

ОТЗЫВ**официального оппонента на диссертацию на соискание ученой степени****кандидата биологических наук****Горина Владислава Анатольевича****на тему «Филогения, систематика и историческая
биогеография узкоротов подсемейства *Microhylinae* (*Amphibia*:
Anura: *Microhylidae*)» по специальности 1.5.12 – «зоология»**

В современном мире в связи с возрастающим пониманием ценности изучения и сохранения биоразнообразия и влияния растущей антропогенной нагрузки на природные комплексы все большую ценность и значимость приобретают исследования, посвященные изучению филогении, систематики и биогеографии различных групп организмов с применением широкого спектра традиционных и молекулярных методов. В настоящий момент систематика переживает свой «серебряный век» и вызывает огромный интерес ученых во многом в связи с расцветом молекулярно-генетического подхода. В последние десятилетия отмечено существенное ускорение роста таких исследований современных амфибий, что в значительной степени объясняется быстрым развитием и расширением арсенала полевых и лабораторных методов. Одновременно происходит и резкое сокращение популяций амфибий, в основном из-за истребления людьми, разрушения среды обитания, опасных болезней: под серьёзной угрозой исчезновения, и эти обстоятельства также стимулируют изучение различных аспектов биоразнообразия земноводных. Современные исследования уже привели к важным результатам, позволившим сформулировать принципиально новые представления о составе и происхождении фаун значительных территорий и филогении крупных таксономических групп. Стало аксиомой, что разнообразие этих позвоночных животных значительно недооценено.

Азиатское подсемейство узкоротых лягушек *Microhylinae* Günther, 1858 (1843) (*Anura*: *Microhylidae*) представляет собой перспективную модельную

группу для исследований закономерностей и процессов, определивших разнообразие земноводных тропической Азии. Оно включает около 120 видов, распространенных практически по всем тропическим регионам Южной, Юго-Восточной и Восточной Азии. Для этой группы характерно значительное морфологическое и экологическое разнообразие; широкий биотопический и ландшафтный диапазон от почти пустынных прибрежных песчаных районов до влажных вечнозеленых тропических лесов и широкое разнообразие стратегий размножения и развития личинок. Узкороды подсемейства *Microhylinae* крайне разнообразны по размерам тела (от довольно крупных для бесхвостых амфибий (около 10 см) до наиболее миниатюрных для наземных позвоночных с длиной тела около 1 см, есть и значительные морфологические особенности строения скелета. Исследования этой группы земноводных позволяет осветить и более общие важнейшие вопросы исторической биогеографии тропической Азии, а также эволюции стратегий размножения, размеров тела, образа жизни, репродуктивной биологии бесхвостых земноводных, и способствовать разработке мер по сохранению выявленного разнообразия.

Цель и задачи исследования. Цель работы:

Целью настоящей работы является оценка таксономического разнообразия, реконструкция основных биогеографических событий, а также оценка роли миниатюризации в эволюционной истории лягушек подсемейства *Microhylinae* (Anura: *Microhylidae*). Диссертационное исследование В.А. Горина посвящено именно этой теме, что определяет его высокую актуальность и научную значимость. Для достижения поставленной цели сформулированы следующие задачи: 1. Выявить филогенетические связи представителей подсемейства по данным анализа мт- и яДНК-маркеров на максимально широком наборе таксонов. 2. Оценить таксономическое разнообразие подсемейства *Microhylinae* по данным фрагмента 12S рРНК — 16S рРНК (мтДНК), основываясь на обширном оригинальном материале и данных, опубликованных ранее. 3. По полученным филогенетическим данным применить метод молекулярных калибровок для оценки вероятных времен основных кладогенетических событий в истории подсемейства *Microhylinae*. 4. Провести анализ исторической биогеографии узкородов *Microhylinae* по полученным данным о его филогении и

сопоставить итоговый эволюционный сценарий для подсемейства с доступными данными о палеогеографии Азии. 5. Смоделировать эволюцию размеров тела в истории узкоротов подсемейства *Microhylinae*. Использование интегративного подхода к изучению этой обширной группы и определяет актуальность и научную значимость работы.

Работа В.А. Горина представляет собой масштабное интегративное исследование, сформировавшее новые представления об эволюционных связях, генетическом, морфологическом и таксономическом разнообразии подсемейства *Microhylinae*. Впервые на основании обширного оригинального материала по данным анализа мтДНК и яДНК предложена филогенетическая гипотеза для семейства, включающая 102 вида (около 90% от известного разнообразия), проведено масштабное исследование разнообразия *Microhylinae* по данным мт- и яДНК от 528 экземпляров из 153 локалитетов практически со всего ареала семейства. В ходе работы были формально описаны восемь новых видов и один новый род лягушек *Microhylinae*. Применен мультилокусный молекулярно-генетический анализ собранного материала и последующий филогенетического анализа с использованием набора современных программ и алгоритмов.

