



УТВЕРЖДАЮ

Проректор по научно-исследовательской
работе ФГБОУ ВО «Петрозаводский
государственный университет»

В. С. Сюнёв

2021 г.

ОТЗЫВ

ведущей организации федерального государственного бюджетного
образовательного учреждения высшего образования
«Петрозаводский государственный университет»
на диссертационную работу Томиловой Алёны Андреевны «Морфологическая
изменчивость и филогеография беззубки *Anodonta anatina* России и сопредельных
территорий», представленную на соискание ученой степени кандидата
биологических наук по специальности 1.5.12 – зоология (биологические науки)

Изучение внутривидовой изменчивости организмов в последние десятилетия получили новый импульс в связи с развитием и широким внедрением в исследовательскую практику методов молекулярной генетики, позволяющих эффективно решать спорные вопросы систематики и филогеографии. Современные подходы дают возможность выяснять закономерности диверсификации внутривидовых форм и проводить реконструкцию демографической истории популяций в условиях климатических и палеоэкологических изменений. Одним из популярных объектов изучения являются двустворчатые моллюски рода *Anodonta*, которые привлекают внимание исследователей помимо прочего высокой фенотипической изменчивостью на фоне низкого видового разнообразия – на основе морфологических, биогеографических и молекулярных данных в последнее время было установлено, что описанные многочисленные таксоны принадлежат к немногим конхиологически изменчивым видам.

Актуальность темы диссертационной работы Алёны Андреевны Томиловой очевидна и в первую очередь определяется выбором объекта – утиной беззубки *A. anatina*, которая в силу своей биологии является одним из лучших модельных объектов для выявления рефугиумов и связей между древними пресноводными бассейнами. К настоящему времени в Европе доказано существование трех генетических линий этого вида, тогда как к востоку – в России и на сопредельных территориях внутривидовая структура остается малоизученной.

Цель исследования – определить закономерности формирования морфологической изменчивости и провести реконструкцию расселения утиной беззубки в крупнейших пресноводных бассейнах России и сопредельных территорий, достигнута А. А. Томиловой благодаря решению четко сформулированных задач. В диссертации обозначенная научная проблема решается путем изучения морфологической и генетической изменчивости особей, филогеографических и демографических особенностей популяций вида.

Научная новизна результатов исследования не вызывает сомнений. На основе молекулярно-генетических данных выявлены биогеографические закономерности распространения утиной беззубки, получены новые доказательства существования на Кубано-Приазовской низменности плиоцен-плейстоценового рефугиума. Определены границы ареала вида на территории России, впервые обнаружена и описана новая генетическая линия из бассейна рек Азовского моря. Установлено, что беззубка *A. pseudodopsis*, известная из бассейна реки Оронт в Турции и Сирии, является внутривидовой линией утиной беззубки.

Теоретическая и практическая значимость. Значимость диссертации состоит в важности полученных результатов для понимания закономерностей формирования фенотипической изменчивости пресноводных двустворчатых моллюсков, в уточнении и обосновании новых границ распространения утиной беззубки в исследованном регионе. С практической точки зрения большую ценность представляют полученные в ходе исследования массивы нуклеотидных последовательностей генов митохондриальной и ядерной ДНК вида, размещенные в международной базе данных GenBank NCBI и доступные для научного сообщества. Результаты работы так же могут быть использованы при подготовке биологов и экологов в профильных подразделениях высших учебных заведений.

Краткая характеристика диссертации. Представленная работа изложена на 146 страницах, иллюстрирована 27 рисунками и 16 таблицами, состоит из списка сокращений и условных обозначений, введения, трех глав, заключения, выводов, списка литературы, включающего 186 работ, и приложения.

Первая глава посвящена обзору литературы. В соответствующих разделах подробно описана биология беззубок и их роли в функционировании экосистем,

дан обзор отечественных и зарубежных источников по систематике таксона, рассмотрены молекулярные маркеры, используемые для идентификации двустворчатых моллюсков семейства Unionidae, проанализирована филогения трибы Anodontini, обобщены сведения о географическом распространении утиной беззубки *A. anatina*.

