

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор Федерального государственного
бюджетного учреждения науки Зоологический
институт Российской академии наук
чл.-корр., д.б.н. Чернецов Н. С.

«19» декабря 2022 г.

ОТЗЫВ

ведущей организации Федерального государственного бюджетного учреждения науки
Зоологического института Российской академии наук

о теоретической и практической значимости диссертационной работы

Осипова Фёдора Алексеевича

«Моделирование экологических ниш партеногенетической скальной ящерицы
Darevskia rostombekowi (Darevsky, 1957) на Кавказе: клональное разнообразие и
пространственная структура популяций»,

представленной к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по
специальностям 1.5.15 – экология, 1.5.7 – генетика

Диссертационная работа Осипова Фёдора Алексеевича посвящена комплексному исследованию партеногенетической кавказской скальной ящерицы *Darevskia rostombekowi* (Darevsky, 1957). Изучение партеновидов рода *Darevskia* Arribas, 1999 представляет значительный теоретический и практический интерес. Облигатный партеногенез у высших позвоночных животных (амниот) был впервые открыт относительно недавно И.С. Даревским именно у этих ящериц семейства Lacertidae. Особая важность комплексных исследований связана с тем, что партеногенез у скальных ящериц возникал неоднократно. К настоящему времени описано семь партеновидов, которые были образованы в результате межвидовой гибридизации (сетчатой эволюции). Такие вопросы, как сосуществование партеновидов с двупольными родительскими видами, механизмы формирования клонального разнообразия и их роль в сетчатой эволюции сделали виды рода *Darevskia* объектами многочисленных экологических и генетических исследований, проводимых, в том числе и международными научными коллективами.

Объект исследования был выбран не случайно – ящерица *Darevskia rostombekowi*, которая включена в Красную книгу Армении со статусом «находящиеся в состоянии, близком к угрожаемому» (в соответствии с критериями МСОП), долгое время считалась

моноклональным видом. В границах ареала было выделено небольшое число популяций и в них не были даны оценки клональному разнообразию. Ящерица уникальна тем, что обитает симпатрически с каждым из родительских двуполых видов, однако механизмы их сосуществования слабо изучены, не выявлены ведущие экологические факторы, определяющие и разделяющие границы ареала однополого и двуполых родительских видов. Также отсутствует информация о возможных новых зонах их симпатрии, о сходстве, различии и сдвиге экологических ниш.

В виду этого, актуальность и новизна полученных результатов исследования не вызывают сомнений. Впервые на основе метода молекулярного генотипирования были даны оценки клонального разнообразия *D. rostombekowi*, а также выявлены SNP маркеры, которые позволили проследить наследование аллелей партеновидом от его двуполых родительских видов. Важно отметить, что для *D. rostombekowi*, *D. raddei raddei* и *D. portschinskii* впервые выявлены ведущие абиотические факторы, определяющие границы распространения, созданы карты пригодных местообитаний и даны оценки ширины, сдвига и перекрытия экологических ниш партеновида и его двуполых родительских видов.

Целью данного исследования является создание моделей экологических ниш для анализа влияния факторов окружающей среды на пространственную структуру популяций и клональное разнообразие партеногенетического вида *Darevskia rostombekowi*. Задачи для достижения данной цели поставлены адекватно и подразумевают проведение как молекулярно-генетических, так и экологических исследований. Методика этих двух направлений исследования находится на высоком уровне. Микросателлитные маркеры успешно применяются для изучения клональных видов, образовавшихся в результате сетчатой эволюции, а методы экологического моделирования, использованные для создания карт и проведения анализа экологических ниш, являются актуальными и эффективными, что подтверждено их широким применением в научных исследованиях различных групп животных.

Фундаментальная значимость данного исследования состоит в углублении понимания процессов сетчатой эволюции, формирования генетического и клонального разнообразия, а также роли влияния экологических факторов на пространственное распространение партеновидов. Следует отметить, что данная работа является логическим продолжением цикла исследований, посвящённых изучению генетической нестабильности в популяциях кавказских скальных ящериц рода *Darevskia*.

