

Облікова картка дисертації

I. Загальні відомості

Державний обліковий номер: 0824U001148

Особливі позначки: відкрита

Дата реєстрації: 08-03-2024

Статус: Наказ про видачу диплома

Реквізити наказу МОН / наказу закладу: Наказ ХНУ імені В. Н. Каразіна № 0302-Зк/312 від 06.03.2024 р.



II. Відомості про здобувача

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Федорова Анна Олегівна

2. Anna Fedorova

Кваліфікація:

Ідентифікатор ORCID ID: 0000-0002-5133-7928

Вид дисертації: доктор філософії

Аспірантура/Докторантура: так

Шифр наукової спеціальності: 091

Назва наукової спеціальності: Біологія та біохімія

Галузь / галузі знань: біологія

Освітньо-наукова програма зі спеціальності: Біологія

Дата захисту: 15-02-2024

Спеціальність за освітою: Біологія

Місце роботи здобувача:

Код за ЄДРПОУ:

Місцезнаходження:

Форма власності:

Сфера управління:

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

III. Відомості про організацію, де відбувся захист

Шифр спеціалізованої вченої ради (разової спеціалізованої вченої ради): ID 3861

Повне найменування юридичної особи: Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна

Код за ЄДРПОУ: 02071205

Місцезнаходження: майдан Свободи, буд. 4, Харків, Харківський р-н., 61022, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Міністерство освіти і науки України

Ідентифікатор ROR:

IV. Відомості про підприємство, установу, організацію, в якій було виконано дисертацію

Повне найменування юридичної особи: Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна

Код за ЄДРПОУ: 02071205

Місцезнаходження: майдан Свободи, буд. 4, Харків, Харківський р-н., 61022, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Міністерство освіти і науки України

Ідентифікатор ROR:

V. Відомості про дисертацію

Мова дисертації: Українська

Коди тематичних рубрик: 34.19.05, 34.23.23, 34.23.35, 34.33.27

Тема дисертації:

1. Розширення підходів до встановлення складу природних геміклональних популяційних систем гібридогенного *Pelophylax esculentus complex*
2. Expansion of approaches to establishing the composition of natural hemiclinal population systems of hybridogenic *Pelophylax esculentus complex*

Реферат:

1. Дисертаційна робота присвячена розробці нових та аналізу ефективності вже існуючих методів вивчення зелених жаб роду *Pelophylax*, та їх застосування для визначення складу та механізмів відтворення зелених жаб у геміклональних популяційних системах. 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). 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 та постійної модифікації і розробки нових. Загалом в дисертаційній

роботі було використано та проаналізовано більше 15 різних методів на загальній вибірці у більше ніж 1200 представників роду *Pelophylax*, основна частина яких представлена батьківськими видами *P. ridibundus* (генотип RR), *P. lessonae* (генотип LL) та їх міжвидовим гібридом *P. esculentus* (генотипи LR, LLR та LRR). В ході роботи ми розробили і впровадили новий протокол прижиттєвого отримання хромосомних препаратів від пуголовків за рахунок використання їх здатності до швидкої регенерації на ранніх етапах розвитку; а також перевірили ефективність використання наступних методів: біоакустичний аналіз криків вивільнення, аналіз аномалій розвитку, цитометрія еритроцитів, цитометрія сперматозоїдів. Біоакустичний аналіз криків вивільнення п'яти видів роду *Pelophylax* та трьох міжвидових гібридів показав, що крики вивільнення самців чітко розділяються на групи *ridibundus* та *lessonae*, а крики вивільнення гібридів носять проміжний характер. В середині ліній також спостерігається відмінність між криками вивільнення представників різних видів. В той же час для самиць подібна картина не є характерною: крики вивільнення більшості проаналізованих самиць змішуються в одну групу. Також крики вивільнення триплоїдних гібридів не відрізняються від криків вивільнення диплоїдних гібридів. Таким чином, даний біоакустичний аналіз криків вивільнення не може використовуватися в якості надійного методу ідентифікації таксономічної приналежності або плоїдності зелених жаб. За результатом оцінки аномалій розвитку не було знайдено різниці в частоті трапляння аномалій у *P. ridibundus* та *P. esculentus*. Також не спостерігалось різниці між диплоїдними та триплоїдними гібридами, між самцями і самицями. Однак, значуща різниця в частоті аномалій кінцівок була знайдена між молодими особинами, що тільки пройшли метаморфоз та вибіркою дорослих особин. Встановлено, що вимірювання розмірів еритроцитів або їх ядер не є надійним методом визначення плоїдності конкретних особин, оскільки в деяких ГПС зустрічаються триплоїди, чії клітини та ядра мають розмір в діапазоні характерному для диплоїдних клітин та ядер. Однак, даний метод є ефективним для загальної детекції наявності триплоїдів в ГПС. Аналіз розмірного розподілу сперматозоїдів диплоїдних та триплоїдних гібридів *P. esculentus* показав, що розмір сперматозоїдів міжвидових геміклональних гібридів відрізняється в кожній окремої особини і вимірювання розмірів сперматозоїдів не може бути надійним методом для ідентифікації самців, що потенційно продукують диплоїдні гамети. Ми використали комбінацію морфологічних, молекулярних, цитогенетичних та гібридологічного методу для комплексного аналізу складу та характеру відтворення в R-E-Ep-ГПС та R-Epf-ГПС. За результатом використання комбінації методів для визначення складу трьох різних ГПС було проведено порівняння та оцінку ефективності кожного методу, використаного в дисертаційному дослідженні.

