

## ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу Горобейко Ульяны Васильевны «Морфологическая и генетическая изменчивость восточной ночницы *Myotis petax* Hollister, 1912 на юге Дальнего Востока России», представленную на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.12 -зоология.

На защиту выносится диссертационная работа У.В. Горобейко по исследованию восточной ночницы (*Myotis petax* Hollister, 1912) – вида, широко распространенного на юге Дальнего Востока России. Систематика рода *Myotis* запутана и слабо разработана по причине значительного морфологического сходства входящих в него видов. Длительное время восточная ночница рассматривалась в составе водяной ночницы (*M. daubentonii* Kuhl, 1819), и лишь в 2005 г. по совокупности морфологических и молекулярно-генетических особенностей получила статус самостоятельного вида.

Восточная ночница занимает обширный ареал, включающий и островные популяции. На основании морфологических данных у *M. petax* были описаны 4 подвида: номинативный (*M. p. petax* Hollister, 1912) с территории Сибири и три – с Дальнего Востока (*M. p. ussuriensis* Ognev, 1927, *M. p. loukashkini* Shamel, 1942, *M. p. chasanensis* Tiunov, 1997). Поскольку молекулярно-генетические исследования прежде всего были направлены на поиск межвидовых различий между *M. petax* и *M. daubentonii*, то внутривидовая генетическая изменчивость восточной ночницы оставалась не изученной. В отношении кариотипа *M. petax* также было мало данных. В этой связи актуальность проведенного исследования не вызывает сомнений.

Целью работы было выяснение закономерностей морфологической и генетической изменчивости *M. petax* на юге Дальнего Востока России для уточнения внутривидовой структуры. Для этого ставились следующие задачи:

- исследовать особенности кариологической изменчивости с использованием методов дифференциально-окрашенных хромосом;
- изучить особенности половой, возрастной и географической изменчивости краниометрических параметров;
- проанализировать особенности изменчивости переменного участка контрольного региона мтДНК.

Представленная к защите диссертация изложена на 136 страницах, содержит 34 таблицы и 18 рисунков. Список литературы содержит 151 источник, из которых 112 на иностранных языках. По теме диссертации опубликовано 10 работ, в том числе 3 статьи в рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК.

Материалы диссертации прошли апробацию на III Всероссийской конференции молодых ученых (Улан-Удэ, 2013), VII Всероссийской научной конференции (Биробиджан, 2018), Modern Achievements in Population, Evolutionary, and Ecological Genetics: International Symposium (Vladivostok, 2019), VIII Международной конференции (Душанбе, 2019), а также на ежегодных молодежных конференциях-конкурсах ФНЦ Биоразнообразия ДВО РАН (Владивосток, 2014, 2018, 2019).

В вводной части (стр. 4-11) представлены актуальность выбранной темы, цели и задачи исследования, научная новизна, теоретическая и практическая значимость, личный вклад соискателя, положения, выносимые на защиту, степень достоверности результатов, апробация результатов, публикации, структура и объем работы, благодарности автора лицам, содействующим выполнению диссертационной работы.

Говоря о личном вкладе У.В. Горобейко, следует отметить, что она в полной мере освоила достаточно сложные методы цито- и молекулярной генетики: приготовление хромосомных суспензий, окраску и анализ кариотипов, анализ нуклеотидных последовательностей и др.

В первой главе «Литературный обзор» (стр. 12-26) рассматривается изученность рукокрылых Дальнего Востока России и проблемы, возникшие в их систематике с внедрением современных молекулярно-генетических методов, в частности, внутривидовой изменчивости рода *Myotis*. Дается исчерпывающая характеристика *M. petax* (синонимы, подвиды, морфологические особенности, образ жизни, история исследования).

Из текста второй главы «Материалы и методы» (стр. 27-48) следует, что в основу работы легли оригинальные сборы диссертанта из Амурской области, Приморского и Хабаровского краев, республики Бурятия. Часть материала была получена в местах зимовок летучих мышей. Для морфологического анализа, помимо собственных сборов, были использованы коллекционные фонды Зоологического музея МГУ им. М.В. Ломоносова. Всего такая выборка составила 92 черепа восточных ночниц из 28 регионов. В главе также весьма детально расписаны использованные современные методы генетического анализа (кариологический и молекулярно-генетический).

В третьей главе «Результаты и обсуждение» (стр. 49-97) рассматриваются результаты ДНК-штрихкодирования и изменчивость по последовательностям гена цитохромоксидазы (COI), хромосомная изменчивость *M. petax* на юге Дальнего Востока России, их краниометрическая изменчивость и изменчивость по последовательностям контрольного региона. При анализе изменчивости последовательности COI у *M. petax* было выявлено три гаплотипа в материковой части Дальнего Востока России и девять

гаплотипов на всем ареале. Гаплотип G2 описан впервые (Gorobeyko et al., 2020). Показано, что для восточной нощницы характерны слабые генетические различия между особями и низкое нуклеотидное разнообразие по последовательностям COI.

