

Федеральное государственное бюджетное
учреждение науки
**Институт
биологии развития**

им. Н.К. Кольцова РАН

(ИБР РАН)

ул. Вавилова, д. 26, Москва, 119334
Тел. 8 (499)-135-33-22 Факс 8 (499)-135-80-12
E-mail: info@idbras.ru
http://www.idbras.ru/
ОКПО 02699062, ОГРН 1027700450800
ИНН/КПП 7736044850/773601001

28.02.2020 № 12506-01/45

На № 03/04-104 от 20.12.2019

«УТВЕРЖДАЮ»

**Директор
Федерального государственного
бюджетного учреждения науки
Института биологии развития
им. Н.К. Кольцова (ИБР РАН)**

Член-корр. РАН, д.б.н.



А.В. Васильев

20.20 г.

**Отзыв ведущей организации
о научно-практической значимости диссертации**

Яцук Александры Алексеевны

**на тему: «Морфологическое генетическое разнообразие злаковых мух рода *Meromyza*
Meigen, 1830 (DIPTERA, CHLOROPIDAE)», представленной к защите на соискание
ученой степени кандидата биологических наук по специальности:**

03.02.05 – Энтомология

АКТУАЛЬНОСТЬ ТЕМЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Одной из ключевых задач современной эволюционной биологии является выявление факторов и процессов, приводящих к образованию новых видов. Дивергенция, связанная как с поведенческой, так и с географической изоляцией, разделяет вид на обособленные группы, характеризующиеся своими комплексами признаков. В дальнейшем, стабилизирующий отбор, по, например, репродуктивному поведению, наоборот, поддерживает целостность новых видов (Картавцев, 2013). У насекомых существует комплекс поведенческих признаков, включающий пре-, копуляционные и посткопуляционные механизмы, определяющие не только успех репродукции, но и межвидовой изоляции (Сафонкин, 2011). На уровне копуляции изоляция часто связана с

морфологией копулятивного аппарата (Sirot, 2003), поскольку его структура является одним из ведущих компонентов «консервации» видов (Shapiro, Porter, 1989). В связи с этим, изучение общих закономерностей изменения формы гениталий, корреляционных связей между изменениями формы полового аппарата и дивергенцией видов, уточнение диапазонов их изменчивости имеет большое значение, как теоретическое, в том числе для решения вопросов микроэволюции, так и практическое, в частности, для решения вопросов систематики.

Актуальность темы исследования не вызывает сомнений.

НОВИЗНА НАУЧНЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

В данной работе впервые на основе значительного объема материала проведен сравнительный анализ 26 видов злаковых мух рода *Meromyza*, включающий анализ изменчивости признаков внешней морфологии и генитального аппарата самцов и, для 24 видов, молекулярно-генетической изменчивости по гену COI мтДНК.

В результате работы впервые установлены статистически достоверные диапазоны изменчивости формы и размеров постгонитов и признаков внешней морфологии, на которых во многом основана идентификация видов.

На основе полученных морфологических и молекулярно-генетических данных меромизы впервые разделены на 8 кластеров. По этим кластерам впервые изучены микроэволюционные закономерности изменения формы постгонитов между видами меромиз и выявлена зависимость их размеров от степени близости видов к предковым гаплотипам. Выявлены типы изменчивости формы постгонитов, определяющие видовое разнообразие по данному признаку.

На примере голарктического вида *M. saltatrix*, евро-сибирского *M. nigriseta* и дауро-монгольского *M. acuminata* впервые установлены диапазоны изменчивости признаков внешней морфологии и генитального аппарата самцов на уровне популяций. Установлены критерии изменчивости генитального аппарата самцов, разделяющие популяции. Впервые выявлены внутри- и межпопуляционные закономерности генетического разнообразия *M. saltatrix*.

Таким образом, полученные в работе результаты обладают неоспоримой новизной и большой научной значимостью.

ПРАКТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ

Результаты работы вносят вклад в исследование механизмов видообразования, связанного с эволюцией полового аппарата, а также в изучение морфологии, филогении и эволюции злаковых мух рода *Meromyza*.

Изучение изменчивости элементов внешней морфологии и морфологии генитального аппарата самцов позволяет установить пределы возможности их использования в качестве диагностических признаков.

Использованный в работе подход может быть применен для изучения эволюционных связей внутри семейства Chloropidae и других близкородственных групп насекомых.

ОЦЕНКА СОДЕРЖАНИЯ ДИССЕРТАЦИИ

Основной текст диссертации изложен на 134 страницах и состоит из “введения”, “обзора литературы”, “материалов и методов”, 3 глав, представляющих результаты и их обсуждение, “заклучения”, “выводов” и “списка литературы”. Диссертация также включает в себя приложения, изложенные на 63 страницах. Работа содержит 174 таблицы и 91 рисунок. Список литературы включает 199 источников, в т.ч. 81 на иностранных языках.

Во Введении автор лаконично обосновывает актуальность выбранной темы и формулирует цель и задачи исследования, выделяет научную новизну, теоретическое и практическое значение, а также перечисляет положения, выносимые на защиту. Цель исследования и задачи сформулированы корректно.