Диссертация хорошо апробирована, материалы работы представлены на 20 отечественных и зарубежных конференциях. В том числе в 2019 году Осипов Ф.А. делал доклад по результатам данной работы на Второй международной молодежной конференции

герпетологов России и сопредельных стран «Современная герпетология: проблемы и пути их решения», проведенной на базе Зоологического института РАН. Полученные результаты и методы, использованные в диссертации, изложены в 10 статьях, опубликованных в отечественных и зарубежных журналах.

Диссертация Осипова Ф.А. изложена на 161 странице машинописного текста и построена по традиционному плану. Работа состоит из введения, четырех глав, заключения, выводов, списка используемых сокращений, списка литературы и благодарностей. Рукопись хорошо проиллюстрирована и включает 26 рисунков, а также содержит 14 таблиц.

Во введении соискателем описывается актуальность темы, формулируется цель и ставятся задачи исследования. Раздел написан ёмко. Положения, выносимые на защиту, сформулированы грамотно и раскрываются в тексте диссертации.

Первая глава посвящена обзору литературы. Хочется отметить высокий уровень умения соискателя работать с литературой, что отражается в содержательности этой главы. В обзор включены уже ставшие классическими для данных работ разделы, такие как характеристика однополых позвоночных (1.1) и партеногенез у рептилий (1.2). Следует особенно отметить, что раздел 1.1. включает разносторонний анализ цитогенетических, молекулярно-генетических и эволюционных аспектов клонального размножения, что очень важно для восприятия диссертации на «стыке» научных специальностей. Раздел 1.1.6. касается сформулированной относительно недавно концепции географического партеногенеза, которая включает различные механизмы сосуществования клональных форм с их родительскими двуполыми видами. Раздел 1.2 раскрывает понятие сетчатой эволюции на примере видов рода *Darevskia*. Проведен анализ ранее опубликованных данных по изменчивости и клональному разнообразию партеновидов данного рода. Раздел 1.3 включает в себя анализ современных методов моделирования пространственного распространения и экологических ниш видов. В разделе рассматриваются различные модели и подходы моделирования, указаны преимущества и недостатки тех или иных моделей. Из этого раздела становится понятно, почему соискателем был выбран MaxEnt как основной инструмент для определения предикторных переменных и создания карт потенциального распространения изученных видов. Здесь отмечу, что в отечественных герпетологических работах именно скальные ящерицы стали первым объектом среди пресмыкающихся, на которых была апробирована эта программа. Большое внимание также уделяется методам ординации, как основе для создания моделей экологических ниш. Завершает этот раздел анализ уже имеющихся публикаций по моделированию потенциальных местообитаний рептилий, который включает как зарубежные, так и отечественные источники.

Заключительный раздел 1.4 обзора посвящен объекту исследования – партеногенетической ящерице *Darevskia rostrombekowi*. В нем приведены наглядные цветные иллюстрации, отображающие особенности морфологии ящерицы, характерные биотопы и карта распространения вида, сделанная на основе изученных литературных данных. Кроме того есть данные о кариотипе данной ящерицы и небольшой раздел в котором описан предположительный возраст образования данного вида. В заключение анализа обзора литературы хочется отметить, что Осипов Ф.А. хорошо работает с переводом английских текстов; он переработал и адаптировал иллюстрации, а также корректно указал первоисточники.

