ВИСНОВОК

про наукову новизну, теоретичне та практичне значення результатів дисертації

Федорової Анни Олегівни

«Розширення підходів до встановлення складу природних геміклональних популяційних систем гібридогенного *Pelophylax esculentus* complex»

яка подається на здобуття ступеня доктора філософії

з галузі знань 09 – Біологія

за спеціальністю 091 – Біологія

1. Оцінка роботи здобувача у процесі підготовки дисертації і виконання індивідуального плану навчальної та наукової роботи.

Аспірантка Федорова Анна Олегівна виконала у повному обсязі Індивідуальний план Освітньо-наукової програми підготовки доктора філософії. Освітня програма в обсязі 40 кредитів ECTS виконана у повному об'ємі. Вона успішно склала чотири заліки та три іспити з наступних дисциплін:

Заліки:

1) «Філософські засади та методологія наукових досліджень» – 84 бали;
2) «Підготовка наукових публікацій та презентація результатів досліджень» – 95 балів;
3) «Багатовимірна статистика» – 95 балів;
4) «Викладацька практика» – 95 балів.

Іспити:

1) «Іноземна мова для аспірантів (англійська мова)» – 94 бали.
2) «Сучасна методологія біологічних досліджень» – 95 балів;
3) «Молекулярна філогенія і фітогеографія» – 100 балів.

Всі заплановані види робіт було виконано своєчасно. Здобувачка плідно співпрацювала з науковим керівником протягом усього терміну навчання в аспірантурі.

2. Обґрунтування вибору теми дослідження.

Зелені жаби *Pelophylax esculentus* complex складається з гібрида *P. esculentus* (Linnaeus, 1758) та двох батьківських видів: *P. lessonae* (Camerano, 1882), генотип LL, та *P. ridibundus* (Pallas, 1771), генотип RR. Гібриди *P. esculentus* відтворюються гібридогенезом (геміклонально), існують як в диплоїдній (LR), так і триплоїдній (LLR або LRR) формах, та в типовому випадку проживають в синтопії з одним або обома батьківськими видами в так званих геміклональних популяційних системах (ГПС).

Різні ГПС можуть відрізнятися за своїм складом, наявністю та відсутністю тих чи інших генотипів. На підтримання складу різних ГПС впливає комплекс факторів: передача різних батьківських геномів в гаметах гібридів та різна частка різних геномів у випадку амфігаметних гібридів, вибіркова смертність одних форм в потомстві та виживання інших, тощо. Для дослідження складних механізмів відтворення та підтримання складу різноманітних типів ГПС необхідно визначати генотипи особин, які входять до складу ГПС, типи гамет які вони передають, тощо. Це вимагає наявності великої кількості методів (від класичних морфологічних досліджень

до більш специфічних цитогенетичних, молекулярних та етологічних) та постійної модифікації і розробки нових.

Метою дисертації є розширення комплексу методів встановлення складу природних геміклональних популяційних систем гібридогенного *Pelophylax esculentus* complex.

Для досягнення поставленої мети сформульовано наступні ключові завдання:

1) Встановити ефективність використання біоакустичного аналізу криків вивільнення в якості видоспецифічного маркера для жаб роду *Pelophylax;*
2) Розробити та апробувати метод прижиттєвого визначення плоїдності пуголовків;
3) Порівняти різні форми зелених жаб за стійкістю їх розвитку (аномалії розвитку);
4) Встановити ефективність використання цитометрії еритроцитів для детекції триплоїдних гібридів в ГПС;
5) Встановити ефективність вимірювання розмірів сперматозоїдів для визначення їх плоїдності;
6) Використати комплекс морфологічних, гібридологічного, молекулярних та цитогенетичних методів для дослідження складу, вибіркової смертності, характеру відтворення та різноманіття геномів, що передаються в R-E-Ep-ГПС та R-Epf-ГПС;
7) Порівняти та оцінити ефективність використаних методів і запропонувати комплекс методів і порядок їх використання для повної оцінки складу і характеру відтворення ГПС.

Об'єктом дослідження є методи дослідження зелених жаб роду *Pelophylax.*

Предметом дослідження є різноманіття та оцінка ефективності методів дослідження зелених жаб роду *Pelophylax*, в тому числі цитологічних, молекулярних, цитогенетичних та етологічних, а також практичне застосування цих методів.

Методи дослідження.