Глава «Обзор литературы» состоит из 3-х разделов, в которых автор приводит подробную характеристику морфологических критериев для рода *Meromyza*, описывает основные проблемы и сложности, существующие в настоящее время в области определения мух данного семейства по признакам внешней морфологии и строению полового аппарата самцов, приводит эколого-географическую характеристику рода и историю его изучения. Большое внимание уделяется применению комплексного подхода на основе морфометрического и молекулярно-генетического анализов для решения сложных филогенетических задач. Приводится обоснование выбора методов и молекулярного маркера.

Всего в работе проанализировано 26 видов мух рода *Meromyza*. Материал собирался автором лично в различных областях России и сопредельных стран в течение 5 лет. Также использовался материал, собранный коллегами. Для 18 видов был проведен анализ наиболее важных для идентификации видов внешних морфологических признаков методом линейной

морфометрии. Было сделано более 600 микрофотографий. Цвет полос был исследован у 3000 экземпляров меромиз 24 видов. Для исследования изменчивости цвета щупиков было проанализировано 1525 экземпляров вида *M. acuminata*.

Для анализа размерных характеристик постгонитов методами линейной морфометрии было приготовлено более 600 препаратов и сделано более 1000 микрофотографий. Были применены: дискриминантный анализ, корреляционный анализ, однофакторная ANOVA с апостериорным сравнением средних (post-hoc) тестом Тьюки, кластерный анализ, критерий Стьюдента и в некоторых случаях анализы для непараметрических данных, а также MANOVA и однофакторный ANOVA с post-hoc тестом Фишера при $P < 0,05$ в программе Biosystem office (Petrosyan, 2014) для внутривидового анализа *M. saltatrix*.

В качестве маркера для молекулярно-генетического анализа был выбран 3'-концевой фрагмент митохондриального гена COX1 длиной 770 п.н. Всего было получено 93 сиквенса для 24 видов мух, 42 из которых *M. saltatrix* разного географического происхождения.

Значительные выборки в сочетании с богатым арсеналом математических методов обработки результатов дают основание считать полученные данные достоверными, а автора – квалифицированным специалистом в своей области. К несомненным достоинствам представленной к защите работы можно отнести также корректное владение специальной терминологией.

Предложенный А.А. Яцук комплексный подход позволил увидеть, что выбранный ею объект исследования является очень интересным в эволюционном плане. Дифференцированное использование признаков морфологии постгонитов в сочетании с молекулярной филогенией по гену COX1 позволяет проследить два этапа видообразования в группе:

1) Образование 8-ми хорошо сформированных базовых таксонов в результате почти одновременной радиации от предка группы, различающихся по четырем выделенным автором филогенетически значимым признакам морфологии постгонитов (п. 4.1.) и накопившим за время независимой эволюции достаточное количество изменчивости по быстро эволюционирующим нейтральным молекулярным маркерам.

2) Быстрое и недавнее (возможно идущее в настоящее время) образование из этих таксонов новых видов, сопровождающееся видоспецифическими изменениями морфологии постгонитов (п. 4.2.), которые указывают на формирование репродуктивных барьеров. Такая ситуация характерна для видообразования, связанного с пищевой, экологической или иной специализацией, а кластер новых видов в этом случае представляет комплекс парафилетических таксонов с низким уровнем внутри- и межвидовой изменчивости по нейтральным молекулярным маркерам.

Тем не менее, к диссертации А.А. Яцук есть некоторые вопросы и замечания.

1) Не совсем понятен выбор молекулярного маркера. В работе используется вторая половина (3'-концевой фрагмент) митохондриального гена COX1, которая не перекрывается с баркодинговым участком, традиционно используемым для таких случаев в мировой практике. Свой выбор автор обосновывает более высокой консервативностью данного фрагмента. Однако:

- Ссылка на источник информации об этом в работе не приводится.

- Не ясно, для чего в случае филогенетического анализа в группе недавно дивергировавших молодых видов выбирается более консервативный маркер.

- Выбранный участок не дает возможности сравнений с данными по другим видам меромиз, имеющимися в базе данных GenBank.

- Полученные результаты, однако, напротив, указывают на недостаточную консервативность маркера для установления порядка филиации кластеров, в связи с большим количеством рецидивирующих замен (гомоплазий), снижающих значения Бутстреп-поддержки.

Таким образом, выбор маркера не кажется достаточно обоснованным.

2) Наиболее серьезные замечания касаются интерпретации автором результатов филогенетического анализа. Глава 4.3 “Филогения рода на основе молекулярно-генетического анализа” построена по принципу обсуждения взаимного расположения кластеров видов по данным разных филогенетических построений. Однако низкие значения бутстреп-поддержки базового ветвления не позволяют делать достоверных заключений. Порядок ветвления по полученным данным не может быть установлен. Кроме того, автор часто под филогенетической близостью кластеров подразумевает не сумму длин ветвей, а пространственное сближение ветвей филогенетического древа. Данные замечания свидетельствуют о необходимости совершенствования автором навыков интерпретации результатов молекулярно-генетического анализа для успешного проведения исследований в будущем.

