

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу

Осипова Фёдора Алексеевича

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

представленную на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальностям 1.5.15 – экология и 1.5.7 – генетика

Диссертационная работа Ф. А. Осипова посвящена вопросам оценки биоразнообразия, созданию моделей экологических ниш и динамике ареала, исследованию клональной структуры партеногенетического вида ящериц *Darevskia rostombekowi* на Кавказе. Естественным образом, профиль этой комплексной по методологии и содержанию диссертации соответствует двум специальностям: экологии и генетике. Актуальность темы несомненна в фундаментальном плане, поскольку исследование позволит расширить существующие представления об экологии и эволюционной истории партеногенетических позвоночных на примере *D. rostombekowi*. Уникальность исследования базируется на комплексном подходе, включающем изучение сегрегации экологических ниш исследуемого гибридогенного партеновида и его родительских форм и структуры генетического разнообразия этого комплекса ящериц. Распространение и клональная структура объекта исследования крайне слабо изучены, что обуславливает новизну работы, а использование в работе репрезентативного материала и предложенные автором реконструкции эволюционных сценариев возникновения таксонов и внутривидовых линий являются приоритетными.

Диссертационная работа построена по традиционному плану, состоит из Введения, глав 1 - Обзор литературы, 2 – Материалы и методы, 3 – Результаты, 4 – Обсуждение результатов, а также Заключение, Выводов, Списка сокращений и Списка использованной литературы. Общее число страниц диссертации 161, из которых 126 составляет основной текст, остальное – список сокращений, список

литературы из 400 источников (из них 38 на русском языке, остальные на иностранных) и Благодарности. Работа содержит 26 рисунков и 14 таблиц, размещённых в основном тексте.

Во Введении автор подчеркивает актуальность исследования в контексте исследований сетчатой эволюции однополого размножения, которая не вызывает сомнений, оценивает степень разработанности темы. Далее автор достаточно чётко формулирует и обосновывает поставленные цель и задачи, описывает научную новизну работы, её теоретическую и научно-практическую значимость, методы исследования. Приводятся положения, выносимые на защиту. Автор декларирует степень своего личного участия в различных аспектах работы, которую следует оценить как высокую. Степень достоверности результатов оценивается также как высокая, с чем можно согласиться. Перечислены конференции, где представлены результаты работы, апробация проводилась на видных отечественных и международным научных форумах. Приводится статистика опубликованных работ по теме диссертации.

Глава 1 – Обзор литературных источников содержит четыре раздела. В первом из них (1.1.) приводятся актуальные сведения об однополых видах позвоночных животных. Дана характеристика однополых позвоночных, начиная с истории открытия первой гиногенетической карпозубой рыбы. Перечислены основные модели репродукции однополых животных: гиногенез, гибридогенез, клептогенез, гермафродитизм и партеногенез. Приводятся факты, свидетельствующие об объединяющих характеристиках популяций однополых позвоночных: гибридное происхождение, генетическая «идентичность», полиплоидность, представленность самками. Дан сравнительный анализ полового и однополого размножения. Второй раздел главы (1.2) обобщает сведения о партеногенезе у рептилий, его происхождению и эволюции. Раздел 1.3 посвящён рассмотрению современных методов моделирования экологических ниш. Завершает литобзор раздел 1.4, посвящённый объекту исследования – партеногенетической ящерице *Darewskia rostombekovi*, её

морфологическим особенностям, известным из литературы цитогенетическим и молекулярно-генетическим характеристикам, ареалу и типичным экотопам.

В целом нужно отметить, что обзор литературы не только содержит практически все необходимые источники и их аналитический обзор, он хорошо структурирован, логично построен. Литобзор по объёму представляет собой самую большую главу в диссертации, однако едва ли это выглядит излишним, поскольку он посвящён освещению сложных вопросов, относящихся к различным аспектам диссертационной работы. Это позволяет проанализировать достижения мировой науки в предметной области работы и пробелы, которые призвано заполнить данное исследование, и в целом автор успешно справляется с этой задачей.

