

## ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию Поликарпова Ивана Андреевича **«Межпопуляционная изменчивость показателей энергообмена у красной полевки (*Myodes rutilus* Pallas, 1779)»**, представленную в диссертационный совет Д 003.033.01 к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.04 – зоология.

Диссертационная работа Поликарпова Ивана Андреевича посвящена *актуальной* задаче зоологии и экологической физиологии – измерению ряда показателей энергетического обмена на примере широко-ареального (Палеарктика – от Норвегии до Канады) вида грызунов – красной полевки (*Myodes rutilus* Pallas, 1779) и оценке изменчивости физиологического состояния животных из популяций экологически контрастных местообитаний, причем, отловленных как в природе, так и выращенных в контролируемых условиях вивария.

Актуальность и новизна научных результатов, выводов не вызывает сомнений. Автором впервые проведена «синхронная» оценка адренокортикальной и «биоэнергетической» реакции на холодовой стресс. В ряде исследований обычно использовался лишь один из показателей – либо адренокортикальная реакция на стресс, либо «биоэнергетическая» реакция. Именно использование «интегрирование» позволяет сделать более обоснованный вывод о состоянии популяций. В результате данного исследования установлено, что обитание в неоптимальных условиях требует от вида «неизбежной платы» (очевидно, в пределах видовой нормы реакции) в форме повышенной функциональной активности гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы (ГГНС), однако резервы/возможности адаптации на уровне особи и/или популяции способны компенсировать негативные эффекты внешней среды.

Практическим результатом работы может быть использование её методик и результатов в биомедицинских исследованиях и при планировании мероприятий по охране редких видов животных. Кроме того, красные полевки являются резервуарным хозяином ряда природно-очаговых инфекций (КЭ, боррелиозы и проч.) и поэтому оценка состояния популяции важна для понимания особенностей эпидемиологической обстановки в ареале вида.

Литературный обзор диссертации проработан достаточно, в нем рассмотрены публикации по измеряемым в настоящем исследовании физиологическим показателям (основной и максимальный обмен, эндокринная реакция на стресс, терморегуляция, субстратное обеспечение метаболизма), рассмотрены работы по оценке и их изменчивости, что важно для формулировки рабочей гипотезы и планирования экспериментальной работы.

Диссертация изложена на 149 страницах (из них 3 – приложения) и построена традиционно – состоит из: введения, литературного обзора, описания материалов и методов, двух глав собственных результатов, заключения, выводов, списка использованной литературы (55 отечественных и 283 зарубежных источника), списка публикаций соискателя (17 работ, 2 статьи в журналах из перечня ВАК), приложения. Содержит 12 таблиц (из них 3 в приложении) и 38 рисунков. Авто-

реферат достаточно полно передает содержание диссертации, оформлен в соответствии с требованиями ВАК РФ.

Отмечу, что приведенные ниже замечания к диссертации носят частный/субъективный и даже скорее дидактический характер и ни в коей мере не влияют на общее положительное впечатление о работе. (*Курсив – мой, К.И.А.*)

#### Замечания.

- Предлог «у» в названии диссертации, похоже, лишний? (Ср. напр., «анатомия/физиология у человека» ?)
- с. 3. Потерян заголовок в оглавлении диссертации? – Глава 3 (МЕЖПОПУЛЯЦИОННАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ ДЕМОГРАФИЧЕСКИХ И МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК КРАСНОЙ ПОЛЕВКИ ИЗ ПРИРОДНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ)
- с. 4. «... стрессирующее действие неблагоприятных факторов внешней среды» – стресс (не наследуемый (?) признак) упомянут как единственный/ультимативный (а возможно совсем и не главный!) фактор изменчивости измеряемых параметров.
- «Одной из основных причин снижения численности популяций в неоптимальных для вида условиях является *стрессирующее* действие неблагоприятных факторов внешней среды». – АО (Альтернативное Объяснение): лимитирующее действие, ограниченность кормовых и проч. ресурсов, конкуренты, не оптимум/край ареала, ...
- «...можно предполагать, что у животных из популяций, имеющих стабильно *низкую численность*, будут чаще обнаруживаться физиологические проявления хронического стресса (Шилов, 1977; Wingfield et al., 2011)» – фактор (конкретный агент) стресса оппоненту не понятен, возможна и обратная ситуация! АО – кормовая база + укрытия/убежища («емкость среды»), пресс хищников, абиотические условия, конкуренция, ...
- «Для бореальных животных, подверженных значительным и часто непредсказуемым колебаниям *климатических параметров* среды» – м.б., все-таки, «погодных»? (ср. масштаб «характерного времени»?) Климат, как был (в Голоцене как был, так и остается «бореальным», а сезоны (и ФП!) закономерно сменяют друг друга ...
- Было бы полезно посвятить хотя бы 1 абзац «истории»/филогеографии вида. Время дивергенции 2-х исследованных популяций  $\approx$  Голоцен  $\approx 10^4$  лет?
- «Продолжительное воздействие стресс-стимулов приводит организм к состоянию, которое характеризуется угнетением *витальных функций* организма, и, прежде всего, *размножения* (Wingfield, Romero, 2001; McEwen, Wingfield, 2003, 2011).» – а если «еще рано, или уже поздно ...» (ещё/уже не сезон для репродукции!)
- «Можно предполагать, что именно снижение способности адекватно реагировать на неблагоприятные воздействия внешней среды является одним из непосредственных механизмов, определяющих границы экологической