Диссертация структурирована в традиционном стиле, она содержит следующие разделы: «Оглавление», «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы», «Результаты», «Обсуждение», «Заключение», «Выводы», «Благодарности», «Список литературы», включающий 118 источников, из них 1 – на русском и 117 – на иностранных языках, и «Приложения». Работа изложена на 217 страницах машинописного текста и включает 11 таблиц и 37 рисунков. Приложения представлены на 69 страницах и содержат 9 таблиц и 11 рисунков. Диссертация хорошо написана: полемично, четким, доступным языком, и хорошо структурирована, что существенно облегчает восприятие большого объема материала.

В **Главе1. «ВВЕДЕНИЕ»** убедительно обоснована актуальность работы, научная новизна и практическая значимость, сформулированы цели и задачи

работы.

Глава 2 «ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ» состоит из 7 разделов, каждый из которых детально трактует существующие данные по тем вопросам, которые диссертант исследует в своей работе, он богато иллюстрирован рисунками, демонстрирующими представления о филогенетических связях по данным последних молекулярно-генетических и морфологических. Первый подраздел посвящен общей характеристике микрохилид. Второй подраздел описывает молекулярно-генетические исследования, посвященные подсемействам микрохилид. Третий подраздел, наиболее объемный, рассматривает историю изучения типового подсемейства *Microhylinae* и филогенетические связи внутри него. Четвертый и пятый подразделы посвящены, соответственно, исследованиям исторической биогеографии в Юго-Восточной Азии в целом и подсемейства *Microhylinae* в частности. Шестой подраздел очень кратко описывает исследования, посвященные остеологии лягушек подсемейства *Microhylinae*. Наконец, последний, седьмой, подраздел посвящен обширной теме миниатюризации у бесхвостых земноводных. В целом, весь раздел представляет исчерпывающую информацию об исследованиях микрохилид на разных уровнях. Все разделы «Обзора литературы» написаны достаточно лаконично, но при этом информативны и показывают, что диссертант свободно ориентируется в тематике своего исследования. В целом эта глава очень сбалансирована и, несмотря на подробность, не содержит ничего лишнего.

Глава 3 «МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ» содержит описание исследованного материала и изложение использованных в интегративном исследовании методик, которое отличается четкостью и достаточной подробностью. Он разбит на подразделы, отражающие разные этапы работы диссертанта. Материал исследования впечатляет — автором изучены пробы тканей от 230 экземпляров лягушек подсемейства *Microhylinae*, собранных лично или полученных от коллег или из герпетологических коллекций. Дополнительно в анализ вошли последовательности от 218 экземпляров *Microhylinae*, полученные из базы данных ГенБанк NCBI (Таблица приложения 1), а также геномные данные от 78 экземпляров из работы Ту с соавторами (Tu et al., 2018) (Таблица приложения 2). т.е. в общей сложности исследована

генетическая информация от более 528 экземпляров представителей *Microhylinae* из 153 локалитетов практически со всего ареала семейства от 102 признанных на сегодняшний день видов. Автор достаточно подробно описывает источники его данных, приводит описания молекулярно-генетических методов и филогенетического анализа. Оценка видовых границ была произведена с помощью четырех разных алгоритмов. Описывается методология анализа времен дивергенции эволюционных событий в подсемействе. Приводится используемое для биогеографического анализа районирование, кратко описан метод реконструкции предковых ареалов. На основании данных морфометрии и полученной филогении приводится описание параметров моделирования эволюции размеров тела. Наконец, описываются два подхода к изучению остеологического разнообразия в подсемействе. Хотя этот раздел и один из самых маленьких (всего 12 страниц), методология исследования описана достаточно хорошо, снабжена наглядными иллюстрациями. Громоздкие таблицы исследованных материалов, которые могли бы «раздуть» данный раздел, были автором отнесены в «Приложение».

В целом знакомство с главой «Материалы и Методы» позволяет заключить, что диссертация является результатом огромного кропотливого труда и основана на обширном и корректно собранном материале. Применяемые подходы в подавляющем большинстве случаев абсолютно адекватны, использованы самые современные методы филогенетического анализа.