Глава 2 посвящена описанию использованного Материала и Методов исследований. Число исследованных молекулярно-генетическими методами образцов невелико (99 образцов трёх видов р. *Darewskia*), но в целом достаточно для решения поставленных задач. Методы выделения и секвенирования ДНК описаны (2.2) достаточно подробно для их воспроизведения. Что касается молекулярных методов, они заключаются в анализе изменчивости микросателлитных локусов, но не просто в виде традиционного фрагментного анализа, а включая клонирование и секвенирование аллельных вариантов и расшифровку структуры локусов. При этом анализировалось не только число повторов олигонуклеотидных мотивов, но и точечные замены (SNP) во фланкирующих участках SSR-локусов. Этот подход следует признать удачным и отвечающим цели и основным задачам работы. Описанные далее методы моделирования экологических ниш (2.2) также являются в работе основными, позволившими изучить закономерности и динамику распространения вида на Кавказе.

В Главе 3 приведены результаты собственных исследований. Раздел 3.1 посвящён структурной организации микросателлитных локусов у изученных видов ящериц, в фокусе были генотипическое разнообразие и происхождение

клональных линий *D. rostombekowi*. Анализ клонального разнообразия был проведён с помощью установления генотипов по 4 микросателлитным локусам и анализа наследования аллелей. Поскольку все особи *D. rostombekowi* были гетерозиготны по аллелям, характерным для *D. r. raddei* и *D. portschinskii*, удалось установить, что *D. rostombekowi* является партеновидом, представляющим гибрид между этими родительскими формами (впрочем, эта схема предполагалась и ранее). В пределах партеновида были обнаружены различные линии, различающиеся не только структурой микросателлитного кластера (а он содержал несовершенные повторы, то есть более одного мотива в пределах локуса). Подтверждён факт имевшего место единичного события гибридизации (это предполагали и ранее проведённые исследования), выявленные же в пределах партеновида линии образовались сравнительно недавно.

Для реконструкции сценариев происхождения клональных линий были привлечены сравнительные данные моделирования экологических ниш партеновида и родительских таксонов (раздел 3.2). Определены важнейшие предикторные переменные, определяющие распространение этих форм. Визуализация пространственных данных и прогнозов была проведена в виде 10 реализаций моделей распространения. Рассчитаны ширина, сходство, перекрывание и сдвиг экологических ниш. Построены карты пригодных для существования вида местообитаний, которые имеют и несомненное практическое значение, позволяя проводить поиск особей на местности в местах наибольшей вероятности успеха.

Глава 4 посвящена обсуждению полученных результатов. В частности, отмечено, что анализ клонального разнообразия и достоверные различия экологических условий обитания в северной группе популяций (Гош, Папанино, Спитак) и южной (Цовак) согласуются с данными по ранее описанными морфологическими (г.о. размерными) термобиологии этого вида.

Несмотря на общий высокий научный уровень работы, можно сделать некоторые замечания, не имеющие, впрочем, принципиального характера.

С.12 Абз.3. «Если в геноме партеногенетических особей происходят какие-либо изменения, то они случайны и, как предполагается, отражают процессы мутации или рекомбинации генов» – Следует ли из этого, что в геноме непартеногенетических видов изменения в геноме неслучайны и отражают не мутации и рекомбинацию, а что-то иное?

С.17. Абз.2 – на мой взгляд, следовало бы уделить больше внимания механизмам образования гомозиготных клонов из гетерозиготных гермафродитов, из описания они не очевидны («В течение одного поколения у этого вида имеет место переход рецессивных мутаций в гомозиготное состояние»).

Там же – «*Rivulus marmoratus* семейства Cyprinodontidae» – Может быть, стоило написать хотя бы, что это рыба? Сейчас этот вид называется *Kryptolebias marmoratus*, а семейство выделено отдельное – Rivulidae отр. Карпозубообразных.