ниши вида.» – банально/трюизм, а если «ну, не судьба ... »© или вид сюда «не занесло»?!

- Почему на рисунках (да и в t-тестах) шкала обычная/интервальная с 0?!
- Однообразные рисунки – «динамитные шашки с запалами» – столбик  $\pm se(m)$  !
- Зачем откладывать от нуля переменные, никогда (!) не принимающие близкие к 0 значения? На той же площади рисунка можно было привести индивидуальные измерения (точки) и основные статистики.
- Стереотипны не только рисунки, но и куски текста.
- **С. 54.** Таблица 2.4. не указан пол (потомков) – что может быть важнее, чем условный номер (sic – чем объясняется наблюдаемый разброс в массе тела?!), время рождения, репродуктивный статус ...
- **С. 54.** Новорожденные полевки = щенки? (Сленг!)
- **С. 59.** Рисунок 2.2. – не указаны размерности ни ординаты, ни абсциссы (а на последующих рисунках будет!). Содержание жира – единицы (условные?): у.е.
- «... различия между половозрелыми и неполовозрелыми особями показаны знаком – \*\*\*. Достоверные ( $p < 0.001$ ) межпопуляционные различия у особей одного и того же репродуктивного статуса показаны буквами.» – Лучше привели бы дельту (или отношение ожидаемых значений) и её/его ДИ! (Чем «коньячные» звезды!)
- «При сравнении массы тела половозрелых особей, отловленных (как?) в мае (так?) и августе в лесопарке ННЦ, достоверных различий между самцами и самками не обнаружено (рис. 3.6).» (Ср. С. 64!) = легко «попасть» на ошибку 2-го рода! Малость выборок → дефицит мощности! GLM – мощный аппарат и явно коэффициент будет признан отличным от 0.
- **С. 60.** «Ковариационный дисперсионный анализ (ANCOVA)» – одно слово, точно, лишнее! Многократно повторяющаяся «мантра»: «ковариационный дисперсионный анализ, ... вводя их в анализ в качестве независимых факторов.» – а разве бывают зависимые факторы? Искусственное/наивное противопоставление «независимых факторов» и «ковариат» – все это «предикторы» сиречь, = объясняющие переменные.
- «Поскольку анализ межгодовой изменчивости не входил в задачи нашей работы, ее влияние снималось включением в анализ года наблюдений в качестве ковариаты.» – А где же результаты? Если так уж жаль места в основном тексте, можно было бы разместить их в приложении. Межгодовая изменчивость может быть даже более интересна (пкм - по крайней мере, для оппонента), в своих исследованиях мы обнаруживаем таковую. Было бы полезно/интересно сопоставить величины каждого из исследованных эффектов (популяция, пол, РС/возраст, сезон, ...) b- и стандартизованные  $\beta$ -коэффициенты для всех ковариат (k-1 фиктивных переменных).
- «Ковариационный дисперсионный анализ (ANCOVA), учитывающий репродуктивный статус, пол и место отлова животных в качестве независимых факторов (?) и год наблюдений в качестве ковариаты выявил совместное

влияние места и репродуктивного статуса животных на содержание гликогена в печени ( $F_{1,80}=4.2$ ;  $P<0.05$ )» – не очевидно, что нужны биологически не интерпретируемые взаимодействия? Чисто аддитивная модель всегда проще для интерпретации! «Model selection» и AIC/BIC,  $C_p$  – в помощь!