Попарное сравнение 13 региональных выборок по краниометрическим признакам с использованием дискриминатного анализа позволило получить 4 обобщенные выборки. Три из выявленных морфологических форм соответствовали уже известным подвидам восточной нощницы: «сибирской» – *M. p. petax*, «маньчжурской» – *M. p. ussuriensis* и «хасанской» – *M. p. chasanensis*. Нощницы «приамурской» формы не относились ни к одному ранее известному подвиду восточной нощницы, что требует более детального ее изучения.

Установлено высокое нуклеотидное и гаплотипическое разнообразие по последовательностям контрольного региона мтДНК восточной нощницы. Попарное сравнение в нем нуклеотидных замен выявило бимодальное распределение, что при высоком гаплотипическом и высоком нуклеотидном разнообразии может указывать на генетически разнородную панмиктическую популяцию, либо на генетическую неоднородность восточной нощницы. Наибольшее генетическое разнообразие было выявлено у восточных нощниц из пещер Приморского края. Это указывает на то, что в пещеры на зимовку собираются особи, принадлежащие к разным генетическим линиям. Эти данные показали, что восточные нощницы способны к дальним миграциям, вопреки прежним представлениям об их оседлости (Тиунов, 1997; Kawai, 2009).

В изучении внутривидовой изменчивости *M. petax* в восточной части ареала У.В. Горобейко впервые реализовала комплексный подход, включающий морфологический, кариологический и молекулярно-генетический методы анализа. Метод дифференциальной окраски хромосом позволил показать кариологические отличия восточной нощницы от других видов рода *Myotis* и индивидуальные различия по содержанию и локализации гетерохроматина. Впервые была исследована также вариабельность участка контрольного региона мтДНК восточной нощницы. На основе генетических и морфометрических данных было показано, что на юге Дальнего Востока России, помимо известных подвидов *M. p. ussuriensis* и *M. p. chasanensis*, обитает «приамурская» форма восточной нощницы, отличающаяся по совокупности краниометрических признаков и последовательностям мтДНК.

Оценивая научный вклад У.В. Горобейко в изучении восточной нощницы, можно остановиться на следующих результатах:

Исследование хромосом *M. petax* подтвердило, что ее диплоидное число ( $2n = 44$ ) типично для видов рода *Myotis*, при этом число плеч аутосом ( $NFa = 52$ ) отличалось от

ранее опубликованного для *M. petax* из Приморского края и Южной Кореи (NFa = 50). Показано, что на юге Дальнего Востока России у *M. petax* отсутствует короткое гетерохроматиновое плечо на самой маленькой паре акроцентриков.

Впервые выявлена внутривидовая изменчивость по содержанию гетерохроматинового материала в хромосомах восточной ночницы. Помимо изменчивости по наличию гетерохроматинового короткого плеча, в кариотипе *M. petax* из Приморского края обнаружены отчетливые прителомерные блоки гетерохроматина (Gorobeyko et al., 2020), которые ранее были описаны только для видов *Myotis* из Китая. Интерстициальные блоки гетерохроматина на хромосомах известны для евразийских видов ночниц, но ни для одного вида ранее не были описаны интерстициальные блоки на парах №№8, 11, 18, обнаруженные у особи *M. petax* из Приморского края.

Впервые для вида определены локализация ядрышкообразующих организаторов в прицентромерных районах хромосом и их число (12 ЯО-районов). Данная характеристика позволяет дифференцировать восточную ночницу от других видов ночниц, включая вид-двойник – *M. daubentonii*, и может быть использована как дополнительный видовой признак.

Показано, что восточная ночница имеет уникальные генетические особенности: высокую внутривидовую изменчивость по содержанию гетерохроматина в кариотипе, дополнительный R1-повтор в контрольном регионе мтДНК, отличается высокой морфологической изменчивостью. Этот вид может быть использован как модельный объект при изучении изменчивости по тандемным повторам в контрольном регионе, поскольку отличается от других видов рукокрылых отсутствием гетероплазмии по длине нуклеотидной последовательности при высокой изменчивости контрольного региона.

В целом выполненное исследование существенно дополняет наши знания о летучих мышах Дальнего Востока, как в отношении таксономических задач, так и подходов к сохранению популяций редких и охраняемых видов, к каковым относится большинство видов этой группы животных. Выводы и содержательная часть работы соответствуют целям и задачам диссертационного исследования, а также защищаемым положениям.

По тексту диссертации, однако, можно сделать ряд замечаний:

1. В автореферате в списке публикаций под № 10 значится работа: Казаков Д.В., Шумкина А.П., Горобейко У.В., Ботвинкин А.Д., Морозов О.Н. Сворминг рукокрылых в Сибири и на Дальнем Востоке // Экологические особенности биологического разнообразия: материалы VIII Международной конференции. Душанбе, 2019. С. 76–77.