Четвертый раздел — «4. РЕЗУЛЬТАТЫ» излагает результаты проведенного исследования. Структура изложения этого раздела отражает структуру «Материалов и методов». Стоит отметить, что подробность изложения результатов неравномерна. Наибольшее внимание автор уделяет группировке *Microhyla-Nanohyla-Glyphoglossus*. Результаты анализов по остальным родам описаны гораздо менее подробно. Такое решение объясняется большим видовым разнообразием группировки *Microhyla-Nanohyla-Glyphoglossus*, которое составляет почти две трети от всего разнообразия подсемейства, а также большим количеством материала именно по данной группировке. Необходимо отметить, что моделирование размеров тела было

произведено только для группировки *Microhyla-Nanohyla-Glyphoglossus*, а не для всего подсемейства. Огромный интерес представляют остеологические диагнозы для родов данного подсемейства. Раздел сопровождается красочными рисунками, полученные дендрограммы иллюстрированы фотографиями исследованных животных. Благодаря проделанной работе над рисунками и таблицами, объемный материал раздела (50 страниц) очень хорошо воспринимается.

Автор представляет наиболее полную филогению подсемейства Microhylidae по мультилокусным данным, выделяет в подсемействе три клады. Род *Microhyla*, включающий почти половину разнообразия подсемейства, получил от автора наибольшее внимание, для данного рода выделены видовые группы. Алгоритмы разграничения видов указывают на наличие значительного неопisanного разнообразия — от 14 до 30 новых видов автору еще предстоит описать в ходе дальнейшей работы. Биогеографическая реконструкция автором приведена в двух частях: для группировки *Microhyla-Nanohyla-Glyphoglossus* и рода *Chaperina*, и для оставшихся родов. Предполагаемые события (расселение, викариация) описываются «широкими мазками», в основном для узлов, которые Горин Владислав Анатольевич посчитал важными для исследования. Датировки и их доверительные интервалы приведены в тексте так же только для избранных событий.

Раздел «**5. ОБСУЖДЕНИЕ**» включает 30 страниц, посвященных интерпретации полученных результатов в свете современных представлений о филогенетических связях, систематике и биогеографии узкоротых квакш подсемейства Microhylinae. Раздел представлен четырьмя лаконично названными подразделами.

В первом подразделе «**5.1 Филогения**» коротко обсуждаются наиболее крупные открытия диссертанта в соответствующей теме: глубокая дифференциация подсемейства на три линии, положение рода *Chaperina* в подсемействе Microhylinae, глубокая дифференциация двух линий *Microhyla* — *Microhyla sensu stricto* и новый род, описанный автором, *Nanohyla*.

Второй подраздел «**5.2 Систематика**», наиболее объемный, начинается с короткого описания истории изменения представлений о систематике микрохилид начиная с 1934 года, когда Х.В. Паркер опубликовал первую

монографию, посвященную систематике семейства Microhylidae по данным остеологии. Отдавая должное работе Паркера, автор приводит серьезную критику морфологического подхода для построения системы данного подсемейства. По мнению диссертанта, морфология скелета лягушек данного подсемейства в значительной степени обуславливается параллельными процессами. В результате параллельной миниатюризации происходит переход к одним и тем же состояниям признаков. В данном подразделе представлены и основные таксономические открытия автора: девять новых описанных таксонов, среди которых есть даже новый род. Эти таксономические прибавления отчасти компенсируются синонимизацией некоторых видов, а также предложением рассматривать род *Metaphrynella* в составе *Phrynella*, в виду отсутствия между ними существенных различий. В конце подраздела Горин Владислав Анатольевич предлагает новую систему для подсемейства Microhylinae, которая включает три трибы, девять родов и 115 видов.

В третьем подразделе «**5.3 Историческая биогеография**» рассмотрены проблемы исторической биогеографии подсемейства Microhylinae, а также предложен новый сценарий их расселения. В данном подразделе автор рассматривает биогеографию азиатских микрохилид с двух независимых точек зрения. Первая точка зрения включает две гипотезы происхождения современной фауны Юго-Восточной Азии (ЮВА): «из Индии в ЮВА» и «из ЮВА в Индию». Автор убедительно показывает сложный, двусторонний характер исторического формирования фауны, обсуждает актуальность двух гипотез в разные промежутки времени. Вторая точка зрения, коротко описываемая автором, представляет историческое расселение фауны с помощью дихотомии гипотез «с островов на континент» и «с континента на острова». Согласно автору, лягушки данного подсемейства более явно иллюстрируют гипотезу «с континента на острова».

Наконец, последний подраздел «**5.4 Миниатюризация**» посвящен проблеме изменения размеров тела в ходе эволюции подсемейства Microhylinae. Этот раздел, хоть и не отраженный в явном виде в названии диссертационного исследования, посвящен крайне актуальной проблеме, которую традиционно рассматривали на примере хвостатых земноводных. Учитывая отсутствие таких

больших работ по миниатюризации бесхвостых земноводных, исследование Горина Владислава Анатольевича представляется еще более актуальным и фундаментальным. В данном подразделе описываются последствия миниатюризации, независимо возникающих в разных линиях подсемейства *Microhylinae*. Особенно интересные закономерности автор обнаруживает в строении позвоночника и скелета свободных конечностей. Кратко обсуждается важность эволюционного увеличения размеров тела.

