

Отзыв официального оппонента
на диссертацию Юзефовича Александра Павловича по теме
«**Систематика и границы таксонов листоносов семейства *Hipposideridae*
(Mammalia: Chiroptera; *Hipposideros* Gray, 1831
и близкие роды)»,
представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук
по специальности 1.5.12. Зоология**

Актуальность темы диссертационного исследования

Работа представляет фундаментальный научный интерес в контексте изучения эволюционной биологии и фаунистики. Исследование фокусируется на *Hipposideros* - наиболее крупном роде семейства *Hipposideridae*, касаясь также двух близких родов *Aselliscus* и *Coelops*. В систематике листоносов Старого Света по-прежнему остаётся много спорных моментов, это связано с запутанной структурой типового рода *Hipposideros*, осложненной наличием криптического разнообразия внутри видовых комплексов листоносов. Листоносы – это весьма многочисленное и широкоареальное семейство рукокрылых. Для понимания благополучия каждого вида в природе, разработки мер охраны и принятия стратегий рационального природопользования необходимы актуальные знания о филогеографии, генетическом полиморфизме и видовых границах, а также о его эволюционной истории.

Научная новизна представленной работы

Александр Павлович в своей диссертации получил уникальные данные о генетической изменчивости ядерных и митохондриальных маркеров листоносов на территории Юго-Восточной Азии, это позволило автору провести ревизию рода *Hipposideros* на современном уровне. Данные молекулярной систематики представляют собой ценный инструмент исследования разнообразия этих летучих мышей, поскольку традиционные подходы, основанные на морфологических промерах, в частности, на комплексе краниометрических признаков, оказались неинформативны для ревизии группы. Анализ митохондриальных и ядерных маркеров, полученных на оригинальном материале, позволяет существенно

расширить представления о структуре семейства Hipposideridae. Топологии, рассчитанные каждым из методов, не имеют значительных противоречий, а полученные разными методами поддержки разрешают большее количество узлов дивергенции. Автору удалось провести молекулярное датирование исследованной группы летучих мышей. Полученные генетические данные, относящиеся к опубликованным статьям, находятся в открытых базах данных GenBank и BoldSystems.

Оценка обоснованности полученных результатов и выводов, сформулированных в диссертации

Для выполнения работы был использован солидный фактический материал: оригинальные пробы тканей 122 особей листоносов, относящихся к 22 видам из 29 локалитетов Вьетнама, Таиланда, Мьянмы, Индонезии, Эфиопии и Экваториальной Гвинеи. Изученные экземпляры находятся в коллекции Зоологического Музея МГУ им. М.В. Ломоносова. Автор лично принимал участие в 15 тропических экспедициях во Вьетнам, где смог собрать 38 экземпляров от 9 видов листоносов Старого Света. Для увеличения выборки были использованы валидные данные из публичных баз данных.

Мультилокусное секвенирование ДНК особей проведено классическим методом Сэнгера. Результаты получены на основании совокупной изменчивости семи ядерных генов общей длиной 4479 п.н. и двух митохондриальных генов общей длиной 1794 п.н. Автор демонстрирует знание современных лабораторных методов и приемов биоинформатического анализа нуклеотидных последовательностей, корректно применяет необходимые программы. Автор вдумчиво и подробно рассматривает связанные с темой работы фундаментальные вопросы. По объему данных, степени методической проработки и разнообразию применяемых подходов рассматриваемая диссертация соответствует современному научному уровню.

Теоретическое и практическое значение научных результатов

Поскольку результаты получены на обширном материале из естественных тропических мест обитания листоносов, они представляют несомненный интерес как для специалистов, так и для натуралистов. Кроме того, результаты могут быть

использованы при подготовке атласов-определителей и лекционных и практических курсов по генетике и зоологии для студентов ВУЗов биологических специальностей, таких, как биологический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова.

