

ОТЗЫВ

оппонента на автореферат Пухтаевича Петра Петровича
« Каріотипова мінливість і структура диплоїдно-поліплоїдних гібридних комплексів риб родів *Carassius* Nilsson, 1832 та *Cobitis* Linnaeus, 1758 правобережного українського Полісся», представленного на соискание научной степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.15 – генетика.

Накопившиеся за последнее десятилетие экспериментальные данные позволили существенно расширить наши представления о месте и роли гибридизации и полиплоидии в эволюции животных и, в частности, представителей позвоночных. Выяснилось, что гибридизация, которая совсем недавно, в соответствии с концепцией биологического вида, считалась крайне редким феноменом в царстве *Metazoa*, явление весьма распространенное и, по всей вероятности, имеет важное эволюционное значение. Даже в геноме современного человека были обнаружены гены неандертальца, отсутствующего в ряду его предков. Что касается полиплоидии, то ветвь позвоночных на заре своей эволюции прошла через две полногеномные дупликации, оказавшие решающее влияние на ход их исторического развития. Таким образом, в настоящее время под давлением лавины фактов идет активное переосмысление места и роли указанных феноменов в филогенезе позвоночных. Диссертационная работа Пухтаевича Петра Петровича лежит в русле обозначенной проблемы, что делает ее крайне актуальной. Структура диссертации включает в себя введение, обзор литературы, материалы и методы, две главы результатов исследований, анализ и обобщение результатов исследований, выводы, перечень иллюстративного материала и список использованных источников.

Обзор литературы состоит из 6 частей. В его первой части автор устанавливает связи крупных структурных изменений геномов животных – полиплоидии и дупликации генов – с эволюционными перспективами

их обладателей. Вторая часть посвящена путям формирования и эволюционной роли гибридных комплексов рыб. Далее рассматриваются принципы таксономии рыб, основанные, в первую очередь, на существующих в природе гибридных комплексах. В двух следующих частях представлены сведения о диплоидно-полиплоидных группах щиповок *Cobitis* (superspecies) *taenia* и карасей *Carassius*. В последней части проанализированы результаты цитогенетических исследований рыб, а также представлены широко используемые методики получения митотических препаратов. Обзор построен логично, а его материал репрезентативно отражает современное состояние проблемы диссертации, идейно и методически связан с результатами представленных в ней исследований. Он компактен, но при этом достаточно информативен. Среди задействованных источников новейшие научные работы, а именно опубликованные за последние десять лет вплоть до 2015 года, составляют в нем более 20%. Знакомство с материалом обзора дает возможность оппоненту во всеоружии приступить к рассмотрению диссертации. Отдельной похвалы автор заслуживает за эволюционный подход, пронизывающий весь материал обзора. Невольно приходит на ум мысль Ф.Г. Добржанского о том, что «Биология приобретает смысл только в свете эволюции».

Глава «Материалы и методы». В ней обозначены, сроки и места сбора карасей рода *Carassius* и щиповок родов *Cobitis* и *Sabanejewia*, объемы их выборок. Отбор проб проводился на территории трех областей Украины: Киевской, Житомирской и Ровенской. Кроме того, представлены способы половой диагностики, изложены методы электрофоретического и цитогенетического анализов, а также методы статистического анализа. Используемые в настоящей работе методы, современные, корректны и в полной мере соответствуют задачам исследований. Особенно хочется отметить высокий уровень методического мастерства, продемонстрированный автором при

получении препаратов хромосом. Как показывает практика, получение подобных препаратов у рыб, да еще и удовлетворительного качества, занятие кропотливое, весьма трудоемкое и не всегда завершается удачей. Перейдем к результатам экспериментальных исследований, изложенным в главах 3 – 4. Отметим, что все эксперименты проводились на территории Украины.

