

ОТЗЫВ

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

Актуальность темы.

Фауна тропических, субэкваториальных и экваториальных климатических зон чрезвычайно разнообразна, что, несомненно, крайне привлекательно с точки зрения изучения и оценки биологического разнообразия. Важнейшим компонентом этого разнообразия, безусловно, являются млекопитающие, масштаб исследований которых за последние десятилетия привел к открытию много новых видов и родов. Не исключение в этом плане и рукокрылые, однако, несмотря на большой интерес, уровень таксономической изученности многих групп этого отряда нельзя признать удовлетворительным. К одной из них относятся листоносы (*Hipposideridae*) Старого Света, в системе которых по-прежнему очень много белых пятен и неразрешенных таксономических вопросов. Особого внимания среди них, конечно, заслуживает собственно род *Hipposideros*. Если его африканский комплекс согласно последним таксономическим работам еще более или менее понятен, то филогенетическая структура азиатского комплекса остается еще запутанной и до конца не раскрытой. Все сказанное в полной мере определяет актуальность диссертационного исследования, которое посвящено установлению филогенетических связей и таксономической ревизии азиатских представителей семейства *Hipposideridae*.

Цель и задачи исследования.

Цель диссертационной работы и сформулированные для её достижения задачи вполне соответствуют квалификационному уровню кандидатской диссертации. Выносимые на защиту положения интересны и действительно требуют доказательств, они не являются декларативными и очевидными.

Оценка личного вклада автора.

В основу диссертации положены результаты экспедиций и кропотливых лабораторных исследований, выполненных лично автором и в рамках совместной деятельности с коллегами. Нет сомнений в том, что в работу вошли все известные на сегодняшний день литературные данные: диссертация содержит 193 наименований, из которых лишь три на русском языке. Нет также сомнений и в том, что автору хорошо известны все обсуждаемые виды и населяемые ими географические районы, что хорошо продемонстрировано в первом разделе второй главы диссертации.

Научная новизна.

Научная новизна работы бесспорна. Автором предпринято всестороннее и комплексное исследование азиатских представителей листоносов. Изучение обширного оригинального материала с привлечением мультигенного анализа, морфологических и статистических методов, позволило автору существенно расширить и во многом изменить имсущиеся представления о филогении, систематике, морфологическом и таксономическом разнообразии. Предложена новая система групп видов, часть из которых объединена в подрод в составе рода *Hipposideros*. В ходе работ для форм двух слабоизученных видов листоносов в Индокитае уточнены таксономический статус и географическое распространение. Выявлено не менее трёх форм видового ранга. Впервые обсуждаются многочисленные морфологические параллелизмы и признаки митохондриальной интрогрессии внутри рассматриваемой группы летучих мышей.

Научная обоснованность и достоверность результатов.

Научная обоснованность результатов, основных положений и выводов, сформулированных в диссертации, а также их достоверность не вызывает сомнений и подтверждается солидным объемом проведенных полевых исследований, обработкой

большого массива оригинальных и сравнительных данных, использованием эффективных методов сбора и обработки материала, технологиями молекулярного и статистического анализов. Полученные генетические последовательности депонированы в открытые международные базы и гарантируют воспроизводимость проведённого исследования.

Теоретическая и практическая значимость.

Теоретическая и практическая значимость исследования заключается в получении качественно новых знаний о разнообразии одной из древнейших и слабо изученных групп рукокрылых. Полученные в исследовании результаты вносят вклад в эволюционную биологию: они могут быть использованы для дальнейшего изучения проблем видообразования, криптического разнообразия, биогеографии, эволюции морфологических признаков, а также вирусологических и паразитологических исследований. Кроме этого, проведенное соискателем исследование имеет потенциальное природоохранное значение, т.к. уточнение систематики многих форм исследованной группы поможет уточнить их охранный статус и роль в уязвимых тропических сообществах.

Апробация результатов исследования и публикации.

Работа прошла научную экспертизу. По результатам исследований диссертантом сделаны доклады в период с 2019 по 2023 гг. на двух конференциях всероссийского и одной международного уровней. Участие в других различных конференциях и выступления с результатами диссертационной работы на семинарах лаборатории и заседаниях кафедры подтверждают, что основные результаты исследований Юзефоайча А.П. были в полной мере апробированы. Кроме того, научные результаты диссертации опубликованы автором в пяти рецензируемых научных изданиях, индексируемых в базах данных Scopus, Web of Science и RSCI.