Структура и содержание диссертационной работы

Диссертация А.П. Юзефовича изложена на 178 страницах и имеет традиционную структуру. Она состоит из Введения, пяти основных глав (Обзор литературы, Материалы и методы, Результаты, Обсуждение, Заключение). После основной части следуют Выводы, Благодарности, Список публикаций, Список цитируемой литературы и Приложения. В диссертации содержится 70 рисунков и 11 таблиц. Сильной стороной и настоящим украшением исследования является оригинальный иллюстративный материал – автор лично сделал портретные фотографии различных видов летучих мышей, а также произвел зарисовки носовых листков, являющихся важным диагностическим ключом к распознаванию групп видов у листоносов.

ВОПРОСЫ И КОММЕНТАРИИ К ДИССЕРТАЦИИ

п. 3.1.3 Морфологические данные (с.58)

Автор провел подсчёт обширных краниометрических данных, но при этом в работе не приводит ни списка 18 использованных параметров, ни их значений. Результаты анализа морфологической изменчивости краниометрических характеристик имеют вид трех рисунков, два из которых посвящены 99 представителям *H. rotana* s. l. (Рис.15 – метод главных компонент, Рис.16 – дискриминантный анализ), третий рисунок (№20) иллюстрирует результаты анализа метода главных компонент для 206 представителей *H. larvatus* s. l., но уже без дискриминантного анализа. Учитывая большое количество включенных в анализ групп и высокую степень их перекрытия, рисунки имеют низкую информативность при отсутствии детального текстового описания этих результатов. Для других групп видов такие данные автор не приводит вовсе. На дальнейшие логические построения эта информация также не оказывает существенного влияния, о чем сам автор пишет на с.99: «*Опыт построения*

кладограмм на основе морфометрических данных оказался неудачным для проведения границ не только между группами видов, но и родами и даже семействами *Hipposideridae* и *Rhinonycteridae* (Bogdanowicz, Owen, 1998)».

На мой взгляд, для облегчения структуры работы и повышения цельности её восприятия краниометрию можно было не включать в основной текст диссертации, включив нужные сведения в Приложение.

Также на с. 58 автор сообщает, что проделал большую работу, просмотрев «прижизненные фотографии представителей семейства, в том числе на портале *inaturalist.org*». Утверждается, что «Эта работа, вместе с исследованием коллекционных экземпляров, позволила сопоставить качественные внешние морфологические характеристики исследованных форм с известными литературными данными». Насколько достоверно можно определить вид листоносов по фотографиям? На мой взгляд, использовать данные публичных порталов типа *iNaturalist* для мониторинга таких сложных в определении животных следует с большой осторожностью. Какая конкретно информация была использована для написания текста диссертации?

п. 4.5-4.6 Сравнение носовых листков листоносов

Исследование внешней морфологии носовых листков безусловно украшает диссертационную работу, но описание проведено на качественном уровне, какие-то промеры отсутствуют. Изображение самца и самки есть лишь для части видов. Насколько можно понять, выраженный половой диморфизм в строении носовых листков характерен лишь для крупных, а не для мелких листоносов, но четкого объяснения в тексте я не увидела. Интересно было бы получить сведения об онтогенезе полового диморфизма носовых листков. Насколько похожи нос детеныша и взрослой особи? Присутствуют ли самцовые особенности сразу при рождении или же развиваются по мере полового созревания? Интересен также вопрос, в каком возрасте они развиваются, поскольку автор сообщил, что на Рисунке 24 изображен молодой самец *H. alongensis*. Что значит «молодой», как автор диссертации определил возраст?

Неясно, на основании каких именно генов и каким способом построены две эффективные кладограммы, на которых изображены носовые листки, «соотнесённые с полученными данными об их филогении» (Рисунки 40 и 43).

Самая слабо проработанная часть диссертации связана с биоакустикой.