1. Збирання вибірок *Pelophylax esculentus* complex з природних місцеперебувань;
2. Визначення таксономічної приналежності та статі за морфологічними ознаками;
3. Цитометрія еритроцитів та сперматозоїдів;
4. Цитогенетичні методи (каріоаналіз метафазних хромосом, сріблення хромосомних препаратів, флуоресцентна гібридизація *in situ*);
5. Молекулярні методи (мікросателітний аналіз, аналіз SNP гену *uqcrfs1*);
6. Електрофорез білкових маркерів (алозими ЛДГ-1);
7. Гібридологічний (проведення штучних схрещувань в лабораторних умовах);
8. Біоакустичний аналіз криків вивільнення;
9. Аналіз зовнішніх морфологічних аномалій;
10. Статистичні методи (дисперсійний аналіз, критерій Краскела-Воліса, кореляційний аналіз, дискримінантний аналіз, аналіз головних компонент, тощо).

3. Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.

Основна частина дисертаційної робота виконана у лабораторії популяційної екології амфібій, кафедри зоології та екології тварин, біологічного факультету, Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна. Частина матеріалу, що використовувався для біоакустичного аналізу та аналізу геномів в ооцитах самиць зелених жаб, надані Лукасом Холевою, Марією Долежалковою-Каштанковою та Веронікою Лабаєвою з Інституту фізіології та генетики тварин, Чеська республіка, де дисертація була завершена. Частина роботи пов'язана з

мікросателітним та біоакустичним аналізом виконана за підтримки Slovak Academic International Agency (номер гранту 1/0286/19) та Researchers at Risk Fellowship від Чеської Академії Наук (номер гранту RRFU-22-20).

4. Особистий внесок дисертанта в отриманні наукових результатів та їх новизна.

Особистий внесок. Дисертаційна робота є самостійним дослідженням здобувачки. Здобувачка провела аналіз літературних джерел за темою дисертаційного дослідження, самостійно зібрала та обробила більшу частину описаних матеріалів. Більша частина роботи проведена на базі Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна (Харків, Україна). Виділення ДНК, ПЛР та секвенування мікросателітних послідовностей здобувачка здійснила на базі кафедри зоології університету Коменського в Братиславі (Словаччина). Збір та аналіз біоакустичних даних проводені здобувачкою самостійно на базі Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна (Харків, Україна) та Інституту фізіології та генетики тварин (Лібехов, Чеська республіка). Здобувачка самостійно провела статистичний аналіз представлений в дисертаційному дослідженні. Написання та оформлення публікацій здійснено здобувачкою самостійно або за безпосередньої її участі.

Наукова новизна отриманих результатів. У роботі проведено комплексний аналіз та модифікацію деяких вже існуючих методів, а також розробку та апробацію нових методів дослідження зелених жаб роду *Pelophylax*. Визначено неефективність використання ряду етологічних та цитологічних критеріїв в якості видоспецифічного маркеру для зелених жаб роду *Pelophylax*. Комбінація морфологічних, цитометричних, молекулярних, цитогенетичних та гібридологічного методів була успішно використана для дослідження особливостей гаметогенезу, відтворення та смертності зелених жаб з декількох типів ГПС. Отримано нові дані, що стосуються особливостей підтримання складу декількох ГПС за рахунок вибіркової смертності частини потомства. Отримані результати показали ефективність використання комбінації різних методів для цілісної оцінки механізмів, завдяки яким різноманітні ГПС підтримують свою стабільність.

5. Обґрунтованість і достовірність наукових положень, висновків і рекомендацій, які захищаються.

Значний об'єм досліджуваного матеріалу, методи його дослідження, отримані результати та ілюстрації до них, володіння власними та літературними даними за темою роботи є вагомими і достатні, щоб вважати матеріали дисертаційної роботи достовірними, а висновки обґрунтованими.

6. Наукове, теоретичне та практичне значення результатів дисертації.

Результати дисертаційної роботи можуть використовуватися для вдосконалення досліджень геміклональних популяційних систем, зокрема – на підставі отриманих даних можливо створення моделей. Дисертантка під час роботи брала участь у навчальному процесі, допомагаючи студентам опановувати складні методики, будувати дослідження, збирати польовий матеріал. Матеріали роботи можуть використовуватися під час викладання навчальних курсів «Зоологія хребетних», «Іхтіологія та герпетологія», «Моделювання складних систем у біології».