Структура диссертационной работы.

Структура диссертационной работы имеет традиционный план построения, но при этом демонстрирует убедительную внутреннюю логику развития исследования в его текстовом воплощении. Диссертация состоит из введения, 4 основных глав, заключения, выводов, списка литературы и приложения. Основное содержание изложено на 178 страницах машинописного текста, иллюстрировано 54 рисунками, 6 таблицами в тексте и 16 рисунками и 5 таблицами в приложении.

Кратко остановимся на анализе содержания глав диссертационного исследования.

Во **«Введении»** (стр. 6–11) обосновывается актуальность исследования с точки зрения систематики и таксономии листоносов (*Hipposideridae*) Старого Света в целом и азиатских представителей семейства в частности. Указываются цель и задачи, научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы, методология и методы исследования, положения, выносимые на защиту, личный вклад автора, степень достоверности результатов, апробация работы и список публикаций по теме диссертации.

Вторая глава «Обзор литературы» (стр. 12–54), состоит из 5 разделов, каждый из которых детально трактует существующие данные по тем вопросам, которые диссертант исследует в своей работе. Глава иллюстрирована рисунками, схемами и таблицей демонстрирующими представления о морфологии, экологии, распространении и системе групп видов. Первый раздел посвящен современной системе семейства *Hipposideridae*. Второй – является логическим продолжением первого и описывает систематическое положение, распространение, места обитания и экологические особенности рода *Hipposideros*. В третьем разделе на основе морфологических особенностей и молекулярных маркеров достаточно основательно приводится систематика рода *Hipposideros*, где показана сложность и запутанность её внутренней структуры, начиная с момента первоописания рода и до последних современных молекулярных исследований. В четвертом и пятом разделах описаны таксономические проблемы внутри каждой из групп видов *Hipposideros*, обитающих в Юго-Восточной Азии в целом и зоогеографии листоносов Вьетнама в частности. Все разделы главы

написаны достаточно информативно и показывают, что диссертант свободно ориентируется в тематике своего исследования, а сам анализ имеющихся работ позволил автору еще раз подчеркнуть проблематику и тем самым актуальность изучения, предлагаемой темы.

В третьей главе «Материал и методы» (стр. 55–62) описан исследованный материал и изложены основные методические подходы. Глава включает три раздела, отражающие разные этапы работ. В первом разделе приводятся ключевые сведения о генетическом и морфологическом материале. Показано, что исследования были основаны на экземплярах (122 экз. 22 видов), добытых автором и его коллегами из 29 локалитетов во время экспедиций 1990–2023 гг. Автор лично в период с 1922 по 1923 гг. принял участие в 15 комплексных экспедициях по Вьетнаму и собрал 38 экземпляров 9 видов листоносов. Для оценки таксономического разнообразия и филогенетической реконструкции им получено 647 последовательностей семи ядерных и двух митохондриальных генов, а также дополнительно использованы нуклеотидные последовательности, депонированные в генетических базах данных. Для исследования качественных морфологических характеристик были использованы не только традиционные подходы в изучении материалов, хранящихся в музейных коллекциях, но и огромный массив данных, представленный в социальной сети Inaturalist. Второй и третий разделы главы посвящены описанию методов надлежащей лабораторной практике, на основе которых проводили выделение ДНК, амплификацию, секвенирование и анализ данных. Все используемые в диссертации методы современны, объективны и информативны. О достоверности результатов диссертации свидетельствует тщательная статистическая обработка в комплексе программ, алгоритмов и методов для филогенетического анализа: MAFFT v7.453, BioEdit v7.1.3, iqtree v1.6.9, MrBayes v3.2.6, BEAST, методы MRP и ASTRAL-III. В целом знакомство с главой позволяет заключить, что методы и объем проведенных исследований адекватны целям и задачам исследования, и вполне достаточны, чтобы достоверно оценить полученные результаты, обосновать научные положения и выводы диссертации.

