

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Калининой Евгении Анатольевны «Эколого-популяционные и цитогенетические характеристики природных популяций *Glyptotendipes glaucus* Mg. (Diptera, Chironomidae) из малых водоемов Калининградской области», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.15 – Экология.

Общая характеристика работы. Диссертационная работа Е.А. Калининой посвящена комплексному изучению эколого-популяционных и цитогенетических характеристик природных популяций фитофильного вида хирономид *Glyptotendipes glaucus* (Meigen, 1818) из семи малых водоемов Калининградской области. Работа выполнена на базе образовательно-научного кластера «Институт медицины и наук о жизни (МЕДБИО)» БФУ им. И. Канта под руководством к.б.н., доцента Н.В. Винокуровой.

Актуальность диссертационного исследования не вызывает сомнений. Проблема загрязнения континентальных пресноводных водоемов тяжелыми металлами и их воздействия на генетическую структуру популяций гидробионтов является одной из ключевых задач современной экологии. Личинки семейства Chironomidae, являющиеся доминантами макрозообентоса и обладающие политенными хромосомами в клетках слюнных желез, представляют собой уникальную модель для биоиндикации антропогенного воздействия на водные экосистемы. Вид *G. glaucus*, демонстрирующий высокий уровень цитогенетического полиморфизма, ранее не был комплексно изучен в водоемах Калининградской области - региона, испытывающего значительную антропогенную нагрузку. Исследование механизмов адаптации природных популяций данного вида к загрязнению тяжелыми металлами через анализ инверсионного полиморфизма политенных хромосом представляет значительный научный и практический интерес.

Цель работы — изучение эколого-популяционных и цитогенетических характеристик природных популяций *G. glaucus* из малых водоемов Калининградской области - в целом раскрыта через решение пяти сформулированных задач. Автором проведена значительная работа: составлена карта ареала вида, оценена экологическая значимость *G. glaucus* в таксоценозах хирономид с использованием индекса доминирования Паляя-Ковнацки, выполнен кариологический анализ 742 личинок из семи водоемов, определены качественно-количественные показатели инверсионного полиморфизма, проведен химический анализ донных отложений и предпринята попытка установить зависимость хромосомного полиморфизма от содержания тяжелых металлов. Объем исследованного материала (2476 личинок хирономид, в том числе 742 личинки *G. glaucus*) является достаточным для получения статистически обоснованных результатов. Вместе с тем, ряд задач решён не в полной мере, о чём будет сказано ниже в разделе замечаний.

Научная новизна работы определяется тем, что впервые для малых водоемов Калининградской области проведено комплексное эколого-популяционное и цитогенетическое исследование *G. glaucus*. Выявлено и картировано 8 новых последовательностей дисков хромосом (*glaC4*, *glaD6*, *glaD7*, *glaD8*, *glaE9*, *glaG6*, *glaG7*, *glaG8*), что является существенным вкладом в кариосистематику вида на мировом уровне. Предложен оригинальный индекс variability инверсионного полиморфизма кариотипа. Установлены корреляционные связи между показателями хромосомного полиморфизма и содержанием отдельных тяжелых металлов в донных отложениях. Вместе с тем, следует отметить, что новизна работы носит преимущественно региональный характер, а предложенный индекс variability нуждается в более детальном обосновании его преимуществ перед существующими показателями.

В автореферате сформулированы три положения, выносимые на защиту, и пять выводов. Формально выводы охватывают все поставленные задачи. Первое положение о доминантном статусе *G. glaucus* подтверждается данными индекса Палия-Ковнацки и раскрывается в выводах 1 и 2. Второе положение об увеличении адаптивного потенциала за счёт новых инверсионных последовательностей находит отражение в выводах 3, 4 и 5. Третье положение о мутагенном влиянии тяжелых металлов на кариотип частично подтверждается корреляционным анализом (вывод 5). Однако имеется определённое несоответствие между числом и содержанием положений и выводов, что будет детализировано в разделе замечаний.