Однако данные замечания не касаются основного вывода из результатов молекулярно-генетического анализа: подразделение группы на 8 кластеров на основе морфологии постгонитов полностью поддерживается данными изменчивости митохондриального гена COX1.

3) Недостаточно внимания уделено ситуации с внутривидовой изменчивостью по гену COX1 у вида *M.saltatrix*. В ходе работы у данного вида была обнаружена вторая (балтийская) мт-гаплогруппа. Показано, что уровень дивергенции между гаплогруппами высок для внутривидового и соответствует таковому между кластерами видов. Кроме того, автор указывает на некоторые морфологические особенности, характерные для представителей данной гаплогруппы. Учитывая их симпатрическое сосуществование, коррелированная изменчивость молекулярных маркеров и не сцепленных с ними морфологических признаков

указывает на наличие внутрипопуляционной подразделенности. Таким образом, таксономический статус данной гаплогруппы требует уточнения.

4) На стр. 19 есть неточность. Автор пишет, что «ген COI кодирует белок, образующий IV терминальный комплекс, катализирующий окисление кислорода». Правильно: восстановление кислорода. Кроме того, белок не образует комплекс, а входит в состав комплекса.

5) Есть некоторое количество формулировок, которые могли бы быть изменены для упрощения восприятия. Так, например, на стр. 9-10 “При этом, несмотря на то, что исследовались близкие регионы, из 18 подмосковных видов в Ленинградской области не было найдено 5 видов, 4 из которых в Московской области были найдены только на юге, что связано с феноменом «окской» флоры (Нарчук, 1991)”. Следовало бы написать так: “из пяти подмосковных видов, которые не были найдены в Ленинградской области, четыре встречаются только на юге...”.

6) На стр. 56: “Выделенная нами по морфологии переднего отростка постгонита группа *Pluriseta*, которую составляли виды *M. pluriseta*, *M. nigriseta* и *M. cognata*, разделяется на две соседние группы, в состав первой входят виды *M. nigriventris* и *M. pluriseta*, во вторую - вид *M. nigriseta*.” Непонятно, откуда взялся вид *M. nigriventris* и куда делся вид *M. cognata*.

Перечисленные замечания, однако, не снижают общей ценности работы

В целом, диссертационная работа Яцук А.А. представляет собой законченный научно-исследовательский труд. Она выполнена на высоком методическом уровне. Результаты представлены в шести выводах, которые полностью соответствуют поставленным задачам.

Содержание работы отражено в 4 публикациях, три из которых в ведущих рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ. Результаты исследований были доложены на 4х российских и международных конференциях.

Текст автореферата в достаточной мере отражает содержание диссертационной работы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационная работа Яцук А.А. «Морфологическое и генетическое разнообразие злаковых мух рода *Meromyza* Meigen, 1830 (Diptera, Chloropidae)», выполненная под руководством д.б.н., Сафонкина Андрея Феликсовича, является завершённой научно-квалификационной работой, выполненной на высоком научно-методологическом уровне с использованием современных методов исследования. Результаты, приведённые в работе, представляют высокую значимость для решения проблем современной систематики и

эволюционной биологии. Диссертационная работа по содержанию, актуальности, новизне, научному и методическому уровню, практической ценности полученных результатов полностью соответствует требованиям «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденных постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, соответствует заявленной специальности - 03.02.05 "Энтомология", а ее автор, Яцук Александра Алексеевна заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.05 "Энтомология".

Отзыв на диссертационную работу Яцук А.А. заслушан, обсужден, одобрен и утвержден на объединенном семинаре лабораторий: молекулярно-генетических процессов развития, эволюционной генетики развития, эволюции генома и механизмов видообразования 19 февраля 2020 г. (Протокол № 3 от 19.02.2020 г.).

С.н.с. Лаборатории эволюционной генетики развития Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН (ИБР РАН)

Кандидат биологических наук,
Сорокина Светлана Юрьевна

 / Сорокина С.Ю./

Сведения о составителе отзыва:

Сорокина Светлана Юрьевна, кандидат биологических наук по специальностям 03.02.07 – “генетика” и 03.01.07 – “молекулярная генетика”, старший научный сотрудник Лаборатории эволюционной генетики развития Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН (ИБР РАН).

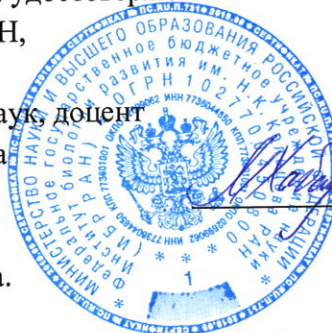
Адрес: 119334, г. Москва, ул. Вавилова 26

Телефон: 8(499)135-87-81

Электронная почта: svetlana_ibr@mail.ru

«Подпись Сорокиной С.Ю. удостоверяю»

Ученый секретарь ИБР РАН,
зав. аспирантурой,
кандидат биологических наук, доцент
Хабарова Марина Юрьевна



/ Хабарова М.Ю./

Дата: 28 февраля 2020 года.