Во второй главе традиционно характеризуются материалы и методы, глава разделена на два смысловых блока, первый (2.1) посвящен молекулярно-генетическим методам, второй (2.2) – методике построения моделей пространственного распространения и экологических ниш. Для молекулярно-генетического исследования были использованы образцы ДНК, отобранные у 42 особей *D.rostrombekowi* из четырех популяций, а также образцы родительских двуполовых видов: «материнского» *D. r. raddei* (n = 20) из семи популяций, «отцовского» *D. p. portschinskii* (n=15) и *D. p. nigrita* (n = 12) из двух популяций. Анализ был проведен на основе четырех микросателлитных локусов (Du 215, Du 281, Du 323, Du 47G). Далее приведены точки сбора генетического материала, которые для удобства нанесены на карту (рис. 8). В разделах 2.1.2. – 2.1.6. приведена методика подбора праймеров, проведения ПЦР, секвенирования, генотипирования и анализа нуклеотидных последовательностей. В разделе 2.2. представлена методика построения моделей пространственного распределения и экологических ниш видов с обобщенной схемой основных этапов анализа данных, детальное описание которых представлено в диссертации. В работе особое внимание было уделено описанию одного из важных этапов экологического моделирования – сбору точек находок, включающих 118 точек *D.rostrombekowi*, 296 точек находок «материнского» вида *D. r. raddei* и 259 точек «отцовского» вида *D. portschinskii*. Описаны источники, откуда были взяты точки, примечательно, что многие локалитеты были проверены соискателем в период полевых работ на территории Армении; здесь представлена карта маршрута сбора биологического материала (рисунок 10). В методической части работы по созданию моделей пространственного распространения видов большое внимание уделяется важнейшим этапам выбора предикторных переменных, проверке пространственной автокорреляции и разреживанию точек находок, оценки степени пригодности моделей. Завершает данный раздел методика создания моделей экологических ниш и оценки ширины, сходства, сдвига и перекрытия экологических ниш исследованных видов. Методическая часть работы выполнена на высоком уровне и не вызывает сомнений.

В третьей главе изложены результаты исследования. Глава, также как и методика, разделена на две смысловые части. Раздел 3.1. посвящен результатам молекулярно-генетического анализа. Представлены таблицы структурных вариации аллелей по каждому локусу, описывается предполагаемое наследование аллелей партеновидом и родительских двуполых видов. Результаты генотипирования отображены в таблице 10, где показано, что было установлено 7 клональных линий (генотипов) с разной частотой встречаемости в четырёх популяциях партеновида. На основе вариаций микросателлитных локусов построена схема (рис.13), отображающая взаимосвязь генотипов в популяциях, которая указывает на наличие наиболее встречаемого (мажорного) генотипа G1 от которого могли образоваться остальные (минорные) генотипы. Разделы 3.2. и 3.3. посвящены результатам моделирования пространственного распространения и экологических ниш соответственно. В разделе 3.2. представлены важнейшие предикторные переменные для *D. rostombekowi* и родительских двуполых видов (таблица 12), определяющие границы распространения видов. Установлено, что набор переменных, определяющих пригодные места обитания, прежде всего, включает характеристики термических условий сухой четверти года, диапазон суточной вариации температуры и приток солнечной радиации, которые обеспечивают важный для размножения ящериц уровень прогреваемости грунта. Также для всех трех видов играют роль суммарные осадки в тёплой четверти года и расстояние до дорог. На рисунке 18 показаны карты пригодных местообитаний изученных видов. На основе сравнительного анализа моделей экологических ниш (раздел 3.3.) показано, что центроиды ниш *D. rostombekowi* занимают промежуточное положение по сравнению с родительскими видами вдоль градиентов трех предикторных переменных: годовой суммы осадков, суммарными осадками теплого квартала года и солнечной радиации. «Маргинальные» положения (вне зоны толерантности двуполых видов) занимают центроиды ниш партеновида по средней годовой температуре воздуха и суммарным осадкам в холодный квартал года, что существенно меньше, чем у родительских видов. В разделе 3.3.5. были проанализированы сходства и различия экологических условий двух групп популяций *D. rostombekowi* (1- Гош, Спитак и Дилижан на севере; 2- Цовак на юге Армении). Было установлено, что по ряду предикторов экологические условия обитания этих популяций значимо различаются. В разделе 3.3.6. представлены данные сравнительного анализа использования биотопов партеновидом и родительскими видами. Данные, полученные в разделе 3.4. «Проверка выполнения условий географического партеногенеза для клональных видов рода *Darevskia*» не были напрямую отражены в задачах исследования и кажутся излишними, хотя и важны для понимания механизмов сосуществования клональных видов с их двуполыми родительскими видами. Результаты указывают на то, что ширина

экологических ниш партеногенетических видов *D. armeniaca*, *D. dahli*, *D. rostombekowi*, *D. unisexualis* отличается от ширины ниш их родительских двуполовых видов. Для *D. rostombekowi* полностью выполняется одно из главных условий гипотезы – а именно ширина экологической ниши партеновида меньше чем у его двуполовых родительских видов.