Достоверность полученных результатов обеспечивается значительным объёмом исследованного материала (742 особи *G. glaucus* из 7 водоемов за период 2012–2015 гг.), использованием стандартных и апробированных методик сбора и обработки материала (ацето-орсеиновая методика приготовления препаратов политенных хромосом, атомно-абсорбционная спектрометрия для анализа донных отложений), применением общепринятых систем картирования хромосом (система Беляниной–Дурновой), а также статистической обработкой данных с использованием корреляционного анализа Спирмена. Вместе с тем, вызывает определённые вопросы ограниченность временного ряда химических анализов донных отложений (2013–2015 гг.) при том, что сбор биологического материала начат в 2012 г.

Согласно тексту автореферата, сборы полевого материала, кариологический и морфологический анализ, обобщение данных, интерпретация результатов, формулировка основных положений и выводов выполнены автором самостоятельно. Об этом свидетельствует и структура публикаций: из 22 работ по теме диссертации автор является первым автором в значительной части публикаций. Работа выполнена в рамках научных тематик БФУ им. И. Канта и поддержана грантом проекта «5-100». Уровень самостоятельности оценивается как достаточный для кандидатской диссертации.

Теоретическая значимость работы заключается в расширении представлений о хромосомном инверсионном полиморфизме *G. glaucus* как

адаптивном механизме, позволяющем природным популяциям реагировать на антропогенное воздействие. Данные о 8 новых последовательностях дисков хромосом вносят вклад в кариосистематику вида и понимание микроэволюционных процессов в популяциях Chironomidae. Предложенный индекс варибельности инверсионного полиморфизма кариотипа может стать дополнительным инструментом для оценки генетической изменчивости популяций. Установленные корреляции между кариотипическими показателями и содержанием отдельных тяжелых металлов (Zn, Cr, Ni, Cu, Co, Fe) представляют интерес для развития теории цитогенетической адаптации гидробионтов к техногенному загрязнению.

Практическая значимость работы определяется возможностью использования *G. glaucus* и показателей его хромосомного полиморфизма для биомониторинга континентальных водоемов. Данные о содержании тяжелых металлов в донных отложениях семи водоемов Калининградской области имеют самостоятельное прикладное значение для оценки экологического состояния данных водных объектов. Результаты исследования внедрены в образовательный процесс БФУ им. И. Канта по ряду учебных дисциплин (акт внедрения от 30.09.2024), что подтверждает их востребованность. Составленная карта распространения *G. glaucus* в странах Евразии и Великобритании может быть использована для прогнозирования изменчивости ареала вида.

Личный вклад Е.А. Калининой в выполнение диссертационного исследования оценивается как значительный. Автором самостоятельно проведены полевые сборы, кариологический и морфологический анализ материала, обобщение и интерпретация данных. По теме диссертации опубликовано 22 работы, включая 3 статьи в журналах, рекомендованных ВАК РФ (одна из которых индексируется в Scopus). Результаты исследования многократно апробированы на всероссийских и международных конференциях (12 конференций за период 2013–2024 гг.). Вместе с тем, обращает на себя внимание, что в значительной части публикаций автор диссертации не является первым автором, а научный руководитель Н.В. Винокурова выступает соавтором практически всех работ, что, впрочем, является обычной практикой для кандидатских диссертаций.

Автореферат оформлен в целом в соответствии с установленными требованиями. Структура автореферата включает все необходимые разделы: общую характеристику работы, основное содержание, заключение с выводами, список публикаций. Текст написан научным языком, иллюстрирован рисунками и таблицами. Однако имеется ряд замечаний к оформлению, которые изложены ниже.

