о путях и способах межвидовой гибридизации в Северо-Донецком центре разнообразия зеленых жаб.

Обзор построен логично, идейно и методически связан с результатами диссертации, а его материал репрезентативно отражает современное состояние обозначенной в диссертации проблемы. Так, среди задействованных в обзоре 273 литературных источников, новейшие научные работы, а именно опубликованные за последние десять лет вплоть до 2016 года, составляют около 36,0%.

Глава 2. Материалы и методы исследования.

В главе представлены результаты различных анализов более чем 740 представителей *Pelophylax esculentus* complex. Указана весьма обширная география их забора, включающая территории за пределами Украины. Перечислены способы отлова и содержания лягушек в лабораторных условиях. В исследовании использовались следующие методы: экспресс определения форм зеленых лягушек по комплексу внешних признаков; цитометрического исследования мазков крови; кариологического анализа соматических тканей и семенников; проточной ДНК-цитометрии суспензий клеток крови и семенников; статистические – дисперсионный анализ и непараметрические сравнения выборок, и ряд других.

Задействованные методы исследования современные, корректны и в полной мере соответствуют цели и задачам диссертационной работы.

В главе 3 проведено сравнение эффективности различных кариологических методик, использованных при изучении сперматогенеза зеленых жаб *Pelophylax esculentus* complex. Выяснилось, что методы раздавленных препаратов и раскапывания суспензии клеток позволяют зарегистрировать в семенниках ядра клеток разной ploидности, делящиеся митотически и мейотически. Однако метод раскапывания проще в исполнении, позволяет проанализировать большее количество делений и дает возможность применения дифференциальной окраски.

В главе 4 оценивалась стабильность сперматогенеза у зеленых жаб. Выяснилось, что в семенниках гибридов разного возраста значимо чаще встречаются клетки, несущие аномальные кариотипы, чем в семенниках представителей родительского вида. Это указывает на относительную нестабильность гаметогенеза у гемиклональных гибридов. Кроме того устойчивость гаметогенеза, оказалась значимо ниже у неполовозрелых зеленых лягушек. Таким образом установлено, что гемиклональное наследование у межвидовых гибридов процесс менее устойчивый, нежели образование рекомбинантных гамет, характерное для представителей родительских видов.

В главе 5 определялись типы гамет зеленых жаб в Северо-Донецком центре разнообразия, расположенном в акватории Северского Донца. Установлено, что большинство самцов-гибридов производят либо смесь гамет, несущих клональные геномы того или иного родительского вида, либо производят сперматозоиды с геномом озерной лягушки.

Последняя глава посвящена изучению систем скрещиваний, а также воспроизводства гибридов в упомянутом выше центре. Полученные результаты свидетельствуют о том, что гаплоидный геном отсутствующего родительского вида *P. lessonae* передается в ряду поколений преимущественно через диплоидных гибридов, производящих смесь родительских гамет, и в меньшей мере через *P. esculentus*, производящих исключительно L-гаметы. Кроме того, L-геномы передают триплоидные LLR гибриды (преимущественно самки) там, где они встречаются.

По составу гемиклональная популяционная система (ГПС) Северского Донца делится на три группы. Первая, населяет западные притоки реки Северский Донец, и включает в себя только диплоидные гибриды и *P. ridibundus*. Вторая состоит из самок триплоидных гибридов LLR-типа и *P. ridibundus* обоих полов; населяет восток Донецкой и Луганской областей. Третья географически расположена в промежутке между первыми двумя. В ней, при наличии *P. esculentus*, всегда обнаруживаются триплоидные гибриды, с преобладанием особей LRR-типа. Перечисленные группы достаточно четко разделены географически и между ними, по всей вероятности, отсутствует значимая миграция особей, что позволяет поддерживать специфику генотипической структуры каждой из них.

Заклучая диссертационную работу, автор в разделе «Анализ и обобщение результатов» свел воедино и обстоятельно проанализировал данные проведенных исследований, а также поставил перед собой на будущее две конкретные задачи: изучить молекулярно-генетические механизмы гибридной амфиспермии и воспроизводства LLR-самок в ГПС второй группы. Эти задачи, на мой взгляд, являются составной частью

фундаментальной проблемы, касающейся постижения биологического смысла гемиклонального размножения гибридов амфибий.

Завершая позитивную часть отзыва, хочу отметить, что Ольга Викторовна методологически грамотно спланировала свою научную работу, использовала при обработке экспериментального материала должные статистические методы, продемонстрировала способность критически анализировать данные, в большей мере полученные ей самостоятельно. Материалы диссертации и автореферата изложены ясно, хорошим литературным языком, научные положения и выводы соответствуют ее цели и задачам, логичны, всесторонне обоснованы и репрезентативно отражают результаты проведенных исследований, имеющих важное фундаментальное значение для биологии.