В 3-й главе представлены результаты идентификации видов и биотипов карасей, а также биоразнообразие их поселений в водоемах Западного Полесья. В частности анализ пяти ферментов, структурных белков мышц и белка сыворотки крови – трансферрина, позволил идентифицировать 13 локусов, из которых 10 оказались непостоянными у представителей рода *Carassius*. Результаты данного анализа позволили установить видовой и биотипический состав поселений представителей рода *Carassius*, включающий два диплоидных вида *C. auratus* и *C. carassius*, серию триплоидных однополовых биотипов, систематизированных как отдельный вид *C. gibelio*, и незначительную долю (1,1%) гибридов, полученных от скрещивания *C. auratus* с *C. carassius*. Кроме того, в данной главе дано описание кариотипов указанных видов. Результаты цитогенетических исследований подтвердили четкое отличие между количеством хромосом в трех наиболее массовых биотипах. Основываясь на данных аллозимного анализа, автор пришел к выводу о том, что в образовании трех клоновых форм *C. gibelio* принимало участие, по меньшей мере, четыре родительских вида с альтернативными наборами аллелей, а сами клоновые формы в дальнейшем дивергировали относительно друг от друга.

Глава 4. В ней приведены результаты системных кариологических исследований диплоидно-полиплоидных комплексов щиповок в сочетании с аллозимным анализом. Даны описания кариотипов родительских диплоидных видов и наиболее массовых полиплоидных

гибридных форм. В частности, определена формула хромосомного набора межродового триплоидного гибрида *C. taenia* – *C. tanaitica* – *S. aurata*, существование которого впервые установлено в настоящем исследовании. На основании полученных данных построены достаточно правдоподобные гипотезы о происхождении и путях его образования. Подчеркивается, что сам гибридный биотип возник за пределами исследованных акваторий, поскольку представители *C. tanaitica* не встречаются в реках Полесья.

Глава 5 посвящена обобщению результатов исследований, представленных в третьей и четвертой главах диссертации, в процессе которого автор формулирует два принципиально важных положения. Во-первых, он указывает на то, что в пределах водоемов Украины представители рода *Carassius* формируют, главным образом, однородные альтернативные поселения. Речь идет о китайском (*C. auratus*) и серебристом (*C. gibelio*) карасях. Причиной этого, по мнению соискателя, являются различия видовых репродуктивных потенциалов амфимиктического карася китайского и гиногенетического карася серебристого. Во-вторых, по его наблюдениям в полесских поселениях присутствует незначительное количество представителей инвазийного вида *C. auratus* на фоне относительно высокого присутствия аборигенного вида *C. carassius*. При этом установлено, что гибридизация между этими видами происходит менее интенсивно, чем в южных регионах Украины. Что касается поселений щиповок Полесья и в целом водоемов Украины, то их общей чертой является явное численное доминирование полиплоидных гибридных биотипов, составляющих 84%. При этом следует отметить, что щиповки исследованного региона по структуре своих поселений во многом уникальны и отличаются от большинства соседних речных систем Среднего Днепра.

Подытоживая рассмотрение материала диссертации, хотелось бы отметить проведенные Петром Петровичем системные исследования

карасей и щипивок, а также их гибридных форм. Их результатом явилось доказательство важной роль межродовой и межвидовой гибридизации в генезисе и адаптации видов к условиям их естественной среды обитания. Оно заняло место в ряду аналогичных фактов, убеждающих нас в том, что межвидовая изоляция не является универсальным фактором видообразования, каковым ее видели основатели синтетической теории эволюции. В практическом плане полученные данные важны, в первую очередь, для планирования мероприятий по охране аборигенной ихтиофауны, поскольку *C. carassius* внесен в Красную книгу Украины, как исчезающий вид. Важное практическое значение имеет также модифицированная автором методика получения хромосомных препаратов рыб.

Хотелось бы обсудить целесообразность широкого использования в научном обиходе, в том числе и нашим диссертантом, термина «прогрессивная эволюция». Обычно этот термин употребляется при рассмотрении эволюции морфологических признаков. Тогда, для наглядности, зададимся вопросом, чем в эволюционном плане являлась редукция конечностей у предков китообразных при их «возвращении в водную стихию» — прогрессом или регрессом? Более того, китообразные в процессе дальнейшей эволюции приобрели ряд признаков, характерных для более древних форм позвоночных. С другой стороны, данные так называемой «молекулярной палеонтологии» указывают на существенное, в сравнении с его ближайшими родственниками, сокращение наследственной программы, контролирующей обоняние человека, «венца эволюции». Как трактовать эту ситуацию? С точки зрения эволюционной генетики эволюция является процессом адаптивной реорганизации морфогенетической программы, не имеющей вектора постоянной направленности, что лишает ее признаков «прогрессивности» и «регрессивности». На мой взгляд термин «прогрессивная эволюция» не имеет специфического биологического смысла, а его широкое

использование в научной литературе скорее всего происходит по инерции и без семантических потерь могло бы быть заменено достаточно простым термином «эволюция».