Во второй главе дано описание материала и методов исследования. Всего изучено более 250 экземпляров моллюсков из крупных речных бассейнов от Карелии и Архангельской области до Якутии на севере и Турции и Казахстана на юге. При изучении фенотипической изменчивости традиционные методы сочетаются с современными компьютерными технологиями. Полученная геометрическая информация о форме раковин формализована методом Фурье и проанализирована с помощью методов многомерной статистики. Молекулярно-генетические исследования материала выполнены на современном оборудовании с использованием апробированных подходов. Морфологические и генетические методы описаны подробно, их изложение не вызывает сомнений в адекватности полученных результатов. Для выявления закономерностей пространственного распределения гаплотипов, построения генеалогии вида и расчета оптимальной эволюционной модели в рамках филогеографического и филогенетического исследований автор использовал все имеющиеся в международной базе данные по утиной беззубке. Полученные сведения по изменчивости вида обобщены в рамках реконструкции демографической истории популяций, подробно описаны методы моделирования и сравнения биогеографических сценариев. Отклонения хода эволюционного процесса при действии направленного отбора в популяциях или изменении их размера устанавливали с помощью тестов на нейтральность.

Результаты исследований приведены и обсуждаются в третьей главе. В первом разделе изучены возможности спейсеров ITS1 и ITS2 для определения видовой принадлежности беззубок. Установлено, что при их совместном использовании можно ускорить и облегчить процесс установления видовой принадлежности особей. Во втором разделе показана высокая изменчивость формы и окраски створок раковин утиной беззубки. Для экземпляров из рассмотренных климатических зон значимых морфологических отличий не выявлено, нет надежной дифференциации и между речными бассейнами. Значимые отличия по

высоте, очертанию брюшного края и симметрии спинного края раковины установлены только между крайними северными и южными популяциями вида. Показано, что высота раковины зависит от географической широты, на которой обитает популяция, и увеличивается с ростом средней летней температуры воздуха от субарктики до субтропиков. Разделение северных и южных популяций беззубки отмечено по изотерме 21°C. В третьем разделе даны результаты генетического анализа и изучения морфологических признаков *A. pseudodopsis*, описанного в качестве локального эндемика. Приведены убедительные доказательства в пользу того, что данный таксон является синонимом изучаемой утиной беззубки – собранные топотипы близки по генетике к *A. anatina* из Венгрии, Чехии и Хорватии, и относятся к евразийской генетической линии. Филогеография утиной беззубки описана в четвертом разделе. Подтверждено, что в России вид распространен в Европейской части и Сибири до бассейна реки Лена, проникает в Арктику и встречается до 68° северной широты. В реках Кубано-Приазовской низменности обнаружена генетически уникальная популяция вида. Полученные автором данные поддерживают гипотезу о том, что регион Азовского моря представлял собой древний рефугиум пресноводной фауны. Четыре гаплогруппы – евразийская, пиренейская, апеннинская и кубано-приазовская, имеют достаточно высокий уровень генетической дивергенции, который, согласно современным представлениям о молекулярной таксономии, соответствует уровню подвидов. Установлено, что утиная беззубка вселилась в Сибирь, Среднюю и Западную Азию из Европы. Пятый раздел посвящен филогенетическому и демографическому анализу популяций. Полученные результаты существенно расширяют современные представления о закономерностях расселения вида в Евразии и о наличии рефугиумов на континенте. Выделенные четыре внутривидовые генетические линии соответствуют описанным гаплотипам. Показано, что разделение современных субклад началось 6.11 млн. лет назад. Генетические линии утиной беззубки в Евразии были в значительной степени диверсифицированы начиная с позднего миоцена, а генетическая линия в реках Азовского бассейна отделилась от других субклад в позднем плиоцене вследствие изменения границ речной сети Понто-Каспийского бассейна. На основании демографического анализа популяций

установлено, что евразийская генетическая линия в настоящее время расширяет свой ареал, а распространение остальных субклад стабильно.

В заключении А. А. Томилова еще раз подчеркивает высокую изменчивость формы раковины утиной беззубки, наличие генетической и отсутствие значимой географической структурированности морфологии раковин у особей из изученных евразийских популяций. Автор обобщает результаты изучения филогеографии, филогенетики и демографии, закрепляет выделение четырех генетических линий, которые определяют внутривидовое разнообразие утиной беззубки в настоящее время, и кратко характеризует процесс их диверсификации, историческую и современную динамику.

Выводы полностью соответствуют поставленным задачам и отражают содержание работы.