Емкий подраздел «**Заключение**» тезисно суммирует основные достижения автора в ходе выполнения данной работы.

Раздел «**6. ВЫВОДЫ**» завершает основную часть работы. В разделе перечислены все полностью обоснованные результаты, которые представляет автор. Все выводы полностью соответствуют поставленным задачам.

Оставшиеся разделы посвящены изложению полного списка цитированных работ («**7. СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**») и вспомогательных материалов («**8. ПРИЛОЖЕНИЕ**»), представленных в полной мере.

Данная диссертационная работа произвела на меня прекрасное впечатление. Результаты, которые диссертант представляет по самым разным аспектам эволюции микрохилид, имеют фундаментальное значение для зоологии в целом. Отдельно стоит выделить блестящее оформление данной работы. Однако, в работе присутствуют спорные моменты, которые нуждаются в обосновании:

1) очень неоднозначным представляется решение автора объединить данные ядерной и митохондриальной ДНК. На сегодняшний день достаточно хорошо известно, что митохондриальная и ядерная ДНК эволюционируют по-разному и зачастую показывают разные филогенетические картины. Иногда в работах проводят тесты на совместимость этих данных, и, в зависимости от результата, либо объединяют, либо смотрят по отдельности. В работа Владислава Анатольевича Горина эта проблема никак не обсуждается.

2) в работе для установления родственных связей используются молекулярно-генетические данные, которые затем подкрепляются морфологическими (остеологическими) данными. При этом, как написано в литобзоре и частично в обсуждении, ранняя система микрохилид была сделана

Х.В. Паркером именно по скелетам. Наверное, с точки зрения более традиционного морфологического подхода, было бы правильнее либо рассмотреть две альтернативные картины, либо попробовать объединить наборы данных и посчитать какую-нибудь матрицу из генетических и морфологических данных. Тем не менее, диссертант таких сравнений не проводил, оставив вопрос родства на откуп исключительно молекулярным методам, только лишь подкрепляя их морфологическими. Не умаляя результатов автора, хотелось бы знать, почему используется такой односторонний подход к материалу, и почему данные морфологии используются только для обсуждения последствий миниатюризации и адаптаций к образу жизни?

3) отдельный подраздел обсуждения отведен изложению мыслей автора по поводу явления миниатюризации в группе узкоротых лягушек. Некоторое недоумение вызывает то, что эта интереснейшая проблема ни в каком виде не отражена в названии работы, хотя представляет собой одну из основных частей исследования и освещена достаточно подробно. Любопытно было бы узнать, почему автор решил опустить упоминание миниатюризации в названии своей работы.

В заключение хочу заметить, что вышеприведенные замечания не сказываются на общей высокой оценке диссертации. На мой взгляд, диссертация Владислава Анатольевича Горина «Филогения, систематика и историческая биогеография узкоротов подсемейства *Microhylinae* (Amphibia: Anura: *Microhylidae*)» представляет собой целостное, завершенное исследование, выполненное на крайне высоком уровне методическом и методологическом аспектах, имеющее огромную научную значимость. Важно отметить значительный вклад автора в таксономию бесхвостых амфибий, а также другие результаты, имеющие общетеоретическое значение для зоологии как таковой. Результаты работы хорошо представлены в публикациях — девятью статьями в журналах и еще шестью публикациями в сборниках в качестве тезисов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертация отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В. Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует специальности «1.5.12» (по биологическим наукам), а также критериям, определенным п.п. 2.1-2.5 Положения присуждения ученых степеней в Московском государственном университете имени М. В. Ломоносова. Диссертационная работа оформлена согласно приложениям № 5, 6 Положения о диссертационных советах Московского государственного университета.

Таким образом, соискатель В.А. Горин заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.12 — «ЗООЛОГИЯ».

Официальный оппонент:

Ананьева Наталья Борисовна

Доктор биологических наук, профессор

Заведующая лабораторией

ФГБУН «Зоологический институт» РАН

190121, Санкт-Петербург, Университетская наб., д. 1

Тел +7 (812

E-mail: nan:

Дата отзыва: 7 ноября 2022 г.

Специальность, по которой официальным оппонентом защищена диссертация:
03.00.08 «зоология»

Подпись руки
Н.Б. Ананьева
Удостоверение
Ученый секретарь
Бредерадки

ТЕМАТИЧЕСКАЯ КОМИССИЯ
ТЕГГО ОБРАЗОВА

ИНО.ЕО.А