Одна из задач диссертационной работы сформулирована следующим образом: «Сопоставить выявленные генетические различия с морфологическими и акустическими особенностями исследованных форм.». Однако в Методах сказано, что «Автором было собрано 38 экземпляров, относящихся к 9 видам листоносов Старого Света. Для них были записаны сонограммы эхолокационных сигналов при помощи ультразвукового детектора Echo Meter touch 2». Больше никаких конкретных сведений о процедуре звукозаписи в работе не приведено, не указан даже формат звукозаписи и название акустической программы, использованной для просмотра и измерения звуков. Каким образом автор определял, от какого конкретно животного были записаны звуки? Как именно определяли пол и вид? Ультразвуковой модуль Echo Meter Touch 2 действительно позволяет прослушивать эхолокационные пульсы в слышимом человеческим ухом диапазоне и записывать их, однако даже сами авторы аппаратуры предупреждают в руководстве: «Поскольку летучие мыши изменяют свои эхолокационные сигналы в ответ на широкий спектр потребностей, никакая автоматическая идентификация сигналов не может обеспечить 100% точность идентификации видов». Если даже фокальных листоносов каким-то образом отлавливали после записи звуков, как можно было гарантировать, что звуки издавала именно пойманная особь, учитывая, что это быстро летающие ночные животные?

Далее, нет информации о количестве проанализированных звуков от каждой особи. Хорошо известно, что акустические параметры обладают значительной изменчивостью (половой, возрастной, географической, индивидуальной, ситуативной). Для того, чтобы получить достоверные результаты на видовом уровне, необходимо было аккуратно составлять выборку, стремиться к её выравниванию, обязательно применять статистические методы обсчета.

Раздел с биоакустическими результатами (п.4.7) занимает всего 2 страницы (с.93-94). При этом текст представляет собой сравнение с литературными источниками, что было бы уместно в разделе Обсуждение. В Таблице 5 для 9 видов вьетнамских листоносов приведены «Данные эхолокационных сигналов», однако нет даже указания, как и какой конкретно частотный параметр был измерен. Если ориентироваться на рисунки из главы Обсуждение (что само по себе кажется нарушением логики подачи материала, по которой рисунки с примерами сонограмм уместнее было разместить в главе Результаты), измеряли доминантную частоту звука, а не основную, как потом говорится в Обсуждении. Нет указания сколько звуков измерено от вида, если особей было несколько, то сколько анализировали от каждой особи, нет расчета стандартного отклонения. Получается, что большая часть видов «описана» по неизвестному количеству звуков от 1-2 особей. Такие результаты нельзя считать убедительными и соответствующими общему высокому уровню диссертационной работы.

В Обсуждении автор работы проводит большую систематическую ревизию листоносов, но лишь для 8 видов приводит сонограммы низкого качества, причем ещё не все они даны в одинаковом частотно-временном масштабе (рис. 50 и 52 отличаются от остальных). В общих словах для них обсуждено сходство «эхолокационных частот» оригинальных данных с данными из нескольких публикаций по акустике разных видов, что, к сожалению, не выглядит убедительно.

Например, на с. 127 говоря о необычной крупной форме из Южного и Южно-Центрального Вьетнама *H. grandis* автор пишет «Частоты эхолокационных сигналов представителей этого вида значительно выше, чем у *H. poutensis*. Согласно полученным данным, популяции из равнинных лесов Южного Вьетнама имеет широкий диапазон частот (92–99 кГц), а более крупная горная форма (предплечье 61–65 мм) из Центрального Вьетнама эхолоцирует незначительно ниже (90–94 кГц)». Качество рисунка 48 не позволяет оценить правомерность этих сведений, но в любом случае указанные частотные диапазоны сильно перекрываются.

У рукокрылых основная частота (и доминантная как ее следствие) эхолокационного звука формируется вокальными мембранами на голосовых