Замечания по большей части касаются корректности оформления рукописи. Недостаточно проработанным блоком диссертации представляется протокол статистического анализа морфологической изменчивости особей – в работе использованы сложнейшие современные методы, но порядок их применения изложен слишком кратко. Диссертация не статья, ее формат позволяет обосновать использование каждого метода и подробно описать производимые манипуляции, не отсылая читателя к первоисточникам.

- 1) В тексте имена иностранных исследователей часто даны на языке оригинала, например, на стр. 4 автореферата значится: «...Результаты, представленные Froufe с соавторами...» или на стр. 24 диссертации «...M. Lopes-Lima с коллегами...». Правила требуют написания фамилий авторов на кириллице, желательно с инициалами. То же касается упоминания методов – вместо «...тесты Fu's Fs и Tajima's D...» должно быть «...тесты Фу Fs и Тадзимы D...».
- 2) Упоминания в тексте изучаемого вида часто бессистемны, например, на первых страницах автореферата встречаются самые разнообразные варианты: то *Anodonta anatina*, то *A. anatina*, то *Anodonta anatina* (Linnaeus, 1758), то *A. anatina* (Linnaeus, 1758) (*Bivalvia: Unionidae*). Полное название вида со ссылкой на первое описание принято приводить только при первом упоминании в тексте, далее достаточно русского названия или сокращенного латинского. Таксоны, к которым принадлежит вид, достаточно было указать в

названии работы или во введении и не тиражировать в тексте без достаточных на то оснований.

- 3) В обзоре литературы дана общая характеристика беззубок, но хотелось бы увидеть видовую специфику исследованного вида и прежде всего особенности биологии, которые делают *A. anatina* подходящим модельным объектом для выявления рефугиумов и связей между древними пресноводными бассейнами.
- 4) Не раскрыты причины уменьшения числа изучаемых выборок – имелось более 250 экземпляров из 54 локальных фаун, из которых для морфологического анализа отобрано 237 экземпляров из 39 локальных фаун.
- 5) Автор использует для изучения морфологической изменчивости формы раковин моллюсков сложный математический аппарат и вследствие краткости изложения основных подходов, равно как и результатов анализа возникает ряд вопросов общего и частного порядка. Какие цели преследовало использование компонентного анализа, что представляла из себя исходная матрица (объекты × признаки), изучали корреляции или ковариации признаков? Сколько информативных компонент получено и какие тренды изменчивости формы раковины они характеризуют? Насколько оправдано изучение компонент с помощью канонического анализа, каким образом сформирована исходная матрица здесь? Компонентный и канонический анализ по существу отличаются только тем, что в первом случае условием для итеративной процедуры подбора линейных индексов является максимизация дисперсии (информативности) компонент, во втором – межгрупповых отличий объектов.
- 6) В случае с многофакторным дисперсионным анализом так же непонятно, как был сформирован исходный массив данных, нет внятного определения градаций факторов. Ценность данного метода помимо прочего заключается в возможности оценить силу влияния факторов (по отдельности и вместе), но мы не нашли этих оценок. В таком случае более транспарентным методом было бы попарное сравнение выборок, тем более что использование многофакторного дисперсионного анализа лимитировано двумя жесткими, не всегда выполнимыми требованиями – нормальностью распределения частот и однородностью дисперсий во всех сравниваемых выборках.

- 7) Обсуждая результаты статистического исследования, следует констатировать, что структура морфологической изменчивости раковины оказалась достаточно сложной. Основная причина противоречий в выводах о морфологических отличиях, полученных с использованием разных подходов, кроется в показанной автором многовекторности трендов изменчивости. По итогам анализа можно заключить, что изменчивость формы раковины утиной беззубки требует специального, более детального изучения. Материал, собранный для генетического анализа в ряде выделов, по-видимому, не достаточен для окончательного решения вопроса о пространственных отличиях моллюсков.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертация Алёны Андреевны Томиловой является законченной научной квалификационной работой, выполненной автором самостоятельно на высоком научном уровне. Представленные материалы имеют высокую значимость, существенно расширяя представления о внутривидовой структуре и расселении утиной беззубки на востоке ареала – в России и на сопредельных территориях. Фундаментальная ценность работы заключается в познании закономерностей диверсификации внутривидовых форм и демографической истории популяций в условиях климатических и палеоэкологических изменений.

Автореферат в полной мере отражает основное содержание диссертации. Основные результаты апробированы в форме докладов на 6 международных и всероссийских конференциях и изложены в 10 статьях, 4 из которых опубликованы в научных журналах, рекомендованных ВАК и индексируемых в международных наукометрических базах данных Web of Science и Scopus.