Полученные результаты опубликованы соискателем с соавторами в высокорейтинговых научных журналах, поэтому их достоверность сомнений не вызывает, хотя после прочтения данной главы ощущается переизбыток собранного материала, несмотря на то, что результаты согласуются с задачами исследования.

Четвертая глава посвящена обобщению и обсуждению результатов собственных исследований. В разделе 4.1. указывается, что ящерица *D. rostombekowi*, как и все изученные партеногенетические виды данного рода, мультиклональна, хотя на данный момент количество установленных генотипов меньше, чем у остальных изученных аналогичным методом партеновидов. В разделе 4.2. обсуждаются сценарии формирования клонов в популяциях партеновидов. Соискатель выделяет два сценария возникновения клонов в популяциях рода *Darevskia*. В обоих случаях приводится модель Паркера, которая подразумевает происхождение всех установленных клональных линий от основного широко распространенного (мажорного) клона (G1), но образование клонов может быть связано либо с однократным гибридизационным событием (*D. unisexualis*, *D. rostombekowi*), либо с очень небольшим числом таких событий (*D. armeniaca*, *D. dahli*). Редкие клоны, как это теоретически предполагается, являются мутационными производными от исходных, и в работе показано, что они возникли в результате микросателлитных мутаций. Далее идут обсуждения полученных данных о важнейших экологических переменных, потенциальном ареале *D. rostombekowi* и сравниваются результаты анализа экологических ниш партеновида и родительских видов. В разделе 4.6. проводится комплексное сравнение популяций партеногенетического вида *D. rostombekowi* по генетической структуре клонов, морфологическим признакам особей, термобиологии и ведущим абиотическим факторам среды, эти результаты согласуются с установленными И.С. Даревским морфологическими различиями клонов в разных популяциях. Ранее предполагалось, что эти различия в значительной степени зависят от экологических факторов среды. Это подтвердили данные, полученные в диссертации, а именно были показаны достоверные различия экологических условий, установлены экологические факторы, имеющие наибольшие различия в популяциях и предполагается зависимость скорости микросателлитных мутаций от абиотических факторов. В разделе 4.7. обсуждаются механизмы сосуществования клональных форм и двуполовых родительских видов в рамках концепции географического партеногенеза и насколько основные положения гипотезы выполняются для

партеногенетических видов рода *Darevskia*. Предполагается, что выполнение положений гипотезы географического партеногенеза для *D. rostombekowi* означает более поздний срок возникновения этого партеновида по сравнению с другими клональными формами этого рода. Из этого также следует, что выполнение условий географического партеногенеза, по-видимому, происходит только на начальных стадиях возникновения клональных форм, и нарушение условий этой концепции на последующих стадиях связано с экологической пластичностью партеновидов и расширением набора пригодных местообитаний, которые являются маргинальными для родительских двуполых видов.

В заключении соискатель резюмирует результаты работы, указывая на практическую значимость полученных данных. Завершают диссертационную работу выводы, формулировки которых соответствуют изложенным и обсужденным выше в работе результатам.

В целом диссертация выполнена на высоком уровне, однако к работе есть ряд замечаний, среди которых можно отметить следующее:

1. Несмотря на то, что цель диссертации согласуется с поставленными задачами, в работе получено больше данных, чем предполагается поставленной целью. В работе ощущается переизбыток полученных результатов и, в связи с этим, не все результаты в достаточной мере обсуждены в тексте диссертации, однако, безусловно, представляют интерес для дальнейших исследований соискателя.

2. Во второй задаче исследования указано, что будет проведено выявление сценариев формирования клональных линий *D. rostombekowi*, однако сценарии формирования клонов это сложный эволюционный процесс, а в задаче речь идет об аллельном полиморфизме и наследовании SNP партеновидом от родительских видов.

