

ВІДГУК
офіційного опонента

на дисертаційну роботу **ПУХТАЄВИЧА Петра Петровича**
”КАРІОТИПОВА МІНЛИВІСТЬ І СТРУКТУРА ДИПЛОЇДНО-ПОЛІПЛОЇДНИХ
ГІБРИДНИХ КОМПЛЕКСІВ РИБ РОДІВ CARASSIUS NILSSON, 1832 ТА COBITIS
LINNAEUS, 1758 ПРАВОБЕРЕЖНОГО УКРАЇНСЬКОГО ПОЛІССЯ”,
представлену до захисту на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за
спеціальністю 03.00.15 – генетика

Актуальність теми дисертації.

“В біології ніщо не має сенсу окрім як крізь призму еволюції” - відомий вислів відомого генетика Феодосія Добжанського, який найкращим чином пояснює значення робіт, присвячених механізмам еволюції. Робота П. П. Пухтаєвича присвячена аналізу одного з таких механізмів — поліплоїдизації при утворенні гібридних комплексів карасів та щипавок. Дослідження процесів, які відбуваються при міжвидовій гібридизації, факторів стабілізації нових форм, утворення нових видів, привертали, привертають і будуть привертати увагу дослідників завжди. Тому, поза всяким сумнівом, тема дисертаційної роботи Пухтаєвич П.П. є актуальною.

Структура роботи. Оцінка наукової та літературної якості складу матеріалу і стилю дисертації та автореферату.

Робота викладена на 145 сторінках, з яких 34 сторінки припадає на перелік використаних джерел (307 першоджерел). Структура рукопису типова для дисертацій: вступ, огляд літератури, матеріали і методи, два розділи з результатами дослідження відповідно карасів та щипавок, розділ з обговоренням та узагальненням даних, висновки, список джерел. Робота добре ілюстрована (43 таблиці, 34 рисунки).

Загалом, робота добре написана та оформлена, хоча і є дрібні недоліки переважно стилістичного характеру, мають місце також друкарські похибки та іноді зустрічаються

орфографічні негаразди. Дрібні недоліки позначено на полях рукопису, а зауваження стосовно деяких стилістичних особливостей наведені в кінці відгуку.

Огляд літератури написаний повно і разом з тим стисло, без зайвих подробиць, чітко і ясно. Автор повністю виклав сучасний стан досліджень проблеми, спираючись на досить обширний об'єм публікацій, від робіт класиків до найостанніших робіт. Досить повно викладено також розділи з описом матеріалів та методів, результатів експериментальних досліджень, розділ з узагальненнями. Розділи 3 та 4 присвячені результатам дослідження відповідно карасів та щипавок, кожен з них закінчується підсумовувальними висновками та переліком джерел, де були опубліковані ці дані.

Відповідність автореферату змісту дисертації та повнота опублікування результатів

Автореферат повністю відповідає змісту дисертаційної роботи. Результати дисертаційної роботи опубліковані достатньою мірою, вони викладені в 5 опублікованих у фахових наукових журналах статтях і в 3 тезах доповідей на конференціях. Здобуті результати апробовано на трьох наукових конференціях різного рівня — від національних, до міжнародних.

Якість використаних для дослідження методів, репрезентативність отриманих результатів

Автором досліджено два диплоїдно-поліплоїдних гібридних комплекси риб з двох, які виявлено та території України. Іншими словами, досліджено всі можливі варіанти.

Для досягнення мети і виконання поставлених завдань використано польові, біологічні та лабораторні (електрофоретичні і цитогенетичні) методи дослідження. Якісні фотографії метафазних платівок та електрофоретичних гелів свідчать про достатню методичну майстерність автора. Робота проводилась в тісній взаємодії з польськими та чеськими вченими, провідними спеціалістами з цитогенетики риб - це також свідчить про достатньо високий рівень використаних методичних підходів в хромосомному аналізі. Запорукою якості електрофоретичних досліджень є репутація Відділу еволюційно-генетичних основ систематики Інституту зоології НАН України, де була виконана ця частина роботи.

Достовірність і новизна отриманих результатів

Робота П.П.Пухтаєвича логічно продовжує комплекс досліджень диплоїдно-поліплоїдних комплексів карасів та щипавок, які тривалий час проводяться Відділом еволюційно-генетичних основ систематики Інституту зоології НАН України. Автором вперше для України проведено системні цитогенетичні дослідження у поєднанні з електрофоретичним аналізом білків, описано каріотиби поліплоїдних гібридних форм, каріотиби гібридних особин диплоїда *C. auratus* × *C. carassius*, триплоїда *C. taenia* – *C. tanaitica* – *S. aurata* та тетраплоїда *C. carassius* × *C. gibelio*-1. Виявлено факт міжродової гібридизації *Cobitis taenia* та *Sabanejewia aurata*, внаслідок якої утворився раніше не описаний триплоїдний біотип (*C. taenia* – *C. tanaitica* – *S. aurata*). Виявлено, що різні біотиби карася сріблястого *C. gibelio* відрізняються за числом хромосом, що вказує на можливість їх походження від різних батьківських форм.