Четвёртая глава «Результаты» (стр. 63–94) представляет значительный интерес, поскольку демонстрирует результат подробной ревизии проблемных групп листоносов Юго-восточной Азии и в частности Вьетнама. Глава достаточно сложно структурирована и состоит из семи разделов. Все они написаны в стиле описания филогенетических отношений, морфологического анализа черепных признаков и изменчивости носовых листьев. Краеугольным камнем исследования здесь стали результаты молекулярного анализа, что соответствует цели и логике решения большей части задач. В первом разделе продемонстрирована филогенетическая структура рода *Hipposideros* по митохондриальным и ядерным маркерам. Показано, что реконструкция по двум митохондриальным генам не имеет противоречий, а монофилия рода поддержана. Тем не менее, филогения между многими близкими кладами остается не разрешенной, а некоторые виды являются парафилетическими. Результаты, полученные по ядерным генам, также подтверждают монофилию рода, но демонстрируют внутри него парафилию «мелких» листоносов. Во втором разделе подробно разбирается филогенетическая структура собственно «мелких» листоносов. Здесь показано, что частные клады, входящие в ее состав, демонстрируют определенную несогласованность по митохондриальным и ядерным данным. По митохондриальным генам несколько видов оказываются парафилетическими таксонами. В частности, в диссертации особое внимание справедливо обращено на виды *H. gentilis* и *H. cineraceus*, каждый из которых демонстрирует сложную внутривидовую структуру и разделён на две хорошие клады видового уровня. Однако реконструкция при помощи ядерных генов не выявила такой сложности структуры. Индивидуальные гены показали низкий филогенетический сигнал, а их анализ не был информативен. Однако построение супер дерева методом MRP по 7 ядерным генам поддержало монофилию *H. gentilis*, *H. cineraceus* и еще ряда близких видов. В третьем

разделе разбирается филогенетическая структура собственно «крупных» листоносов. На представленных автором реконструкциях как по митохондриальным, так и по ядерным генам монофилия между всеми их группами видов оказалась хорошо поддержана. Однако при разборе филогенетических отношений форм группы «*larvatus*» Юго-Восточной Азии была выявлена несогласованность по митохондриальным и ядерным генам. В первом случае данные поддерживают парафилию, тогда как по ядерным группа монофилетична. В четвертом разделе речь идет о времени дивергенции близких видов родов *Hipposideros* и *Aselliscus*. Делается вывод, что время дивергенции групп видов относится ко второй половине миоцена – началу плиоцена, а время дивергенции видов внутри групп – к позднему плиоцену-плейстоцену. В пятом и шестом разделах приводится подробное описание отличий носовых листков «крупных» и «мелких» листоносов. Все описания сопровождаются прекрасными рисунками, выполненными собственноручно автором. Седьмой раздел посвящен экологическим сигналам 9 видов вьетнамских листоносов, записанных лично автором в ходе экспедиций 2023 г.

Пятая глава «Обсуждение» (стр. 95–135) – очень важная и интересная, посвящена интерпретации полученных результатов в свете современных представлений о филогенетических связях, систематике и биогеографии листоносов. Собственные результаты автор рассматривает здесь в тщательном сравнении с результатами других исследователей. Такой подход продемонстрировал вовлеченность и глубину погружения в тему работы, подчеркнул научную новизну и верификацию результатов, а также научную грамотность соискателя в поиске решений поставленной проблемы. Глава представлена семью, логически выстроенными разделами. В первом обсуждается современная система семейства Hipposideridae. Полученные результаты в большей части согласуются и даже частично дополняют результаты более ранних ревизий, однако в отношении клады мелких африканских листоносов выявлены противоречия. Также здесь на основании изучения строения носовых листков делается логический вывод о параллелизме у представителей близких родов. Во втором разделе рассмотрено разнообразие *Aselliscus* и *Coelops*. На оригинальном материале автором впервые проведено сравнение по ядерным генам двух видов первого из этих родов и показана их более древняя дивергенция по сравнению с видами *Hipposideros*. В третьем, четвертом и пятом разделах на уровне отдельных видовых групп обсуждается собственно система рода *Hipposideros*. На мой взгляд, представленная здесь форма изложения материала, является удачной и в значительной степени помогает, как оценить вклад соискателя в решении заявленной им проблемы, так и войти в круг разногласий при знакомстве с предыдущими главами диссертации. Вполне обосновано автор вносит таксономические уточнения в систему рода *Hipposideros*. В ходе анализа не удалось получить надежного разделения таксонов по ядерной ДНК и разрешение критерия по митохондриальной ДНК при парафилетическом положении видов, поэтому в качестве критерия дифференциации логично было использование времени дивергенции. В шестом разделе, обсуждается криптическое разнообразие *H. gentilis*. Разбирая несоответствие топологии по ядерным и митохондриальным генам в группе «*gentilis*», автор предполагает о заимствовании популяций из Южного Вьетнама мтДНК от общего предка *H. khaokhouayensis/rotalis*. На мой взгляд, это гипотеза действительно выглядит более убедительной, чем альтернативная, при которой неполная сортировка аллелей сохраняет разнообразие предковых вариантов. Стоит отметить, что здесь впервые удалось зарегистрировать случай генетической обособленности равнинных южновьетнамских форм листоносов Старого Света. Наконец, последние три раздела (семь, восемь, девять) короткие и посвящены обсуждению криптических форм *H. cineraceus*, *H. galeritus* и особенностям горной и островной фауны Hipposideridae во Вьетнаме.