- **С. 60.** «Структуру корреляций между анализируемыми показателями (и объясняемыми и объясняющими?) оценивали методом факторного анализа с вращением осей «varimax normalized». Анализировали первые две главные компоненты, объясняющие в совокупности до 60% дисперсии.» – Автор не различает модели ГК и ФА см. <https://stats.stackexchange.com/questions/1576/> и <https://stats.stackexchange.com/questions/612/is-pca-followed-by-a-rotation-such-as-varimax-still-pca?noredirect=1&lq=1>
- **с. 60.** «Показатели, имеющие лог-нормальное распределение, предварительно логарифмировали» – скорее, – измеренные в шкале отношений ( $y_i \geq 0$ ) ... и для стабилизации дисперсии. Аксиома в биологии – большему среднему соответствует и большая дисперсия.
- **С. 61.** «Рисунок 3.1. Межгодовые изменения численности (среднее значение  $\pm$  стандартная ошибка), оцененной по данным отловов линиями живоловок в сравниваемых популяциях красной полевки.» – Как получены SE, что служило «повторностями»?
- **С. 62.** «Рисунок 3.2. Сезонная динамика численности красной полевки.» – Как получены «усы»?
- «Неполовозрелые особи имели достоверно более высокий основной обмен, чем половозрелые: в горной тайге -  $4.4 \pm 0.08$  и  $3.9 \pm 0.1$  мл\*г/ч, соответственно ( $t_{105}=2.5$ ;  $p<0.05$ ), в лесопарке ННЦ -  $4.7 \pm 0.2$  и  $3.8 \pm 0.1$  мл\*г/ч ( $t_{37}=4.3$ ;  $p<0.001$ ), соответственно (рис. 3.16). Таким образом, снижение энергообмена, обусловленное возрастными причинами, более отчетливо прослеживалось у особей из лесопарковой зоны ННЦ.» – так ведь « $pO_2$ » нормировано на массу тела (сравнили бы ОО у бурозубки и слона!) Различия могут быть связаны и с различным знаменателем! (априорно средняя масса тела  $\ll$  у незрелых особей!). *Рекомендация* - исследовать и исходные измерения « $pO_2$ » с помощью стат. модели, где масса тела вводится как “offset”-переменная или обязательная ковариата!
- «Для парных сравнений выборок использовали  $t$  – тест Стьюдента.» – следовало бы: «... для зависимых наблюдений (повторных измерений на  $i$ -ой особи) использовали парный тест Стьюдента». Лучше – RM-ANOVA.
- **С. 65.** может быть и масса тела (и BCI) – также суть показатели «стрессированности», пусть и косвенные?!
- **С.66. - С. 67** – май и август это очевидно/вероятно «ПЗ» разных поколений (и возраста!)
- **С. 68.** – похоже, что стат. вывод противоречит иллюстрации!
- **с. 69** – удобнее было бы привести разность (отношение) и её/его ДИ! Для оценки параметров регрессии будет использовано больше наблюдений и будет достигнута более высокая точность оценки и мощность критерия! Для

планов с зависимыми наблюдениями ( $pO_2$ , до после охлаждения) специальная модель RM-ANOVA или mix-effect ...