2. The dissertation is devoted to developing new methods and analyzing the effectiveness of already existing methods for studying water frogs of the genus *Pelophylax*, and using these methods to determine the composition and mechanisms of reproduction of water frogs in hemiclinal population systems. Water frogs of *Pelophylax esculentus* complex consist of hybrid *P. esculentus* (Linnaeus, 1758) and two parental species, namely *P. ridibundus* (Pallas, 1771) (genotype RR), *P. lessonae* (Camerano, 1882) (genotype LL), and their interspecies hybrid *P. esculentus* (genotypes LR, LLR and LRR). Hybrids reproduce through hybridogenesis and live in sympatry with one or both parental species in so-called hemiclinal population systems (HPS). To study the complex mechanisms of reproduction and maintenance of the composition of various types of HPS, it is necessary to determine the genotypes of the individuals that are part of the HPS, the types of gametes they transmit, etc. This requires a large number of methods and constant modification and development of new ones. In total, more than 14 different methods were used to analyze more than 1,200 frogs of the genus *Pelophylax*. Most of frogs were parental species *P. ridibundus* (genotype RR), *P. lessonae* (genotype LL), and their interspecies hybrid *P. esculentus* (genotypes LR, LLR and LRR). In this work, we developed and implemented a new protocol for obtaining mitotic chromosomes from tadpoles by using their ability to rapidly regenerate in the early stages of development; and also analyzed the effectiveness of the following methods: bioacoustic analysis of release calls, analysis of developmental anomalies, erythrocyte cytometry, sperm cytometry. Bioacoustic analysis of release calls of five *Pelophylax* species and three interspecies hybrids showed that male release calls are divided into “*ridibundus*” and “*lessonae*” lineages, while hybrids' calls have intermediate features. Within the lineages release calls of different species are also distinguished. However, the same pattern was not found for females: most of female release calls are mixed in one

group. Also, release calls of triploid hybrids did not differ from diploid. Therefore, release calls cannot be used as a reliable method for species or ploidy identification of water frogs. As a result of the analysis of developmental anomalies, no difference was found in the frequency of anomalies between *P. ridibundus* and *P. esculentus*. Also, no difference was observed between diploid and triploid hybrids. However, a significant difference in the frequency of limb malformations was found between the newly metamorphosed juveniles and the adult individuals. It has been established that measuring the size of erythrocytes or their nuclei is not a reliable method for determining the ploidy of specific individuals, since triploids with cells and nuclei size in the range typical of diploid cells and nuclei are found in some HPS. However, this method is effective for the general detection of the presence of triploids in HPS. Analysis of sperm size distribution of diploid and triploid *P. esculentus* hybrids showed that spermatogenesis of interspecies hemiclinal hybrids has many degrees of freedom and measurement of sperm size cannot be a reliable method for identification of males potentially producing diploid gametes. We used a combination of morphological, molecular, cytogenetic and hybridological methods to comprehensively analyze the composition and pattern of reproduction in R-E-Ep-HPS and R-Epf-HPS. Based on the results of using a combination of methods to determine the composition of three different HPS, we compared and evaluated the effectiveness of each method used.