Методи, обрані для виконання завдань дисертаційної роботи – адекватні, завдяки чому отримані результати досліджень є достовірними. Але деякі методичні моменти залишаються неясними.

Зокрема, не вказано знаряддя лову риб. Адже очевидно, що від цього буде залежати і результат лову. Звідси будуть питання до репрезентативності одержаних вибірок, а відтак і до висновків відносно реальної генетичної структури тих чи інших популяцій. Важливо, щоб принаймні в усіх випадках знаряддя та методи лову були однаковими.

Далі, розділ 2.2.1 називається “Збір і транспортування карасів та щипівок”, але жодних відомостей про умови транспортування проб до лабораторії (відстань досить велика) та їх зберігання до аналізу в тексті не наведено. Не треба бути спеціалістом, щоб зрозуміти, які зміни могли відбутися з тканинами від моменту лову риби до моменту аналізу, якщо збір проб відбувався влітку (з квітня по листопад). Тому виникає питання: яким чином автор виключає можливість впливу постмортальних змін в тканинах на виявлену мінливість ферментів? Чи не пов'язана наявність певних “алелів” з температурою в день лову риб?

Залишаються невідомими також аргументи якими керувався автор при визначенні місць збору проб карася та щипавки. Чому їх не можна було ловити в одних і тих же водоймах?

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій з їх критичною оцінкою порівняно з відомими рішеннями.

Загалом автор зробив 14 висновків, що на перший погляд дещо забагато. Але якщо згадати, що вони стосуються двох гібридно-поліплоїдних комплексів (карасі та щипавки), якщо взяти до уваги обсяг отриманих даних, то можна зрозуміти бажання автора максимальною мірою узагальнити одержані результати.

Використання адекватних експериментальних методів, достатня кількість проведених експериментів, узгодження отриманих результатів з літературними даними і висновками інших авторів дозволяють зробити висновок про те, що теоретичні та експериментальні результати є достовірні, а наукові висновки — достатньо обґрунтовані. Втім, формулювання деяких висновків потребують уточнень. Наприклад, висновок 5 (У різних клонів триплоїдного карася *C. gibelio* різне число хромосом (*C. gibelio*-1 ($3n = 156$), *C. gibelio*-2.1 ($3n = 158$) та *C. gibelio*-2.2 ($3n = 160$)), що підтверджує їх незалежне утворення при гібридизації різних видів.). Яким чином різне число хромосом вказує на незалежність утворення гібридів та різницю вихідних видів? Чому не врахована можливість втрати геномами гібридів окремих хромосом в процесі стабілізації гібридних форм?

Зауваження, запитання та побажання.

Суттєві зауваження до тексту відсутні. Основні питання, які виникли при аналізі роботи — чому було досліджено два види, коли можна було зосередитись на одному (1), і чому до аналізу не були залучені ознаки, які могли б суттєво доповнити роботу — морфологічні ознаки (стандартні іхтіологічні параметри), наявність та частота різного роду порушень індивідуального розвитку (2). Відповідь на перше питання проста — на території України виявлено всього два подібних комплекси риб, і в даній роботі вони обидва залучені. Відповідь на друге питання, сподіваюсь, автор дасть в своїй наступній дисертації. Решта зауважень має технічний характер.

Зауваження відносно стилістики. В своїй роботі автор використовує терміни “клон”, “клональне” та “напівклональне розмноження”, які за смыслом прирівнюються до гіногенезу чи гібридогенезу. Ці терміни (“клон” та ін.) іноді вживають в публікаціях з цитогенетики риб, але навряд чи можна вважати доцільним копіювання шкідливих звичок, в тому числі і вживання неадекватного сленгу, який призводить до неоднозначності наукової термінології. Гіногенез, як варіант партеногенезу, відноситься до статевого розмноження. Можна послатись на “Биологический энциклопедический словарь” (№ 7 в переліку джерел), чи на шкільний підручник з біології для 11 класу (Межжерін,

Межжеріна, 2011). Тобто, при гіногенезі відбувається мейоз, відбувається кросингвер, який теж є суттєвим джерелом генетичної мінливості, утворюються гамети з різними комбінаціями хромосом. Терміном “клон” позначають генетично ідентичних особин, одержаних шляхом нестатевого, вегетативного розмноження. Тому гіногенетичне потомство не може бути клоном за визначенням, хоч яким би високим рівнем гомозиготності воно не характеризувалось.