связках. Листоносы используются для фокусировки эхолокационных звуков своими носовыми структурами. Доминантная частота соответствует второй частотной полосе на спектре, по крайней мере у части видов (см. например Guillen et al. 2000 и Fu et al. 2015). В диссертации хорошо видно на Рисунке 44, что частотная полоса около 60 кГц это доминантной вторая частотная полоса, являющейся гармоникой основной частоты. При этом визуальное отсутствие основной частоты на спектрограмме не означает ее полного отсутствия в спектре звука (Chen et al. 2015, см. рисунок со спектром). Крики листоносов индивидуально, поло- и географически специфичны и различаются даже у одной особи в последовательных записях (к примеру, Jiang et al. 2010). Есть данные, что в пределах одного вида крики могут различаться на 10 кГц (Thabah et al. 2006). Поэтому неудивительно, что записанные крики от одной особи отличаются от опубликованных, сам по себе этот факт не означает генетических различий, поскольку звук – это изменчивый поведенческий признак. В итоге Вывод 5 на с.137 *«Характеристики эхолокационных сигналов служат важной диагностической чертой видов крупных листоносов, но демонстрируют внутривидовую изменчивость для видов мелких листоносов.»* кажется мне преждевременным. Я полагаю, что внутривидовая изменчивость есть у всех, просто для многих видов она недостаточно исследована.

Общие замечания

1. Неполнота оформления

Не приведены длины конкатенатов генов в соответствующих разделах результатов и под рисунками, читателю приходится считать самостоятельно.

Нет некоторых расшифровок, например, для метода MRP - Matrix Representation with Parsimony. Учитывая, что этот метод важен для понимания результатов работы, на мой взгляд полезно было бы уделить ему больше внимания, например, описать, почему для построения деревьев по нескольким генам использованы как метод MRP, так и близкий к нему алгоритм ASTRAL. Нет указаний, проводилось ли на каком-то этапе фазирование последовательностей ядерных генов.

На мой взгляд, в диссертации не хватает информации о количестве выявленных гаплотипов митохондриальных генов, а также их графического изображения в виде сетей гаплотипов.

Не объяснен принцип объединения ядерных генов в 2 конкатената, приведенные в Таблице 4 (ABHD11+ACOX2+COPS+ROGDI2 и RAG2+SORBS2+THY).

Не приведен разброс значений молекулярных датировок времён дивергенции (с.80-81). Получить представление о величинах разброса можно только на основании Рисунка 21, что не очень удобно для читателя.

В тексте диссертации нет номеров, под которыми оригинальные нуклеотидные последовательности депонированы в международные базы данных. Эти сведения есть только в публикациях автора, однако их стоило бы включить в Таблицу 7.

2. Перегруженность изложения

На мой взгляд, структура диссертации сильно перегружена подразделами, из-за этого читателю трудно воспринимать результаты (происходит многократное обращение к разным видам, видовым группам и родам, а также обсуждается их анализ по разным геномным маркерам). Если бы автор сначала привел все результаты по мтДНК, потом по ядерным генам, а потом обобщил результаты, и не включал данные по краниометрии и биоакустике, то работа была бы более компактная и цельная.

3. Небрежность

В тексте присутствуют опечатки и пары слов без пробелов. Встречаются неудачные формулировки. Имеется нарушение единообразия ссылок в п. 1.10 и в списке использованной литературы.

Низкое качество Таблицы 11 мешает её прочтению, поскольку это лишь растровое изображение страницы статьи автора, а не настоящая таблица.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Сделанные замечания в основном относятся к дополнительным разделам исследования, а следовательно, носят непринципиальный или рекомендательный характер и не снижают общего положительного впечатления о работе.

Диссертация полностью отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В.Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует специальности 1.5.12. Зоология (по биологическим наукам), а также критериям, определенным п.п. 2.1-2.5 «Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М. В. Ломоносова». Диссертационная работа оформлена согласно требованиям «Положения о совете по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова».

Таким образом, соискатель Юзефович Александр Павлович заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.12. Зоология.

Матросова Вера Анатольевна

кандидат биологических наук,

научный сотрудник

лаборатории механизмов и контроля трансляции

Федерального государственного бюджетного учреждения науки

Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта

Российской академии наук (ИМБ РАН).

Адрес: 119991, г. Москва, ул. Вавилова, д. 32.

Тел.: +7

e-mail: :

Специальность, по которой официальным оппонентом защищена диссертация:

03.02.04 Зоология (2009 год).

Подпись сотрудника ИМБ РАН Матросовой В.А. удостоверяю:

В.В.

17.03.2025