Проведений перелік методів дослідження зелених жаб, що вже існують, розробка, модифікація та апробація нових методів дозволяє ефективніше підходити до дослідження різноманіття зелених жаб. Результати отримані в ході використання комплексу запропонованих

методів представляють важливе значення для розуміння особливостей гібридогенезу та вибіркової смертності в геміклональних популяційних системах різного складу. Розроблений новий метод прижиттєвого отримання хромосомних препаратів пуголовків може бути адаптований до використання у інших видів амфібій.

7. Повнота викладення матеріалів дисертації в роботах, опублікованих автором.

За темою дисертаційного дослідження вийшли друком 6 наукових публікацій у закордонних наукових виданнях, в тому числі 4 статті в журналах, що індексуються в Scopus та/або Web of Science (один журнал в Q2 і три журнали в Q3 відповідно до класифікації SCImago Journal and Country Rank) та 3 статті у фахових наукових виданнях України.

Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:

У виданнях, які включені до міжнародних наукометричних баз даних:

1. **Fedorova A.,** Pustovalova E., Drohvalenko M. (2023) High frequency of hindlimb malformation in froglets *Pelophylax* sp. in Ukraine. *Herpetological Bulletin*. 164, 24-25. https://doi.org/10.33256/hb164.2425 *(особистий внесок: участь у зборі матеріалу, визначення аномалій, аналіз отриманих даних, підготовка ілюстрацій для статті, написання та редагування тексту статті)*
2. **Fedorova A.,** Shabanov D. (2022) Differences in release calls of the hybrid water frog *Pelophylax esculentus* and its parental species *Pelophylax ridibundus* (Anura: Ranidae) in Ukraine. *Biologia*. 78(3): 1-8. *(особистий внесок: участь у зборі матеріалу, запис співів жаб, аналіз аудіозаписів, статистичний аналіз, підготовка ілюстрацій для статті, написання та редагування тексту статті)*
3. Drohvalenko M., **Fedorova A.** (2022) The first evidence of triploidy among *Pelophylax esculentus* (Linnaeus, 1758) (Anura: Ranidae) in the Chornobyl Exclusion Zone. *Bonn Zoological Bulletin*. 71(2): 105-108. *(особистий внесок: участь у зборі матеріалу, аналіз плоїдності, підготовка ілюстрацій для статті)*
4. Pustovalova E., **Fedorova A.,** Shabanov D. (2022) Methodology for intravital mitotic chromosome preparation from regenerated tissue of tadpoles' tail tips. *Journal of Vertebrate Biology*, 71(22010): 1-7. *(особистий внесок: проведення лабораторних досліджень, аналіз даних, підготовка ілюстрацій для статті, написання та редагування тексту статті)*
5. Kryvoltsevych A., **Fedorova A.,** Shabanov D., Pustovalova E. (2022) Anomalies in Marsh Frogs (*Pelophylax ridibundus*) and hybrid waterfrogs (*P. esculentus*) (Anura: Ranidae) from two ponds in the Kharkiv Region of Ukraine. *Reptiles & Amphibians*. 29(1): 204-209. *(особистий внесок: участь у зборі матеріалу, аналіз даних, підготовка ілюстрацій для статті, написання окремих частин статті)*
6. Drohvalenko M., **Fedorova A.,** Pustovalova E. (2022) Unexpected Heterochrony in the Edible Frog, *Pelophylax esculentus* (Linnaeus 1758), and Pallas' Spadefoot, *Pelobates vespertinus* (Pallas 1771), in Eastern Ukraine. *Reptiles & Amphibians*. 29: 472-474. *(особистий внесок: участь у зборі матеріалу, підготовка ілюстрацій для статті)*

У виданнях, які включені до переліку наукових фахових видань України:

1. **Fedorova A.,** Shabanov D. (2022) Genomes diversity in oocytes of hybrid water frogs *Pelophylax esculentus* (Anura: Ranidae) in hemiclonal population systems from Ukraine. *Biodiversity,*

ecology and experimental biology. 24(1): 25-29. *(особистий внесок: участь у зборі матеріалу, проведення лабораторних досліджень, аналіз даних, підготовка ілюстрацій для статті, написання та редагування тексту статті)*