Несмотря на положительную оценку работы, при анализе автореферата выявлен ряд замечаний, которые считаю необходимым отметить:

1. Несоответствие между третьим защищаемым положением и доказательной базой (с. 6, положение 3). Третье положение сформулировано следующим образом: «Тяжелые металлы – поллютанты донных отложений, стабилизирующие наследственные структуры генома, могут идиопатически и

в разной степени оказывать мутагенное влияние на кариотип *G. glaucus*». Использование термина «идиопатически» (т.е. без установленной причины, спонтанно) в контексте научного положения, которое должно быть доказано в ходе исследования, представляется внутренне противоречивым. Если влияние тяжелых металлов «идиопатическое», то каким образом оно может быть доказано как закономерность? Кроме того, утверждение о «стабилизирующем» действии тяжелых металлов на «наследственные структуры генома» и одновременно их «мутагенном влиянии» содержит логическое противоречие, которое в тексте автореферата не получило достаточного разъяснения. Данное положение нуждается в более строгой и однозначной формулировке.

2. Неполнота доказательной базы для установления причинно-следственных связей между тяжелыми металлами и хромосомным полиморфизмом (с. 16–19). Автор устанавливает корреляционные связи между концентрациями тяжелых металлов в донных отложениях и показателями инверсионного полиморфизма, однако корреляция не является доказательством причинно-следственной связи. В тексте автореферата (с. 16–17) автор сам отмечает, что «прямая зависимость среднего числа гетерозиготных инверсий на особь от концентрации металлов прослеживается только в трех из семи водоемов», а в трёх других водоемах наблюдается «обратно пропорциональная зависимость». Такая разнонаправленность результатов существенно ослабляет доказательность пятой задачи и третьего защищаемого положения. Отсутствие экспериментальных данных (лабораторного биотестирования) не позволяет однозначно разделить влияние тяжелых металлов и других экологических факторов на кариотип.

3. Логическая непоследовательность в интерпретации данных по оз. Чайка (с. 13–14, вывод 2 на с. 20). Вывод 2 гласит: «Установлена отрицательная логарифмическая зависимость индекса доминирования Паляя-Ковнацки *G. glaucus* и показателей концентраций тяжелых металлов для оз. Чайка». Однако оз. Чайка характеризуется минимальным суммарным содержанием тяжелых металлов среди всех исследованных водоемов (с. 14), и превышение ПДК зафиксировано только по Cu . Возникает вопрос: каким образом при минимальном загрязнении может быть установлена «отрицательная логарифмическая зависимость»? Если зависимость установлена только для одного водоема из семи, то насколько она может считаться закономерностью? Данный вывод нуждается в более корректной формулировке и обосновании.

4. Несоответствие временных рамок сбора биологического материала и химического анализа донных отложений (с. 8–9, таблица 1 на с. 12–13). Сбор личинок хирономид проводился в период 2012–2015 гг. (с. 8), тогда как химический анализ донных отложений выполнен только за 2013–2015 гг. (таблица 1, с. 12–13), причём для разных водоемов — за разные годы (для пр. Нижний, оз. Пеньковое, пр. Чистый и оз. Чайка — 2013–2014 гг.; для оз. Школьное, системы пр. Карасевка и пр. Ботанического сада — 2014–2015 гг.). Таким образом, для 2012 г. данные о содержании тяжелых металлов

отсутствуют, а для ряда водоемов биологические и химические данные не совпадают по годам. Это существенно ограничивает возможность корректного сопоставления экологических и цитогенетических данных.

5. Недостаточное обоснование предложенного индекса варибельности инверсионного полиморфизма кариотипа (с. 9, таблица 3 на с. 15). Автор заявляет о разработке нового показателя — «индекса варибельности инверсионного полиморфизма кариотипа, выраженного в отношении суммарных показателей частот инверсий к частотам стандартных последовательностей» (с. 9). Однако в автореферате не приведено математическое обоснование данного индекса, не обсуждены его преимущества и ограничения по сравнению с существующими показателями (число гетерозиготных инверсий на особь, ЧИП/ЧГК и др.), не проведена его валидация на независимом материале. В таблице 3 (с. 15) индекс представлен как «Индекс инверсионного полиморфизма кариотипа, %», что не совпадает с названием в тексте на с. 9 («индекс варибельности инверсионного полиморфизма кариотипа»).