3. В результатах указано, что в четырех исследованных популяциях партеновида было выявлено от двух до пяти аллельных вариантов в зависимости от локуса, однако не ясно, чем вызван разный уровень полиморфизма одного и того же локуса в разных популяциях.

4. В обсуждении (глава 4) частично повторяются фрагменты из результатов работы, хотя уместнее было бы провести более детальные параллели с уже изученным в этой области материалом.

5. В тексте приведены данные о сравнении партеногенетических и обоеполых скальных ящериц, однако в материалах нет сведений о ряде изученных и описанных в работе видах (к примеру – *D. armeniaca*, *D. valentini*, *D. mixta*).

6. В тексте не всегда можно понять о каком таксоне идет речь – *D. portschinskii portschinskii* или *D. portschinskii nigrita*, как это сделано с *D. r. raddei* и *D. r. nairensis*.

7. Во введении допущена широко распространенная ошибка: указано, что Илья

Сергеевич Даревский обнаружил партеногенез у позвоночных животных. В действительности, речь идет об амниотах (высших позвоночных). Собственно, в обзоре литературы сам диссертант пишет об этом.

Также есть замечания, которые относятся к оформлению рукописи:

1. На карте общего маршрута полевых исследований (рисунок 10) указаны точки «обнаружения» особей и точки «отлова и определения»; не совсем понятно, как обнаружение ящериц в популяциях без определения их видовой принадлежности может фигурировать в исследовании, достаточно было указать на картах только точки, где виды были определены в полевых условиях.

2. Некоторые рисунки (особенно рисунок 11) плохо читаемы даже при большом увеличении, стоило бы их вынести в приложение диссертации.

3. На картах (рисунок 18) указаны точки находок, однако не выделены точки собственных находок и взятых из литературных данных. Также в разделе 3.2. было указано, что для *D. rostombekowi* было использовано 118 записей, *D. r. raddei* 296 и *D. portschinskii* 259, однако на самих картах точек нанесено заметно меньше.

4. В диссертационной работе много раз упоминаются такие термины как «центроид экологических ниш», «экологическая ниша», «генотип», «клональные линии», однако не приведено точное определение каждого этого понятия в контексте данного исследования.

Отмеченные недостатки не снижают общей высокой оценки работы. Она выполнена на современном методическом уровне и представляет законченное исследование. Выводы сформулированы корректно и вытекают из полученных результатов. Автореферат диссертации в полной мере отражает основные результаты диссертационного исследования, иллюстрирован таблицами и рисунками и полностью отвечает требованиям ВАК.

Диссертационная работа «Моделирование экологических ниш партеногенетической скальной ящерицы *Darevskia rostombekowi* (Darevsky, 1957) на Кавказе: клональное разнообразие и пространственная структура популяций» отвечает всем требованиям пп. 9-11, 13, 14 «Положения о присуждении ученых степеней» № 842, утвержденного постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. (с внесенными изменениями постановлением Правительства РФ от 21.04.2016 г. № 335 «О внесении изменений в Положение о присуждении ученых степеней»), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор, Осипов Фёдор Алексеевич, заслуживает присвоения степени кандидата биологических наук по специальностям 1.5.15 – экология, 1.5.7 – генетика.

Кандидат биологических наук (03.02.04 – зоология), старший научный сотрудник лаборатории герпетологии, заведующий отделом аспирантуры Федерального государственного бюджетного учреждения науки Зоологический институт РАН (ЗИН РАН), 199034, Санкт-Петербург, Университетская наб.,1, тел. (812) 328-00-11, e-mail: Igor.Doronin@zin.ru,

Доронин Игорь Владимирович

Подпись Доронина Игоря Владимировича удостоверяю:
начальник отдела кадров ЗИН РАН

Иванова Анна Александровна

Отзыв на диссертацию и автореферат заслушан, обсужден и принят на семинаре лаборатории герпетологии, протокол № 5 от 19 декабря 2022 г, результат голосования: за – 12, против – 0, воздержались – 0.

Председатель семинара лаборатории герпетологии ЗИН РАН, доктор биологических наук (03.00.08 – зоология), заведующая лабораторией герпетологии, профессор

Наталья Борисовна Ананьева