Державний реєстраційний номер ДіР:

Пріоритетний напрям розвитку науки і техніки: Науки про життя, нові технології профілактики та лікування найпоширеніших захворювань

Стратегічний пріоритетний напрям інноваційної діяльності: Не застосовується

Підсумки дослідження: Теоретичне узагальнення і вирішення важливої наукової проблеми

Публікації:

- 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>.
- 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.
- Drohvalenko M., Fedorova A. (2022) The first evidence of triploidy among *Pelophylax esculentus* (Linnaeus, 1758) (Anura: Ranidae) in the Chernobyl Exclusion Zone. *Bonn Zoological Bulletin*. 71(2): 105–108.
- 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(2010): 1–7.
- Fedorova A., Shabanov D. (2022) Genomes diversity in oocytes of hybrid water frogs *Pelophylax esculentus* (Anura: Ranidae) in hemiclinal population systems from Ukraine. *Biodiversity, ecology and experimental biology*. 24(1): 25–29.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.

Наукова (науково-технічна) продукція:

Соціально-економічна спрямованість:

Охоронні документи на ОПВ:

Впровадження результатів дисертації: Впровадження не планується

Зв'язок з науковими темами:

VI. Відомості про наукового керівника/керівників (консультанта)

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Шабанов Дмитро Андрійович

2. Dmytro Shabanov

Кваліфікація: д. б. н., професор, 03.00.16

Ідентифікатор ORCID ID: 0000-0003-3247-6882

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи: Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна

Код за ЄДРПОУ: 02071205

Місцезнаходження: майдан Свободи, буд. 4, Харків, Харківський р-н., 61022, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Міністерство освіти і науки України

Ідентифікатор ROR:

VII. Відомості про офіційних опонентів та рецензентів

Офіційні опоненти

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Струс Василина Орестівна

2. Vasylyna Strus

Кваліфікація: к. б. н., 03.00.08

Ідентифікатор ORCID ID: 0000-0003-1126-7109

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи: Львівський національний університет імені Івана Франка

Код за ЄДРПОУ: 02070987

Місцезнаходження: вул. Університетська, буд. 1, Львів, 79000, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Міністерство освіти і науки України

Ідентифікатор ROR:

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Гассо Віктор Якович
2. Viktor Gasso

Кваліфікація: к. б. н., доц., 03.00.16**Ідентифікатор ORCID ID:** 0000-0002-6094-9408**Додаткова інформація:****Повне найменування юридичної особи:** Дніпровський національний університет імені Олеся Гончара**Код за ЄДРПОУ:** 02066747**Місцезнаходження:** проспект Науки, буд. 72, Дніпро, Дніпровський р-н., 49045, Україна**Форма власності:** Державна**Сфера управління:** Міністерство освіти і науки України**Ідентифікатор ROR:****Рецензенти****Власне Прізвище Ім'я По-батькові:**

1. Страшнюк Володимир Юрійович
2. Volodymyr Strashnyuk

Кваліфікація: д. б. н., професор, 03.00.15**Ідентифікатор ORCID ID:** 0000-0002-8343-866X**Додаткова інформація:****Повне найменування юридичної особи:** Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна**Код за ЄДРПОУ:** 02071205**Місцезнаходження:** майдан Свободи, буд. 4, Харків, Харківський р-н., 61022, Україна**Форма власності:** Державна**Сфера управління:** Міністерство освіти і науки України**Ідентифікатор ROR:****Власне Прізвище Ім'я По-батькові:**

1. Атемасова Тетяна Андріївна
2. Tetyana Atemasova

Кваліфікація: к. б. н., 03.00.16**Ідентифікатор ORCID ID:** 0000-0002-7527-5143**Додаткова інформація:****Повне найменування юридичної особи:** Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна**Код за ЄДРПОУ:** 02071205

Місцезнаходження: майдан Свободи, буд. 4, Харків, Харківський р-н., 61022, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Міністерство освіти і науки України

Ідентифікатор ROR:

VIII. Заключні відомості

**Власне Прізвище Ім'я По-батькові
голови ради**

Божков Анатолій Іванович

**Власне Прізвище Ім'я По-батькові
головуючого на засіданні**

Божков Анатолій Іванович

**Відповідальний за підготовку
облікових документів**

Шевченко Андрій Олександрович

Реєстратор

УкрІНТЕІ

**Керівник відділу УкрІНТЕІ, що є
відповідальним за реєстрацію наукової
діяльності**



Юрченко Тетяна Анатоліївна