Диссертационная работа «Морфологическая изменчивость и филогеография беззубки *Anodonta anatina* России и сопредельных территорий» соответствует всем требованиям, предъявляемым диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, изложенным в пп. 9-14 Постановления Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 «О порядке присуждения ученых степеней», а ее автор Томилова Алёна Андреевна заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.12 – зоология.

Отзыв составлен директором Института биологии, экологии и агротехнологий, кандидатом биологических наук, доцентом Кучко Тamarой Юрьевной, заведующим кафедрой зоологии и экологии, доктором биологических наук, доцентом Горбачом Вячеславом Васильевичем и профессором кафедры, доктором биологических наук, профессором Шустовым Юрием Александровичем и утвержден на заседании кафедры зоологии и экологии Института биологии, экологии и агротехнологий ФГБОУ ВО «Петрозаводский государственный университет», протокол № 1 от 15 сентября 2021 г.

Директор Института биологии, экологии и агротехнологий,
кандидат биологических наук
доцент

Тамара Юрьевна Кучко

Заведующий кафедрой зоологии и экологии,
доктор биологических наук,
доцент

Вячеслав Васильевич Горбач

Профессор кафедры зоологии и экологии,
доктор биологических наук,
профессор

Юрий Александрович Шустов

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Петрозаводский государственный университет»
185910, Россия, Республика Карелия, г. Петрозаводск, пр. Ленина, 33
Телефоны: +7(814-2)71-10-29, +7(814-2)71-10-01
Факс: +7(814-2)71-10-00
Адреса электронной почты: rectorat@petsu.ru, office@petsu.ru
Сайт организации: <https://petsu.ru/>

Подпись руки	<u>Кучко Тамара Юрьевна</u>
УДОСТОВЕРЯЮ.	
Уч. секретарь ученого совета	<u>Девятко Л.А.</u>
	«16» сентября 2021 г.

Подпись руки	<u>Горбач Вячеслав Васильевич</u>
УДОСТОВЕРЯЮ.	
Уч. секретарь ученого совета	<u>Девятко Л.А.</u>
	«16» сентября 2021 г.

Подпись руки	<u>Шустов Юрий Александрович</u>
УДОСТОВЕРЯЮ.	
Уч. секретарь ученого совета	<u>Девятко Л.А.</u>
	«16» сентября 2021 г.

В диссертационный совет Д 002.036.02
при Институте биологии внутренних вод
им. И.Д. Папанина РАН

Сведения о ведущей организации
по диссертации Томиловой Алёны Андреевны
«Морфологическая изменчивость и филогеография беззубки *Anodonta anatina*
России и сопредельных территорий», представленной на соискание ученой
степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.04 – Зоология

Полное наименование организации в соответствии с Уставом	Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Петрозаводский государственный университет»
Сокращенное наименование организации в соответствии с Уставом	ПетрГУ, Петрозаводский государственный университет, ФГБОУ ВО «Петрозаводский государственный университет»
Руководитель организации	Воронин Анатолий Викторович, доктор технических наук, профессор, ректор
Адрес (с указанием почтового индекса)	185910, Россия, Республика Карелия, г. Петрозаводск, пр. Ленина, 33
Телефон	телефон: +7(814-2)71-10-29, +7(814-2)71-10-01 факс: +7(814-2)71-10-00
Адрес электронной почты	rektorat@petsu.ru, office@petsu.ru
Адрес официального сайта	https://petsu.ru
Сведения о составителях отзыва	– Горбач Вячеслав Васильевич, доктор биологических наук, доцент, заведующий кафедрой зоологии и экологии Института биологии, экологии и агротехнологии ПетрГУ Телефон: +7(814-2)71-10-25, моб.: +7(921)701-5475 e-mail: gorbach@petsu.ru – Кучко Тамара Юрьевна, кандидат биологических наук, доцент, директор Института биологии, экологии и агротехнологии ПетрГУ Телефон, +7(814-2)71-10-37, моб.: +7(911)411-6813 e-mail: kuchko@petsu.ru – Шустов Юрий Александрович, доктор биологических наук, профессор кафедры зоологии и экологии Института биологии, экологии и агротехнологии ПетрГУ Телефон: +7(814-2)71-10-25, моб.: +7(921)450-3711 e-mail: shustov@petsu.ru