6. Нелогичность в структуре рисунков 4 и 5 (с. 17–18). На рисунках 4А и 5А представлены идентичные данные о концентрациях тяжелых металлов в донных отложениях, что является неоправданным дублированием. Кроме того, на обоих рисунках (4А и 5А) ось ординат имеет отрицательные значения (от –5000), что лишено физического смысла для концентраций тяжелых металлов и, вероятно, является артефактом построения диаграммы. Для пр. Нижний на рисунке 4А за 2013 и 2014 гг. указано значение 9,3 мг/кг, что резко отличается от значений для других водоемов (5000–17000 мг/кг) и не согласуется с данными таблицы 1, где суммарное содержание металлов для пр. Нижний должно быть существенно выше. Это вызывает сомнения в корректности представленных данных или их визуализации.

7. Использование ПДК для почв вместо нормативов для донных отложений (с. 9). Автор справедливо отмечает отсутствие федеральных нормативных документов, устанавливающих ПДК тяжелых металлов для донных отложений, и использует для сравнительного анализа ПДК и ОДК для почв (ГН..., 2006, 2009). Однако данный подход имеет существенные ограничения, поскольку физико-химические свойства донных отложений (влажность, окислительно-восстановительный потенциал, содержание органического вещества, гранулометрический состав) принципиально отличаются от почв, что влияет на биодоступность металлов. Автору следовало бы более подробно обсудить ограничения данного подхода и, возможно, использовать дополнительные международные нормативы (например, канадские или голландские стандарты качества донных отложений).

8. Неполнота первого вывода относительно первой задачи (с. 4, 20). Первая задача включает два компонента: «Выявить картографические границы ареала вида *G. glaucus* в России и Европе» и «оценить его экологическую значимость в исследуемых природных таксоценозах хирономид водоемов Калининградской области». В первом выводе (с. 20)

указано, что «Выявлен широкий ареал фитофильного вида *G. glaucus* в странах Евразии, Великобритании, Северо-Западных и Центральных регионах России», однако понятие «картографические границы ареала» предполагает определение лимитирующих факторов распространения, северной, южной, восточной и западной границ ареала, что в автореферате не представлено. Фактически составлен кадастр находок вида, а не определены границы ареала.

9. Терминологическая неточность в формулировке второго защищаемого положения (с. 6). Положение 2 гласит: «Природные популяции *G. glaucus* водоемов Калининградской области демонстрируют увеличение адаптивного потенциала за счет формирования и закрепления новых инверсионных последовательностей дисков хромосом в генофонде популяций». Утверждение об «увеличении адаптивного потенциала» подразумевает сравнение с предшествующим состоянием, однако для популяций *G. glaucus* Калининградской области отсутствуют исходные (базовые) данные, относительно которых можно было бы констатировать «увеличение». Корректнее было бы говорить о «высоком адаптивном потенциале» или «расширении генетического разнообразия».

10. Несоответствие между числом идентифицированных видов и заявленным фокусом исследования (с. 11). Указано, что «идентифицировано 23 вида, относящихся к двум подсемействам», однако в автореферате не приведён полный список выявленных видов, что затрудняет оценку полноты фаунистических данных и корректности определения таксоценозов. Для работы, в которой оценивается экологическая значимость *G. glaucus* в таксоценозах, представление полного видового списка было бы весьма желательным.

11. Вопросы к корреляционному анализу (таблица 4, с. 19). В таблице 4 представлены коэффициенты корреляции Спирмена между частотами последовательностей дисков хромосом и концентрациями тяжелых металлов. Однако не указано число наблюдений (n), на основании которого рассчитаны коэффициенты корреляции. Учитывая, что данные получены из 7 водоемов за 2–3 года, общее число пар наблюдений может быть весьма ограниченным (порядка 14), что ставит под вопрос статистическую мощь анализа. Кроме того, множественные сравнения (18 последовательностей $\times 8$ показателей = 144 коэффициента) без поправки на множественность тестирования (например, поправка Бонферрони) повышают вероятность ложноположительных результатов.