Що означають вирази “гомологічні спермії триплоїдних самців” та “Відкриття гаплоїдного виробництва спермій диплоїдними самцями *C. gibelio* чоловіків...” (с. 63)? Ще один приклад стилістичної специфіки - “сексуальна мімікрія у гіногенетичних асексуалів” (с. 13). Що означають ці слова? Хочеться побажати автору в майбутньому уважніше ставитись до термінології.

Зауваження відносно оформлення результатів. В роботі є кілька таблиць, які містять дуже мало матеріалу. Наприклад, таблиця 3.13 складається з заголовка та одного рядка, в якому знаходиться всього три числа. Наскільки доцільно оформляти ці три величини у вигляді таблиці? Втім, це теж відноситься до стилю викладу.

Статистична обробка як така практично відсутня, якщо не брати до уваги визначення модальних класів, мінімуму та максимуму числа хромосом в каріотипах. Такий показник, як відношення чисельності особин з модального класу (“число модальних особин” за автором) N_1 до загальної чисельності N_2 — про що він свідчить? Особливо, якщо $N_1/N_2 = 1/1$ (таблиця 3.16)?

Тут великий простір для творчої роботи автора в майбутньому, так само як і можливість отримати нові цікаві результати. Бо саме статистична обробка дасть відповідь на питання про те, наскільки отримані результати є близькими до реальної ситуації в популяціях і характеризують реальну структуру досліджених угруповань.

Рекомендації з подальшого використання результатів роботи та доцільність продовження і розвитку відповідних досліджень

Зазначені вище зауваження є технічними, вони не зменшують цінності роботи і не впливають на загальну позитивну оцінку. Робота містить нові цікаві результати та ідеї, що стосуються процесів утворення нових форм та змін в геномах при гібридизації в популяціях нативних видів.

Ці результати можуть бути і будуть використані при викладанні курсу “Популяційна генетика” для студентів магістратури ННЦ “Інститут біології” Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Їх можна також рекомендувати для використання в лекціях з теорії еволюції, популяційної біології, екології, іхтіології, та інших близьких за напрямками курсах.

Важливе значення мають одержані результати для планування природоохоронних заходів, пов'язаних з популяціями вивчених видів та гібридних форм. При цьому варто звернути увагу на пошук можливих морфологічних маркерів для визначення гібридного походження. Ці маркери можуть суттєво спростити польові аналізи та збільшити їх інформативність.

Загальне враження від роботи залишається позитивним. Автором проведено дослідження досить великої групи риб; сукупність одержаних результатів є основою для інвентаризації рівня гібридизації та поліплоїдності поселень карася та щипавки і створення відповідного реєстру. Це має суттєве практичне значення для планування та проведення природоохоронних заходів. Теоретичне значення роботи полягає в тому, що одержані результати розширюють існуючі знання відносно генетичних процесів, які відбуваються в природних популяціях риб.

Результати, наведені в роботі П. П. Пухтаєвича, свідчать про безумовну необхідність продовження даного напрямку досліджень. Це означає розширення ареалу досліджень, по можливості — залучення нових методів (аналіз мінливості на рівні ДНК, диференційне забарвлення хромосом для можливості їх ідентифікації та визначення походження у поліплоїдів), які б дозволили дати однозначну відповідь на підняті питання. Варто було б також залучити до аналізу морфологічні ознаки та провести порівняння показників пристосованості вихідних форм та гібридів. Зокрема, було б цікаво порівняти особливості темпів росту вихідних форм та гібридів, які не так вже й складно проаналізувати на пробах луски. Як завжди буває, чим більш цікавими є отримані дані, тим більше відкривається можливостей для дослідження. Але це вже можна розглядати як побажання для майбутньої роботи.

Висновок.

Оцінюючи дисертацію Пухтаєвича П.П. в цілому, можна стверджувати, що робота являє собою завершене дослідження в актуальній галузі біології, поставленої мети автором було досягнуто. За своєю актуальністю, об'ємом, науково-практичною

значимістю, всебічним аналізом літератури та новизною отриманих результатів розглянута робота відповідає вимогам _____ постанови Кабінету Міністрів України від 24.07.2013 р. № 567 «Про затвердження Порядку присудження наукових ступенів і присвоєння вченого звання старшого наукового співробітника», які пред'являються до кандидатських дисертацій, а її автор Пухтаєвич Петро Петрович заслуговує присудження наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.15 – генетика.

Офіційний опонент,
кандидат біологічних наук,
доцент кафедри загальної та молекулярної генетики
ННЦ «Інститут біології»
Київського національного університету імені Тараса Шевченка



В.Ф. Безруков

Особистий підпис В.Ф. Безрукова засвідчую



(Комп'ютерний підпис)

Заступник директора
ННЦ «Інститут біології»
Київського національного університету імені Тараса Шевченка