В диссертации такая работа не указана ни в разделе «Апробация результатов работы», ни в списке литературы.

2. В диссертации нет ссылки на статью: Горобейко У.В., Шереметьева И.Н., Казаков Д.В. Краниометрическая изменчивость восточной ночницы *Myotis petax* Hollister, 1912 (Vespertilionidae, Chiroptera) на юге Дальнего Востока России. // Биота и среда природных территорий. 2021. № 3. С. 71–87. doi: 10.37102/2782-1978\_2021\_3\_5. При этом в автореферате эта статья значится под № 6. И почему-то в списке литературы полностью отсутствуют ссылки на публикации Горобейко У.В., где она первый автор.

3. Стр. 12, 1-ый абзац сверху. «В настоящей работе рассмотрена материковая часть территории юга Дальнего Востока России, что в зоогеографическом районировании соответствует Амуро-Сахалинской стране, включающей в себя Приамурье, Приморье и о-в Сахалин ...». Остров Сахалин по определению не относится к материковой части.

4. Стр. 23. Говоря о распространении восточной ночницы на Дальнем Востоке России, следовало бы упомянуть и северные территории региона, в частности, Магаданскую область (Чернявский, 1984; Андреев и др., 2006; Докучаев, 2019). Тем более, что на карте (рис. 4) ареал *Myotis petax* заходит в юго-западные пределы Магаданской области. При этом на других картах (рис. 1а, б, стр. 33 и рис. 17, стр. 96) ареал восточной ночницы почему-то заканчивается на границе Хабаровского края и Магаданской области.

5. Стр. 34. «Для стимуляции клеточного деления животным внутривентриально вводили суспензию пекарских дрожжей за сутки до забоя (Lee, Elder, 1980)» И через предложение: «Летучим мышам вводили 0,2 мл раствора на 12 часов». Так за сутки или 12 часов?

6. Стр. 63, 3-ий абзац сверху. «Для восточных ночниц юга Дальнего Востока (Приморский край, о-в Сахалин, о-в Итуруп, о-в Хоккайдо, Южная Корея) ...». Дальний Восток обычно рассматривается как часть Российской территории, куда японский о-в Хоккайдо и Южная Корея не входят.

7. Стр. 70, 1-ая строка сверху. «Забайкальского края и Алтая (СНІ и МОН)». При этом Алтай обозначен как Монголия (МОН).

8. На Рис. 1а место сбора «МОН1» расположено на территории Внутренней Монголии, но это Китай. Почему тогда «МОН»?

Замечания по ссылкам на источники и списку литературы:

При одинаковом списке авторов года даются через запятую (без дублирования авторов). Так, на стр. 16 две ссылки: (Volleth et al., 2001) и (Volleth et al., 2006), но должна быть одна: (Volleth et al., 2001, 2006). И таких дублей авторов довольно много (3 на стр. 16, также на стр. 19, 20, 25, 38, 61, 99).

Стр. 17, 5 строка снизу. Неверное написание фамилии: «Goodawa Stormark» вместо «Godawa Stormark».

Стр. 41. (Bickham, 1979a). У данного автора в списке одна работа, поэтому «а» здесь не нужна.

В списке литературы:

№ 18. У Курскова А.Н. (1978) приведены стр. 125-134. Это книга, поэтому нужно было указать общее количество страниц. На стр. 125-135 (не 134!) «Приложения 1-8».

№ 58 и 87. Названия родов *Murina* и *Barbastella* должны быть выделены курсивом.

Есть неудачно построенные предложения: Стр. 11. «По теме диссертации опубликовано 10 публикаций, ... ». В тексте также имеются опечатки, несогласования слов, ошибки в пунктуации.

Большая часть приведенных замечаний имеет характер технических погрешностей и не умаляет значимость представленной работы. Считаю, что на защиту выносятся цельное исследование, имеющее научное и практическое значение, заслуживающее высокой оценки. Диссертация полностью соответствует современным требованиям, а её автор Горобейко Ульяна Васильевна достойна присуждения ей искомой учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.12 - зоология.

Докучаев Николай Евгеньевич

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологических проблем Севера Дальневосточного отделения Российской академии наук, заведующий лабораторией экологии млекопитающих, доктор биологических наук по специальности 03.00.08 - зоология, ученое звание – старший научный сотрудник.

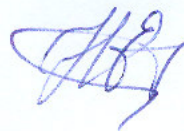
685000 г. Магадан, ул. Портовая, 18. ИБПС ДВО РАН

Тел.: 89148533851

E-mail: dokuchaev@ibpn.ru

Я, Докучаев Н.Е., даю согласие на включение своих персональных данных в документы, связанные с работой диссертационного совета, и их дальнейшую обработку.

28 декабря 2021 г. /



/ Докучаев Николай Евгеньевич

подпись Н.Е. Докучаева заверяю:

