

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу Томиловой Алены 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

Крупные двустворчатые моллюски традиционно считаются одной из наиболее морфологически изменчивых, проблемных с точки зрения систематики групп макрозообентоса. Униониды играют важную роль в водных экосистемах, поскольку являются активными биофильтраторами. Часто пресноводные моллюски используются как виды-индикаторы загрязнения при оценке состояния водных объектов. Более того, они нередко становятся доступным источником пищи для водных и околоводных животных, часть из которых имеет важное хозяйственное значение или же находится под угрозой исчезновения. Таким образом, определение видовой принадлежности представителей этой группы, а также изучение их распространения нередко становится необходимым этапом для широкого спектра биологических исследований. Актуальность диссертационного исследования А. А. Томиловой, основанного на комплексном анализе морфологических и молекулярно-генетических данных, не вызывает сомнений.

Выполненная работа является оригинальным исследованием морфологической изменчивости и филогеографии *A. anatina*. Научная новизна, теоретическая и практическая значимость диссертационного исследования несомненны и заключаются в том, что А. А. Томиловой изучен ареал утиной беззубки на территории России. Полученные автором молекулярно – генетические данные дополняют недостающие сведения о полиморфизме популяций *A. anatina*. Поскольку вид характеризуется широким ареалом подобные исследования особенно важны для изучения

связей между древними пресноводными бассейнами. Наиболее значимым достижением диссертационного исследования стало обнаружение А. А. Томиловой новой генетической линии *A. anatina* в бассейне рек Азовского моря. Таким образом, полученные автором результаты подтверждают наличие плиоцен-плейстоценового рефугиума на данной территории. Другая генетическая линия *A. anatina*, найдена автором в пределах бассейна реки Оронт. Следует отметить, что А. А. Томиловой получены и депонированы в международную базу NCBI GenBank большой массив данных о нуклеотидных последовательностях двух фрагментов митохондриальных (COI, 16S рРНК) и одного ядерного (28S рРНК) генов, которые в настоящее время доступны для других исследователей.

Основная цель рассматриваемой работы – определить закономерности формирования морфологической изменчивости и провести реконструкцию расселения утиной беззубки *Anodonta anatina* (Linnaeus, 1758) в крупнейших пресноводных бассейнах России и сопредельных территориях с применением статистических, филогенетических и филогеографических методов анализа. Для достижения поставленной цели диссертантом сформулирован ряд задач, которые были успешно решены в ходе исследования.

Работа имеет логичную структуру и состоит из введения, трех глав, заключения, выводов, перечня сокращений, списка использованной литературы и приложения. Во «Введении» кратко изложены актуальность избранной темы исследования, показана степень ее разработанности, сформулированы цель и задачи исследования, научная новизна, теоретическая и практическая значимость, выносимые на защиту положения. Отмечено, что Алена Андреевна принимала непосредственное участие во всех этапах работы. Перечислены научные конференции, на которых автор делал доклады по теме диссертационной работы, указаны публикации автора, в числе которых 4 статьи в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК и индексируемых в международных наукометрических базах данных Web of Science и Scopus. Материалы диссертации изложены на 146 страницах,

иллюстрированы 27 рисунками и 16 таблицами. Список цитируемой литературы включает 186 источников, из которых 165 – на иностранных языках.

Первая глава представляет собой обзор литературы, который дает представление о биологических особенностях унионид и их роли в экосистемах, также отмечены проблемы систематики представителей рода *Anodonta*. Рассмотрены современные филогенетические исследования группы с применением молекулярно-генетических маркеров. Один из разделов посвящен представлениям о биогеографии *A. anatina*. Показано, что использование классических морфометрических измерений не позволяет достоверно определить видовую принадлежность крупных двустворчатых моллюсков. В работе присутствуют ссылки на публикации, в которых многочисленные номинальные таксоны унионид признаны синонимами небольшого числа полиморфных видов. Автор отмечает, что систематика этой группы моллюсков до сих пор остается предметом дискуссий. Алена Андреевна приходит к выводу о необходимости применения интегративного подхода для изучения основных вопросов систематики унионид.

Также автор работы отметил, что ранее было изучено генетическое разнообразие европейских популяций *A. anatina*, обитающих в водных объектах от Португалии до юго-запада Украины (Froufe et al., 2014), при этом генетический анализ выборок из популяций, обитающих на территории РФ, не проводили. Следовательно, диссертационное исследование А.А. Томиловой вносит существенный вклад в изучение филогеографии утиной беззубки.

Вторая глава («Материалы и методы») включает следующие разделы: места сбора материала, сравнительно-морфологический и молекулярно-генетический анализ, определение длин фрагментов спейсеров ITS1 и ITS2, филогеографический и филогенетический анализы, а также анализ демографической истории популяций. Все этапы исследования выполнены на высоком методическом уровне с применением современных методов обработки и анализа материала. Последовательность анализа и методы

статистической обработки подробно описаны в диссертационной работе. В ходе работы автором проанализирован большой объем материала, территория исследования обширна и охватывала пресноводные объекты от Псковской области до республики Саха (Якутия). Следует отметить интересный подход, примененный автором для анализа морфологической части работы. Образцы *A. anatina* были разделены на группы по разным типам климата, различающимся по температурным условиям и количеству осадков. Анализ формы раковин проводили методами геометрической морфометрии, с использованием всех необходимых в данном случае статистических методов.

В качестве рекомендации необходимо отметить, что в начале раздела, посвященному морфологическому анализу необходимо указать максимальные и минимальные размеры исследуемых особей, поскольку важно исключить влияние возрастных изменений на форму раковин моллюсков.

В филогеографической части исследования автором рассмотрен полиморфизм последовательностей двух фрагментов митохондриальных (COI, 16S рРНК) и одного ядерного (28S рРНК) генов. Следует отметить, что анализ только митохондриальных маркеров позволил бы вполне успешно решить поставленные автором задачи, дополнительный анализ ядерной ДНК не нужен в данной работе. Тем более, что выбор маркера не вполне удачен, поскольку фрагмент гена 28S рРНК считается консервативным участком ядерной ДНК и по этой причине он не подходит для изучения расселения вида.

В третьей главе анализируются результаты, полученные в ходе исследования. Показано, что анализ длины транскрибируемых спейсеров ITS1 и ITS2 может быть применен для идентификации видовой принадлежности унионид. Следует отметить, что Алена Андреевна предлагает использовать этот метод в качестве дополнительного, и это вполне корректно, поскольку нельзя полностью исключить возможное варьирование длины этого участка некодирующей ядерной ДНК. Применение данного маркера для предварительного анализа вполне оправданно, поскольку в некоторых случаях

такой подход действительно позволит сократить время и финансовые затраты на проведение исследований.

В следующих двух разделах показаны изменения формы раковины особей утиной беззубки в зависимости от климатической зоны. Значимые различия по форме раковины (высота контура, очертания его брюшного и симметрии спинного края) установлены автором между крайними северными и южными популяциями вида.

Отмечено, что особи *A. pseudodopsis* Locard, 1883, обитающего в пределах бассейна реки Оронт, имеют более округлую форму раковины по сравнению с другими представителями вида *A. anatina*. Согласно результатам анализа фрагмента гена мтДНК (COI), выборки *A. pseudodopsis* наиболее близки (но не идентичны) по последовательностям нуклеотидов к Евразийской генетической линии утиной беззубки. Вывод автора работы о принадлежности особей *A. pseudodopsis* и *A. anatina* к одному виду не вызывает сомнений. Тем не менее эту внутривидовую линию, на мой взгляд, можно рассматривать в качестве отдельного подвида.

К одному из наиболее важных результатов данного раздела диссертационной работы можно отнести выявление автором новой генетической линии *A. anatina*, представители которой обитают в реках бассейна Азовского моря.

В ходе филогенетического и демографического анализа рассчитано приблизительное время дивергенции основных групп популяций и определен наиболее вероятный сценарий, выявляющий порядок изоляции рефугиумов *A. anatina* в Европе. На основании демографического анализа популяций установлено, что в настоящее время происходит расширение ареала Евразийской генетической линии.

Заключение и выводы диссертационной работы Алены Андреевны соответствуют поставленным задачам и вполне логично сделаны на основе полученных результатов. Достоверность выводов, основанных на анализе большого объема материала не вызывает сомнений.

Замечания:

1. В названии рекомендую заменить *Anodonta anatina* на *Anodonta anatina* (Linnaeus, 1758).
2. В литературном обзоре недостаточно полно представлена информация о способах распространения вида, указан только наиболее известный из них, осуществляемый путем переноса глохидиев на жабрах рыб. При этом в работе отсутствуют сведения о видах рыб, которые могут быть хозяевами глохидиев.
3. В абзаце, где описано влияние различных факторов окружающей среды на темпы роста двустворчатых моллюсков следовало бы указать ссылки не только на работы зарубежных авторов, но и цитировать отечественные публикации, например, монографию, указанную ниже.

Алимов А. Ф. Функциональная экология пресноводных двустворчатых моллюсков. Труды Зоологического института АН СССР. Т.96. Л.: Наука, 1981. 248с.

4. На стр. 71, в таблице 12 «Положение вариабальных нуклеотидов...» вариабельные нуклеотиды отсутствуют в положении 368.
5. Согласно мнению к.б.н. В.В. Павловой, автор использует понятия «высота раковины», «очертания брюшного края» и «симметрия спинного края» не всегда корректно. Измерение и анализ этих признаков по отдельности не проводились, работа велась по очертаниям раковин, поэтому следует говорить об их очертаниях или о форме в целом. Следует отметить, что в некоторых случаях, например, на с. 63 упомянутые понятия употребляются уместно («... крайние вариации очертаний раковин с наименьшей высотой створок», «характерны очертания раковин с наибольшей высотой створок»). Случаи некорректного использования отмечены на с.10 (Положение, выносимое на защиту: «Высота раковин утиной беззубки зависит от географической широты»), с. 59

(«Следовательно, раковины собранные в популяциях беззубки с субарктическим климатом имели статистически меньшую высоту раковин...»), с. 63 («между выборками ..., для которых характерны крайние значения высоты створок ...»), с. 93 («... не установлено значимых морфологических отличий по высоте, очертанию брюшного края и симметрии спинного края»), с. 95 (Вывод 2: «Значимые отличия по высоте, очертанию брюшного края и симметрии спинного края раковины...»).

6. Формулировка первого вывода не вполне удачна. Необходимо уточнить, для каких видов возможно применение предложенного метода идентификации. Отметим, что автор анализировал длины транскрибируемых спейсеров ITS1 и ITS2 не для всех видов беззубок. Например, в анализ не были включены виды унионид, обитающих в Северной Америке.
7. Автор оценивал изменчивость формы раковины беззубок в зависимости от климатической зоны, в которой обитает популяция. Во втором положении, выносимом на защиту, а также во втором выводе указывается зависимость признаков формы раковины от географической широты. Однако географическая широта, согласно тексту диссертационной работы, не использовалась в качестве переменной в морфологическом анализе.
8. В приложении не расшифровано сокращение «n/a».

Все вышеизложенные замечания не умаляют достоинств диссертационной работы: соискателем выполнен большой объем исследований на современном научном уровне. В целом, выполненная работа производит благоприятное впечатление. Содержание автореферата согласуется с текстом диссертационной работы.

Диссертационная работа Томиловой Алены Андреевны «Морфологическая изменчивость и филогеография беззубки *Anodonta anatina* России и сопредельных территорий» по актуальности, новизне, методическому уровню

и научно-практической ценности полностью соответствует требованиям, установленным в пунктах 9-11, 13 и 14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением правительства Российской Федерации от 24.09.2013 года №842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, а ее автор, Томилова Алена Андреевна, без сомнения, заслуживает присуждения степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.12 – Зоология.

Официальный оппонент,
кандидат биологических наук по специальности 03.00.16 – Экология,
старший научный сотрудник лаборатории экологии водных беспозвоночных
Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института
биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН

« 16 » сентября 2021 г. Ворошилова Ворошилова Ирина Сергеевна

Контактные данные:

тел.: 8 (920)1186125, e-mail: issergeeva@yandex.ru

Адрес места работы: 152742 Ярославская обл., Некоузский р-н, п. Борок, д. 109. Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН.



Подпись Ворошиловой И.С.
удостоверяю
Ведущий инспектор отдела кадров ИБВВ РАН
Васил Голосовская И.В.
« 16 » сентября 20 21 г.

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

Я, Ворошилова Ирина Сергеевна, даю согласие выступить официальным оппонентом по диссертации **Томиловой Алёны Андреевны** на тему «**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**.

СВЕДЕНИЯ ОБ ОППОНЕНТЕ

1. Ученая степень, ученое звание, отрасль науки и научная специальность, по которой защищена диссертация: кандидат биологических наук, без звания, биологические науки, экология.
2. Место работы (полное наименование организации): Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина Российской академии наук
3. Сокращенное наименование организации: ИБВВ РАН
4. Почтовый адрес организации с указанием индекса: 152742 Ярославская обл., Некоузский р-н, п. Борок, д. 109
5. Адрес официального сайта в сети Интернет: <https://ibiw.ru>
6. Название структурного подразделения: Лаборатория экологии водных беспозвоночных
7. Должность: старший научный сотрудник
8. Телефон с указанием кода города: +7(920)1186125
9. Адрес электронной почты: issergeeva@yandex.ru
10. Список основных публикаций по профилю оппонируемой диссертации в рецензируемых научных изданиях за последние 5 лет (не более 15):

1. **Ворошилова И.С.** 2016. Проблемы и перспективы применения молекулярно-генетических методов для таксономической ревизии пресноводных моллюсков // Молекулярная генетика гидробионтов. Труды Института биологии внутренних вод им. И. Д. Папанина РАН, вып. 73 (76) Под ред. Б.А. Левина. Ярославль: Филигрань. с. 12-24.
2. **Voroshilova I.S.** 2016. Genetic markers in studies on dreissenides (Dreissenidae, Bivalvia) // Biology Bulletin. Т. 43. №.10. p. 1301–1307.
3. **Voroshilova I.S.** 2016. Morphological and genetic identification of freshwater dreissenid mussels: *Dreissena polymorpha* (Pallas, 1771), *D. rostriformis bugensis* Andrusov, 1897 (Dreissenidae, Bivalvia) // Russian Journal

of Biological Invasions. Т. 7. №1. С. 26-32.

4. **Ворошилова И.С.**, Ежова Е.Е., Павлова В.В. 2018. Генетическое разнообразие первой балтийской популяции *Rangia cuneata* (Bivalvia: Mactridae) // Российский журнал биологических инвазий. Т. 11. № 1. С. 26-32.
5. Пряничникова Е.Г., **Ворошилова И.С.**, Сабитова Р.З. 2019. Вселение (Müller, 1774) (Mollusca: Bivalvia: Corbiculidae) в бассейн р. Волги // Биология внутренних вод. № 2-2. С. 95-98.
6. **Ворошилова И.С.**, Пряничникова Е.Г., Прокин А.А., Сабитова Р.З., Карабанов Д.П., Павлов Д.Д., Курина Е.М. 2020. Морфологические и генетические особенности первой инвазионной популяции восточной корбикулы *Corbicula fluminea* (O.F. Müller, 1774), натурализовавшейся в бассейне Волги // Российский журнал биологических инвазий. Т. 13. №. 4. С. 45-54.

Старший научный сотрудник лаборатории
экологии водных беспозвоночных
ФГБУН Институт биологии внутренних
вод им. И.Д. Папанина РАН,
кандидат биологических наук

Ворошилова

Ворошилова Ирина Сергеевна

15.04.2021