Возвращаясь к представленной здесь работе, хочу отметить, что Петр Петрович продемонстрировал способность критически и всесторонне анализировать данные, в большей мере полученные им самостоятельно. Материалы диссертации и автореферата изложены ясно, хорошим литературным языком, научные положения и выводы логичны, достоверны, всесторонне обоснованы и репрезентативно отражают результаты проведенных исследований. 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.

Однако, несмотря на все достоинства, диссертация и автореферат не лишены недостатков. Они касаются как их оформления, так и содержания.

Начнем с автореферата.

– (стр. 1). «Поліплоїдія є поширенням явищем серед вищих рослин і більш рідкісним у світі тварин». С этим утверждением автора трудно согласиться. В настоящее время доказано широкое распространение полиплоидии в царстве животных. Это же замечание относится к аналогичному подразделу диссертации (стр.4);

– (стр.12) таблица 4 скомпонована из таблиц 4.4, 4.7, 4.10, 4.13, 4.15, 4.17 и 4.19 диссертации;

– (стр. 14) рисунок 7 скомпонован из рисунков 4.8 – 4.14 диссертации;

– (стр. 17) На фоне четырех заданий соискатель сотворил 14

выводов. На мой взгляд, некоторые из них можно было объединить. Это замечание распространяется и на диссертацию.

Прейдем к самой диссертации.

Обзор литературы:

– (стр. 10) автор в конце второго абзаца использует термин «старі гени». В этом случае правильно использовать термин «предковый ген» или его аналог «анцестральный ген»;

– на той же странице «Таким чином, розмір геному має важливе значення в еволюції, оскільки в разі його збільшення з'являється можливість створення набагато більшого числа структурних генів, внаслідок чого збільшується різноманітність структурних білків і ферментів, що надає додаткові можливості адаптації організмів на молекулярному рівні». Однако в аналогичных случаях куда важнее для морфологической эволюции умножение регуляторных генов. Тому имеется много доказательств;

– (стр.11) «Таким чином, гібридизаційні процеси у риб є важливим аспектом еволюції геному хребетних, наслідком чого є стрибкоподібне збільшення розмірів геному наземних хребетних... » Кто показал, что у наземных позвоночных гибридизация явилась важным механизмом увеличения размеров их геномов со всеми вытекающими из этого обстоятельства эволюционными перспективами для наземных позвоночных?

Материалы и методы. (стр.35) Представники останнього комплексу, як відомо [53], за морфологічними ознаками не діагностуються. Головною визначальною ознакою, що відрізняла представників двох великих груп, є кількість тичинок на першій зябровій дузі». А тычинки на первой жаберной дуге не являются морфологическими признаками?

Переходим к результатам исследований.

Глава 3. (стр. 63) «Відкриття гаплоїдного виробництва спермійв

диплоїдними самцями *C. gibelio* чоловіків і анеуплоїдне виробництво спермійв (близько до 1,5 n), в триплоїдних *C. gibelio* самців було доведено Flajšhans et al. » О каких члoвiах идет речь?

Глава 4. (стр. 98) первый вывод в данной главе. В видовых формулах триплоидных биотипов не всегда указана родовая принадлежность.

Глава 5. (стр. 108) «5.2. Особливості генетичної структури гібридних комплексів риб родів *Cobitis* річок Правобережного Полісся». Здесь речь должна идти не о родах, а о роде.

Однако отмеченные выше недостатки не умаляют совершенно очевидных достоинств представленной нам сегодня работы.

Внимательно ознакомившись с диссертацией Пухтаевича Петра Петровича «Каріотипова мінливість і структура диплоїдно-поліплоїдних гібридних комплексів риб родів *Carassius* Nilsson, 1832 та *Cobitis* Linnaeus, 1758 правобережного українського Полісся» 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 ...», пред'являемым к кандидатским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения научной степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.15 – генетика.

Оппонент:

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



Ю.В. Вагин

Підпис: Вагин Ю.В.
посвідчується
Зав. кафедр. В. Мейсєв