12. Отсутствие данных о гидрохимических и гидрологических параметрах водоемов (с. 10). В разделе 2.3 приведена лишь «краткая характеристика» водоемов с указанием на «значительную антропогенную нагрузку, преимущественно обусловленную поступлением хозяйственно-бытовых и поверхностных сточных вод». Однако для корректной интерпретации связи между загрязнением и цитогенетическими показателями необходимы данные о pH, температуре, содержании растворённого кислорода, БПК, ХПК и других параметрах, которые могут влиять как на биодоступность металлов, так и на состояние популяций хирономид.

13. Замечание к рисунку 2 (с. 11). На рисунке 2 представлено варьирование значений индекса доминирования Паляя-Ковнацки по годам (2012–2015 гг.), однако для разных водоемов представлено разное число лет наблюдений. Например, для оз. Школьное представлены данные только за 2012 г. (одно значение - 62%), для пр. Нижний - за 2013 и 2014 гг., для оз. Чайка — за 2012, 2014 и 2015 гг. Такая неравномерность временных рядов затрудняет корректное сравнение динамики доминирования *G. glaucus* между водоемами и выделение «трёх комплексов водоемов» (с. 12).

14. Замечание к формулировке пятого вывода (с. 21). Вывод 5 содержит утверждение: «Вариативность индексов исследованных геномных показателей, в том числе, новые виды инверсий и эктопических контактов коррелирует с концентрациями Zn, Cr и Cu». Однако в тексте автореферата «эктопические контакты» упоминаются впервые только в данном выводе и нигде ранее не описаны и не обсуждены. Это создаёт впечатление, что вывод содержит информацию, не подкреплённую представленным в автореферате материалом.

15. Замечания к оформлению. На с. 5 в разделе «Сведения о практическом использовании» допущена грамматическая ошибка: «при подготовки обучающихся» вместо «при подготовке обучающихся». В списке публикаций (с. 21–24) нумерация работ ВАК начинается с 1, а публикации в других изданиях - с 4, при этом работы, отмеченные звёздочкой (*) как индексируемые в Scopus/Web of Science, включают как статью ВАК № 2 (с. 21–22), так и публикации № 9 и № 16 из раздела «Публикации в других изданиях», что создаёт путаницу в классификации публикаций.

16. Замечание к списку литературы. В автореферате указано, что список литературы диссертации содержит 265 наименований, из них 67 на иностранных языках. Для работы, претендующей на оценку хромосомного полиморфизма вида на мировом уровне, доля иностранных источников (25,3%) представляется недостаточной, учитывая обширную зарубежную литературу по цитогенетике Chironomidae (работы P. Michailova, I. Kiknadze, J. Martin и др.). В самом автореферате ссылки на литературные источники приведены в формате «автор, год» без полного библиографического описания, что соответствует формату автореферата, однако не позволяет оценить полноту и корректность оформления по ГОСТу.

Заключение. Высказанные замечания носят преимущественно дискуссионный характер и не умаляют общей положительной оценки диссертационного исследования Е.А. Калининой. Представленное исследование по актуальности, объёму полученной информации, новизне данных, широте и значимости сделанных научных обобщений, а также по формальным критериям полностью соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук (Положением о присуждении ученых степеней), утвержденным постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г., № 842, а её автор, Калинина Евгения Анатольевна,

заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.15 Экология.

Краснопёров Андрей Геннадьевич
Доктор сельскохозяйственных наук, доцент
(06.01.01 – общее земледелие; 03.00.16 – экология)

Заместитель директора по научной работе
Калининградского научно-исследовательского института сельского хозяйства - Филиала ФГБНУ «Федеральный научный центр кормопроизводства и агроэкологии им. В.Р. Вильямса»,
238651, поселок Славянское Полесского района Калининградской области, переулок Молодежный, дом 9, тел.+740158-246-48, E-mail: kaliningradniish@yandex.ru

Я, Краснопёров Андрей Геннадьевич, даю согласие на обработку персональных данных в документы, связанные с работой диссертационного совета и их дальнейшую обработку.

06 марта 2026 г. _____ А.Г. Краснопёров


подпись

Подпись доктора сельскохозяйственных наук
Краснопёрова А.Г. заверяю:
И.о. директора



_____ М.А. Пятаков


подпись