Глава «Заключение» (стр. 136) достаточно коротко, но ёмко обобщает результаты проведенного исследования. Здесь можно полностью согласиться с автором, что полученные данные значительно углубляют представления о систематике Hipposideridae и

распространении видов этого семейства в Юго-Восточной Азии, а примененные методы объединения топологий оказались достаточно эффективны в разрешении слабо поддержанной топологии по митохондриальным и отдельным ядерным генам.

Выводы (стр. 137–138) завершают изложение результатов исследования, их формулировки логичны и понятны.

Отдельно со страницы 157 и по 788 представлено **Приложение**, куда вошли: рисунки, демонстрирующие филогенетические отношения листносов по митохондриальным и ядерным генам, а также таблица по используемым в работе образцам из коллекции и таблицы генетических дистанций.

В целом диссертационная работа произвела на меня хорошее впечатление. Она представляет собой важное и интересное исследование, которое можно охарактеризовать только положительно, а диссертанта – как современного ученого зоолога в области систематики и таксономии. По структуре диссертационной работы принципиальных вопросов нет, однако все же присутствует ряд замечаний, на которых хотелось остановиться.

1. В разделе «Материалы и методы» в достаточном объёме описаны молекулярные методы анализа. Это оправдано, т.к. работа в большей части посвящена установлению филогенетических связей на основе именно молекулярного анализа. При всем этом, в задачи работы входило сопоставление генетических различий с морфологическими и акустическими особенностями исследованных форм. Поэтому в этом разделе хотелось бы видеть такое же описание морфологических и акустических методов исследования. Однако этой составляющей почти нет. Указано лишь то, что для морфологического анализа было сделано 18 промеров черепа. Что это за промеры, и какие методы статистического анализа использованы для их обработки, здесь совершенно не упоминаются. Автор ссылается на ранние свои публикации, указывая, что «Результаты анализа этих краниометрических данных опубликованы в статьях...», наивно полагая, что читатель должен отыскать эти работы и ознакомиться с недостающей частью. То же самое касается и акустических исследований, в отношении которых приводится лишь использование определенной модели ультразвукового детектора, но нет описания условий записи сигналов, способа их обработки, используемых параметров и методов классификации и верификации. На мой взгляд, отсутствие в работе всей этой информации можно считать большим упущением, что существенно затрудняет знакомство с диссертацией и понимание решения задачи сопоставления.

2. В разделах 4.2.4 и 4.3.6 диссертации выясняется, что морфологические данные проанализированы с помощью многомерной статистики. Автор использует анализы главных компонент и дискриминантный, а результаты представлены в виде системы ординат. При всей очевидности такого подхода обработки, в работе совершенно невозможно выявить скрытые закономерности в данных, установить, как одни случайные характеристики влияют на другие. Причина всему – отсутствие указаний элементарных значений статистики, без которых невозможно оценить качество дискриминации, а, следовательно, и разделительную способность, рассматриваемых компонент и функций. Например, для понимания насколько компонента объясняет уровень изменчивости очень важно знать её долю. Как известно, максимальная объясненная дисперсия свойственна первой компоненте, а по мере увеличения размерности она существенно снижается. Если третья компонента будет иметь очень низкий процент, то вряд ли, как утверждает автор, представители вида *H. gentilis* морфологически сильно отделяются от остальных. Для понимания адекватности, например, дискриминантного анализа для каждой из канонических осей желательно было привести значения Хи-квадрат, *p*-уровень и лямбду Уилкса, как показателей качества дискриминации, а для анализа главных компонент – собственные значения, отражающие степень важности соответствующих выделенных факторов (РС) для объяснения вариации исходных данных. По итогу, вся визуализация

такого морфологического анализа выглядит, к сожалению, как красивые картинки и не более.