Список публикаций сотрудников ведущей организации по теме диссертации соискателя в рецензируемых научных изданиях за последние 5 лет (не более 15)

1. Бахмет И.Н., Кучко Т.Ю., Кучко Я.А. Особенности выращивания радужной форели (*Parasalmo mykiss*) в условиях Белого моря // Ученые записки Петрозаводского государственного университета. 2017. № 6 (167). С. 62-64.
2. Ильмаст Н.В., Кучко Я.А., Кучко Т.Ю., Беляев Д.С., Милянчук Н.П. Мониторинг экосистемы озера Гимольского (республика Карелия) // Ученые записки Петрозаводского государственного университета. 2017. № 4 (165). С. 34-38.
3. Кучко Я.А., Ильмаст Н.В., Кучко Т.Ю., Милянчук Н.П. Зоопланктон как кормовая база европейской ряпушки шхерного района северной части Ладожского озера // Ученые записки Петрозаводского государственного университета. 2017. № 2 (163). С. 39-45.
4. Лесонен М.А., Горбач В.В., Шустов Ю.А. Пищевые взаимоотношения обыкновенного сига (*Coregonus lavaretus*) и речного окуня (*Perca fluviatilis*) в малом лесном озере // Принципы экологии. 2017. № 4 (25). С. 37-45
5. Лобанова А.С., Сидорова А.И., Георгиев А.П., Шустов Ю.А., Алайцев Д.П. Роль инвазионного вида *Gmelinoides fasciatus* (Stebbing) в питании речного окуня *Perca fluviatilis* L. литоральной зоны Онежского озера // Российский журнал биологических инвазий. 2017. Т. 10. № 2. С. 81-87.
6. Онищенко И.Н., Онищенко Н.А., Шустов Ю.А., Тыркин И.А., Лесонен М.А., Лобанова А.С. Особенности распределения, питания и роста озерных рыб в зоне форелевых хозяйств (Республика Карелия) // Вода: химия и экология. 2017. № 4 (106). С. 86-92.
7. Кучко Т.Ю., Ильмаст Н.В., Кучко Я.А. Планктонные сообщества озера Охтанъярви (северо-западная Карелия) // Ученые записки Петрозаводского государственного университета. 2018. № 8 (177). С. 33-37.
8. Кучко Я.А., Ильмаст Н.В., Кучко Т.Ю. Гидробиоценозы озера Пандозеро (Заповедник Кивач, Карелия) // Вода: химия и экология. 2018. № 7-9 (116). С. 119-126.
9. Кучко Я.А., Ильмаст Н.В., Кучко Т.Ю. Характеристика зоопланктона Сямозера (Южная Карелия) по результатам многолетнего мониторинга // Известия Российской академии наук. Серия Биологическая. 2018. № 5. С. 557-564.
10. Шкляревич Г.А., Кучко Т.Ю. Китайский мохнаторукий краб *Eriocheirsinensis* осваивает новый ареал обитания // Вестник Мурманского государственного технического университета. 2018. Т. 21. № 2. С. 371-374.
11. Шустов Ю.А., Горбач В.В., Тыркин И.А. Сезонные особенности физических способностей речного окуня (*Perca fluviatilis* Linnaeus, 1758) // Труды Карельского научного центра Российской академии наук. 2018. № 6. С. 51-58.

12. Кучко Т.Ю. Обзор современного состояния и перспектив развития форелеводства в Республике Карелия // Рыбное хозяйство. 2019. № 6. С. 68-71.
13. Кучко Я.А., Ильмаст Н.В., Кучко Т.Ю. Гидробиоценозы озера Тулос (Юго-западная Карелия) // Самарский научный вестник. 2019. Т. 8. № 1 (26). С. 54-58.
14. Онищенко Н.А., Горбач В.В., Шустов Ю.А. Влияние объекта пресноводной аквакультуры на поведение и рост речного окуня // Экология. 2020. № 3. С. 209-214.
15. Shustov Yu.A., Lesonen M.A. Food competition of roach and perch in the water bodies of the Republic of Karelia // Hydrobiological Journal. 2021. V. 57. № 2. P. 17-25.

Ведущая организация подтверждает, что соискатель Томилова Алёна Андреевна не является сотрудником ПетрГУ и не имеет научных работ по теме диссертации, подготовленных на базе ПетрГУ или в соавторстве с сотрудниками ПетрГУ.

Проректор
по научно-исследовательской работе

19.04.2021



В. С. Сютёв