2. **Fedorova A.,** Pustovalova E. (2021) What the distribution of sperm size can tell about the stability of spermatogenesis in hybrid frogs *Pelophylax esculentus*. *The Journal of V. N. Karazin Kharkiv National University. Series "Biology"*. 37(2): 70-78. *(особистий внесок: участь у зборі матеріалу, проведення лабораторних досліджень з отримання сперми і вимірювання розмірів клітин, статистичний аналіз, підготовка ілюстрацій для статті, написання та редагування тексту статті)*

3. Drohvalenko M., Pustovalova E., **Fedorova A.,** Shabanov D. (2021) First finding of triploid hybrid frogs *Pelophylax esculentus* (Anura: Ranidae) in Mozh river basin (Kharkiv region, Ukraine). *Biodiversity, ecology and experimental biology.* 23 (2): 61-67. *(особистий внесок: аналіз даних, підготовка ілюстрацій для статті, редагування окремих частин статті)*

<u>Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:</u>

1. Fedorova A. Diversity of frog release calls in the genus *Pelophylax*. *Матеріали шостої міжнародної науково-практичної конференції «Регіональні аспекти флористичних і фауністичних досліджень» (смт Путила, 12-13 жовтня 2023 р.)* (in print).

2. Drohvalenko, M. O., Fedorova A. O., Pustovalova E. S., Mikulíček P. Molecular Data in Studies of Reproduction in Hemiclonal Population Systems of *Pelophylax esculentus* complex. *Матеріали шостої міжнародної науково-практичної конференції «Регіональні аспекти флористичних і фауністичних досліджень» (смт Путила, 12-13 жовтня 2023 р.)* (in print).

3. Shabanov V., Kryvoltsevych A., Zhadan A., Podpryatov O., **Fedorova A.,** Drohvalenko M., Pustovalova E. Monitoring of the state of HPS of water frogs located in Lower Dobrytskyi pond. *Status and biodiversity of the ecosystems of Shatsk National Nature Park and other protected areas. (September 13-16, 2021, Shatsk, Ukraine)*

4. **Fedorova A.** Repeat study on ploidy of tadpoles from lower Dobrytskyi pond. *SymBioSE-2019 (July 29 – August 6, Glasgow, Scotland)*

5. **Fedorova A.,** Pustovalova E. Results of artificial crossing expand data about reproduction and composition of unusual population system (*Pelophylax esculentus* complex). *Open Readings. 62nd International conference for students of physics and natural sciences. (March 19-22, 2019, Vilnius, Lithuania)*

6. Pustovalova E., **Fedorova A.,** Pereslavska K., Verchoturova P. Hemiclonal population system of water frogs in Lower Dobrytskyi pond: results of annual monitoring. *14th International young scientists' conference "Biology: From a Molecule Up to The Biosphere" (November 27 – 29, 2019, Kharkiv, Ukraine)*

7. Drohvalenko M., **Fedorova A.,** Pustovalova E. *Pelophylax esculentus* complex from Iskiv pond: one more step of long-term monitoring. *"Ukrainian fauna on the verge of the XX-XXI centuries. Status and biodiversity of the ecosystems of protected areas". International Zoological Conference. (September 12-15, 2019, Lviv, Shatsk, Ukraine)*

8. **Fedorova A. O.,** Drohvalenko M. O., Pustovalova E. S. Unusual ratio of hybrids among juvenile water frogs in Lower Dobrytskyi pond. *Abstract book of the Conference of young zoologists (November 14-15, 2018, Kyiv, Ukraine)*

9. Kravchenko M., Pustovalova E., **Fedorova A.**, Shabanov D. Hemiclonal inheritance of water frogs: occasional incident, transition state or the natural stage of development? *Status and biodiversity of*

the ecosystems of Shatsk National Nature Park and other protected areas. (September 13-16, 2018, Shatsk, Ukraine)

10. Biliaiev I., Bondarenko H., Harbuz D., Drohvalenko M., Siervatovska Y., Sudarenko U., Teplenko U., **Fedorova A.**, Shabanov D. Composition and changes of three hemiclonal population systems of water frogs from NNP "Gomilshanski lisy". *Status and biodiversity of the ecosystems of Shatsk National Nature Park and other protected areas. (September 13-16, 2018, Shatsk, Ukraine)*

11. Drohvalenko M. O., Kravchenko M. O., Makarian R. M, Stepaniyuk Ya. V. **Fedorova A. O.**, Shabanov D.A. Selective genetic and environmental mortality of different representatives of water frogs' hybridogenic complex provides the stability of their hemiclonal population systems. Regional aspects of floristic and faunistic research. *Fifth international scientific and practical conference (April 19-20, 2018, Chernivtsi, Ukraine)*

8. Апробація матеріалів дисертації.