3. Сведения об акустических особенностях некоторых видов листоносов выбиваются из общего таксономического контекста диссертации, построенного на молекулярно-генетическом анализе митохондриальных и ядерных маркерах, особенно учитывая, что результатов исследования изменчивости эколокационных сигналов по большому счету в работе нет. Поэтому вывод (№ 5) относительно их внутривидовой изменчивости для видов мелких листоносов выглядит, по крайней мере, странно. Вызывает большой вопрос и способы классификации и верификации сигналов. Как автору удалось так точно идентифицировать виды в условиях разнообразия листоносов и подковоносов в районе проведения работ и при условии вероятного перекрытии пределов частотных составляющих их эколокационных сигналов?

4. К большому сожалению, в работе отсутствует идентичность написания географических названий в самом тексте и на рисунках, что затрудняет понимание. Автор использовал значительную часть рисунков путем копипаста из своих опубликованных работ, и очень жалко, что ему не хватило время на их переработку в соответствии с русскими названиями в тексте диссертации.

5. В работе присутствует большое количество рисунков и таблиц, однако на многие из них в тексте отсутствуют ссылки (например, табл. 2, 3, рис. 13, 35), что вызывает большое неудобство при прочтении. Например, при описании филогенетических отношений листоносов группы «*bicolor*» sensu stricto по митохондриальным генам приходилось формировать и держать картинку в голове, что при многовидовой и запутанной структуре достаточно сложно. Однако уже позже выяснилось, что визуализация таких взаимоотношений в тексте все же представлена.

6. В разделе «Приложения» приводятся дистанции по гену *CytB*, но непонятно почему автор не включил сюда такие же сведения по второму митохондриальному (*COI*) и всем ядерным генам. В тексте самой диссертации приводятся только частные упоминания этих дистанций по отдельным маркерам. Однако для целостной картины и понимания силы взаимоотношений было бы неплохо представить их как по каждому гену, так и в конкатенированных последовательностях.

7. Среди замечаний можно указать на отсутствие ряда ссылок в тексте (Allen, 1938; Gradstein, James, 2007; Thong, 2014), источники которых указаны в библиографическом списке, а также на большое количество опечаток, оставшихся неисправленными.

8. Что касается автореферата, то внутренняя структура основных глав не соответствует диссертации. Однако здесь можно отчасти оправдать автора, т.к. сложная и многоуровневая разбивка была бы не уместна в коротком изложении результатов диссертационной работы. В связи с этим автору пришлось сконцентрироваться на отдельных ключевых моментах, изложив их в более развернутой форме.

Высказанные в отзыве замечания не снижают общего впечатления о высоком уровне проведенного исследования. Результаты, безусловно, обладают научной новизной и практически значимы, демонстрируют вклад автора в развитие современных представлений о систематике и таксономии представителей семейства Hipposideridae.

Заключение. Спектр рассматриваемых в диссертации проблем свидетельствует не только о безусловной зоологической направленности работы, но и о высоком профессионализме автора, освещающего одно из самых проблемных направлений современной зоологии. Диссертационная работа А.П. Юзифовича написана хорошим языком, иллюстрирована большим количеством рисунков. Знакомство с диссертацией оставляет очень приятное впечатление. Выводы соответствуют цели, сформулированным задачам, а также вынесенным на защиту положениям. Последние в полной мере обоснованы и не вызывают пареканий. Достоверность положений и суждений автора, подтвержденные современными методами обработки данных, а также научная новизна, не

вызывают никаких сомнений. Текст диссертации и автореферата содержательно адекватны друг другу.

Резюмируя вышеизложенное, можно заключить, что диссертация отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В. Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует специальности 1.5.12 Зоология, 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 Александр Павлович Юзефович заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.12 Зоология.

Официальный оппонент:

Д.б.н., профессор кафедры «Зоология и экология»

Д.Г. Смирнов

Смирнов Дмитрий Григорьевич

Доктор биологических наук (03.02.08)

Доцент, профессор кафедры «Зоология и экология»

Факультет физико-математических и естественных наук

ФГБОУ ВПО «Пензенский государственный университет»

440026, г. Пенза, ул. Красная, 40

<http://www.pnzgu.ru/>

Смирнова Д.Г. заверяю;
секретарь
совета ПГУ

О.С. Дорофеева