Труды соискателя опубликованы в специализированных научных изданиях, в том числе входящих в наукометрическую базу данных Scopus, и целиком отображают содержание, все положения и выводы диссертации. Автореферат в сжатой форме адекватно передает содержание последней. Сама диссертация, по своей сути и направленности проведенных исследований, полностью отвечает паспорту специальности 03.00.15 – генетика.

И все же, несмотря на то, что работа производит самое благоприятное впечатление, она не лишена недостатков, касающихся как автореферата, так и диссертации.

Начну с автореферата:

– Диссертация названа «ЦИТОГЕНЕТИЧНІ ОСОБЛИВОСТІ СПЕРМАТОГЕНЕЗУ У ДИПЛОЇДНИХ І ТРИПЛОЇДНИХ ГЕМІКЛОНАЛЬНИХ МІЖВИДОВИХ ГІБРИДІВ *PELOPHYLAX EXCULENTUS* COMPLEX». Однако в 5 главе автором представлены экспериментальные данные по гаметогенезу диплоидных и триплоидных самок *Pelophylax esculentus*, которые широко используются в 6 главе при изучении системы скрещиваний и способов воспроизведения гибридов в

Северо-Донецком центре разнообразия зеленых жаб. В связи с этим не понятно отсутствие отсылки к «гаметогенезу» в названии диссертации. Это замечание касается и диссертации;

– (стр. 8-11) подписи к рисункам 6, 8-11, 14 отличаются от подписей к аналогичным рисункам (4.8, 4.14, 4.16, 5.2, 5.5, 6.2) в диссертации.

Перейдем к диссертации:

– (стр. 19) Использован термин «гібридогенетичні гібриди». Появление этой крайне неуклюжей тавтологии можно объяснить, но не оправдать, содержанием изложенной на стр. 18 гипотезы о мутационном происхождении межвидовых гибридов, образующихся при скрещивании *P. lessonae* с *P. ridibundus*.

– (стр. 33) «Оригінальний експеримент з ініціації штучного геногенезу у самиць *P. esculentus* провели швейцарські науковці, які під час порівняння електрофоретичних фенотипів [265] самиць і їхнього геногенетичного потомства, з'ясували, що самиці *P. esculentus* із певних популяцій передають нащадкам виключно R-геном без рекомбінації». Неудачная редакция. Непонятно, какой именно оригинальный эксперимент был проведен?

– (стр. 38). «Однак існує думка, що у триплоїдних особин сегрегація нуклеїнових кислот, можливо, носить випадковий характер...». Сегрегируют хромосомы, а не нуклеиновые кислоты!

– (стр. 43) «Дискусійним питанням є те, чи є відкриття великої кількості форм зеленых жаб у Сіверському Донці у межах Харківської області наслідком надзвичайної вивченості цього регіону, чи відбиває його особливості». Эта дихотомия надумана, поскольку изученность, пусть даже и «черезмерная», не может стать причиной наличия большого разнообразия форм зеленых лягушек в Северском Донце.

– (стр. 102) «Слід зазначити, що у статевонезрілих *P. ridibundus* відсоток нормальних сперматоцитів I набагато нижчий, ніж у статевозрілих, що ймовірно свідчить про загибель особин з нестабільним клітинним поділом». Здесь, пожалуй, следовало указать, что избирательная гибель особей с

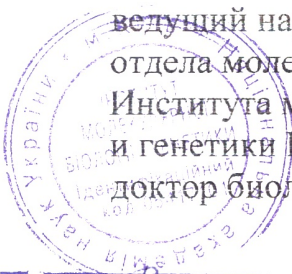
нестабильным сперматогенезом происходила в процессе полового созревания. Можно также предположить, что причиной гармонизации сперматогенеза у половозрелых самцов *P. ridibundus* мог стать сам процесс полового созревания, то есть связанные с ним морфо-физиологические изменения самцов.

Однако отмеченные недочеты не умаляют совершенно очевидных достоинств, представленной к защите работы.

Внимательно ознакомившись с диссертацией Бирюк Ольги Викторовны «ЦИТОГЕНЕТИЧНІ ОСОБЛИВОСТІ СПЕРМАТОГЕНЕЗУ У ДИПЛОЇДНИХ І ТРИПЛОЇДНИХ ГЕМІКЛОНАЛЬНИХ МІЖВИДОВИХ ГІБРИДІВ *PELOPHYLAX EXCULENTUS COMPLEX*» констатирую, что она является завершенной научно-исследовательской работой на актуальную тему. В целом указанный труд полностью отвечает требованиям п.п. 11 и 12 Постановления Кабинета Министров Украины от 24.07.2013 г. №567 «Про затвердження Порядку присудження наукових ступенів...», предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор, Бирюк Ольга Викторовна, заслуживает присуждения ей научной степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.15 – генетика.

Официальный оппонент:

ведущий научный сотрудник
отдела молекулярной онкогенетики
Института молекулярной биологии
и генетики НАН Украины,
доктор биологических наук



Ю.В. Вагин