За результатами дисертаційного дослідження були представлені доповіді та опубліковані тези доповідей на наступних конференціях: Fifth international scientific and practical conference (April 19-20, 2018, Chernivtsi, Ukraine); Status and biodiversity of the ecosystems of Shatsk National Nature Park and other protected areas. (September 13-16, 2018, Shatsk, Ukraine; September 13-16, 2021, Shatsk, Ukraine); Conference of young zoologists (November 14-15, 2018, Kyiv, Ukraine); Open Readings. 62nd International conference for students of physics and natural sciences. (March 19-22, 2019, Vilnius, Lithuania); 14th International young scientists' conference "Biology: From a Molecule Up to The Biosphere" (November 27 – 29, 2019, Kharkiv, Ukraine); SymBioSE-2019 (July 29 – August 6, 2019, Glasgow, Scotland); "Ukrainian fauna on the verge of the XX-XXI centuries. Status and biodiversity of the ecosystems of protected areas". International Zoological Conference. (September 12-15, 2019, Lviv, Shatsk, Ukraine); Шоста міжнародна науково-практична конференція «Регіональні аспекти флористичних і фауністичних досліджень» (смт Путила, 12-13 жовтня 2023 р.)

9. Дотримання академічної доброчесності

На підставі вивчення тексту дисертації здобувача, наукових праць здобувача та Протоколу контролю оригінальності (перевірку наявності текстових запозичень виконано в антиплагіатній інтернет системі StrikePlagiarism.com) встановлено, що дисертаційна робота виконана самостійно, текст дисертації не містить плагіату, а дисертація відповідає вимогам академічної доброчесності. Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело.

10. Оцінка мови та стилю дисертації.

Дисертація написана науковим стилем мовлення літературною українською мовою. Зміст, структура, оформлення дисертації та кількість публікацій відповідають вимогам відповідно постанови Кабінету Міністрів України «Про затвердження Порядку присудження ступеня доктора філософії та скасування рішення разової спеціалізованої вченої ради закладу вищої освіти, наукової установи про присудження ступеня доктора філософії» (постанова Кабінету Міністрів України від 12 січня 2022 року № 44, зі змінами, внесеними згідно з постановою Кабінету Міністрів України від 21.03.2022 року № 341), Наказу Міністерства освіти і науки України від

12.01.2017 р. № 40 «Про затвердження вимог до оформлення дисертації» (із змінами, внесеними згідно з Наказом Міністерства освіти і науки України від 31.05.2019 року № 759).

11. Відповідність змісту дисертації спеціальності з відповідної галузі знань, з якої вона подається до захисту.

За своїм фаховим спрямуванням, науковою новизною і практичною значимістю дисертаційна робота Федорової Анни Олегівни «Розширення підходів до встановлення складу природних геміклональних популяційних систем гібридогенного *Pelophylax esculentus* complex» відповідає спеціальності 091 – Біологія. Здобувачкою повністю виконана освітня та наукова складові освітньо-наукового рівня вищої освіти.

12. Результати обговорення та проведення презентації. Рекомендація дисертації до захисту.

Здобувачка представила основні результати досліджень своєї дисертаційної роботи на розширеному засіданні кафедри зоології та екології тварин Біологічного факультету Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна (протокол № 5 від 13 листопада 2023 року) у формі презентації та наукової дискусії після її завершення.

Враховуючи високий рівень виконаних досліджень, а також актуальність теми роботи, наукову новизну результатів та їх наукове і практичне значення, на розширеному засіданні кафедри було одностайно ухвалене рішення про рекомендацію дисертації Федорової А. О. «Розширення підходів до встановлення складу природних геміклональних популяційних систем гібридогенного *Pelophylax esculentus* complex» до захисту в спеціалізованій вченій раді для здобуття ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 – Біологія з галузі знань 09 – Біологія.

В.о. завідувача кафедри
зоології та екології тварин
біологічного факультету
Харківського національного
університету імені В.Н. Каразіна,
кандидат біологічних наук, доцент Тетяна АТЕМАСОВА