- **С. 71-72.** «Рисунок 3.14. Содержание гликогена в печени у половозрелых и неполовозрелых полевок, отловленных в августе. Достоверные различия (t-критерий Стьюдента,  $p < 0.05$ ) между особями разного репродуктивного статуса в популяции ННЦ отмечены знаком \*.» Лучше бы привели бы дельту (или отношение) и её/его ДИ !!! Чем «звезду»!
- **С. 73.** Плохо (!) что включен и индекс = комбинация двух уже имеющих признаков! Отсюда и получился 1-й Фактор! – сами его и создали! (наивно!)
- **С. 74.** «...влияние на основной обмен оказывает только репродуктивный статус ( $F_{1,135} = 23.4$ ;  $P < 0.001$ ).» – Лучше бы привели бы дельту (или отношение) и её/его ДИ, чем «голую» F-статистику!
- Неполовозрелые особи имели достоверно более высокий основной обмен, чем половозрелые: в горной тайге -  $4.4 \pm 0.08$  и  $3.9 \pm 0.1$  мл\*г/ч, соответственно ( $t_{105} = 2.5$ ;  $p < 0.05$ ), в лесопарке ННЦ -  $4.7 \pm 0.2$  и  $3.8 \pm 0.1$  мл\*г/ч ( $t_{37} = 4.3$ ;  $p < 0.001$ ), соответственно (рис. 3.16). Таким образом, снижение энергообмена, обусловленное возрастными причинами, *более отчетливо...* – (взаимодействие то не значимо → снижение однородно! → достаточно 1 общей оценки коэфф-та!) «... прослеживалось у особей из лесопарковой зоны ННЦ.» Лучше привели бы дельту (или отношение) и её/его ДИ! Подозреваю, что здесь виноват и рост знаменателя т.к. половозрелые особи и более массивны! Аллометрия?!
- **С. 75-76.** Рисунок 3.17. Фоновые концентрации кортикостерона у полевок из разных популяций. \*\* - различия достоверны (t-критерий Стьюдента,  $p < 0.01$ ). – РС? пол?
- **С. 77-78.** подпись рисунка сползла на с.78! – т.е. «Новосибирские» имеют более высокий MMR (при сходном основном)...
- **С. 80.** «...были выше у зверьков из популяции горной тайги ( $910.9 \pm 126.7$  нг/мл), были выше, чем у зверьков из популяции лесопарка ННЦ» – дубль! т.о. телецкие более «реактивны»?
- символ «крестик на могилке» ± зачем (?) осмысленнее приводить ДИ!
- Все рисунки про потребление кислорода можно уместить в 1!
- Рис.3.20. куда делся РС (репродуктивный статус)?
- **С. 83-84.** Зачем сделали ФА отдельно для 2-х популяций? Разумнее было бы включить в анализ в качестве экзогенных: маркеры популяций, пол, статус, сезон, ...
- **С. 88.** (и **С. 92**) « ... сибсовую принадлежность в качестве ковариаты» ??? это скорее фактор со случайными уровнями! Где интерпретация, где степени свободы у F-статистики для помета/сибсовости ???
- Рисунки на отдельных (следующих) от текста страницах = моветон, крайне неудобно!!!
- **С. 92.** « ... и место отлова животных»? – м.б. родителей? Т.к. речь о потомках, рожденных в виварии!

- **С. 93.** «... факторный анализ выявил межпопуляционные различия по структуре корреляционных связей между изучаемыми параметрами.» ??? – Поскольку, ФА делали отдельно для популяций и оси вращали отдельно, то, следовательно, результаты, полученные таким образом, точно так не интерпретируемы!
- **С. 147-149.** Странный способ указания числа исследованных животных – лишние строки, что вызывает когнитивный диссонанс при сопоставлении единиц измерения и строк с числом особей (N можно было привести в скобках!). В табл. 1 (прил.) не указаны единицы измерения «Упитанности», везде приведены только  $m \pm sem$ , а полезно было бы дать и экстремальные значения, медиану, и проч. описательные статистики.

...

**Заключение:** Диссертационная работа Поликарпова Ивана Андреевича – «**Межпопуляционная изменчивость показателей энергообмена у красной полевки (*Myodes rutilus* Pallas, 1779)**», представленная к защите в диссертационный совет Д 003.033.01 при ФГБУН Институт систематики и экологии животных СО РАН на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.04 – зоология представляет собой завершённую научно-исследовательскую квалификационную работу. Выводы и рекомендации достаточно обоснованы. Автореферат отражает содержание диссертации. По материалам диссертации опубликовано 17 работ, в том числе 2 работы в журналах списка ВАК. По актуальности, объёму выполненных исследований, научной новизне, методическому уровню и научной значимости результатов диссертационная работа Поликарпова И.А. отвечает требованиям (пп. 9-14) «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а её автор – Поликарпов Иван Андреевич заслуживает присуждения ему ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.04 – зоология.

Старший научный сотрудник  
лаб. популяционной экологии и моделирования  
ФГБУН Институт экологии растений и животных  
УрО РАН, 620144, г. Екатеринбург, ул. 8 Марта, д. 202  
тел.: +7 (343) 210 3858, e-mail: [kia@ipae.uran.ru](mailto:kia@ipae.uran.ru)  
к.б.н.

И.А. Кшнясев

6.10.2017

Подпись *Кшнясев*  
Заверяю *Кшнясев*  
Нач. общего отдела ИЭРИЖ