С. 77. Оценки генотипического разнообразия даны без стандартных ошибок, в то же время низкие численности выборок говорят об их низкой надёжности. То же самое можно сказать и о частотах генотипов в большинстве выборок (в меньшей степени в Папанино).

На мой взгляд, установленный факт мультиклональности *D. rostombekowi*, хотя и дополняет ранее полученные данные аллозимного анализа, учитывая подтверждение единовременности самой гибридизации, дополняют их главным образом в том смысле, что в очередной раз подкрепляют факт высокой мутабельности самих маркеров – микросателлитов, про эволюционную биологию и филогенетику ящериц мы узнали не так много нового. Множественность клонов – да, впервые для вида установленный факт, но автор сам признаёт, что эти мутации недавнего происхождения и едва ли маркируют серьёзные изменения в геноме.

С. 81 Подпись к рис. 13 - Вообще при представлении множественных замен, если их неудобно обозначать конечным числом засечек на ветви, обычно делают разрыв и обозначают их число цифрами, а не двумя засечками между нодами сети (G4-G3).

ПУНКТУАЦИЯ:

нет запятых:

С.5 Стр.17 – перед «каждый год»

С.7 Стр.6 – перед «охватывающих»; С.8 Стр 6 снизу – перед «для»

С.14 Стр. посл. «мужского) так и разнополыми» – перед «так»

С.15 Стр.2 – У некоторых видов насекомых, в частности, паразитических ос и клещей такой вид» → перед «такой».

Лишняя запятая: С.11 Стр. 9 с конца - «самцов, представлено».

Лишняя точка: С. 18 Стр.7 – после «особи».

ПО ТЕРМИНОЛОГИИ И СТИЛЮ:

С.5 Абз.1 «...их существования с двуполыми видами». Очевидно, имеется в виду «их СОсуществования».

Там же: «не в результате дивергенции, а в результате конвергенции разных филогенетических линий при гибридизации между видами». Дело в том, что конвергенция не антоним дивергенции. Это не физическое или генетическое слияние двух сущностей (видов, линий и т. п.). Конвергенция как феномен морфологического подобия возникает вследствие отбора и адаптации к сходным экологическим нишам, а вовсе не как результат гибридизации.

С. 6. Стр.4 – «природу»... полиморфизма. В данном случае смысл этого слова размыт, что понимается под «природой»? Это же относится к началу раздела Научная новизна.

С. 8 – «амплификантов» -> очевидно, имеются в виду амплификаты.

С.11. Стр.6 – «в северной части Мехико» – очевидно, что не Мехико – столицы Мексики, а просто → Мексики, т.е. страны.

С.11. Стр.13 – «игуан триплоидный» → игуана – слово женского рода. Даже если она триплоидная.

С.11. Стр.14 – «партеногенетическая ящерица – *Leiolepis ngovantrii*...» – эта ящерица имеет русское название - Агама-бабочка Нго Ван Три.

С.11. Стр.21 – «самамадр рода *Ambystoma*» → очевидно, саламандр. Но другое дело, что амбистомы не совсем саламандры, хотя внешне и похожи (но точно не самамадры). Это отдельное семейство *Ambystomatidae*, и их лучше по-русски называть амбистомами. То же на С.13 Абз. посл. и С.17 5 раз.

С.14 Абз.3. «... – обычно при этом потомковые особи» → есть ощущение, что в русском языке прилагательное «потомковый», если и существует, не относится к научной лексике.

С.16 Стр.13 – «Этот питон произвёл семь эмбрионов при отсутствии пяти лет половых контактов» – фраза неуклюжая, хотя смысл угадать можно.

С.16 Стр.15 – «все обнаруженные у них генетические маркеры» – лучше писать «варианты», «аллели» и т.д. Маркер всё же в узком смысле это не диагностический аллель, а сам локус, ген, фрагмент, участок ДНК и т.п.

С. 19. «Сцепление уменьшает эффективный размер популяции связанных генов» – сцепление не может напрямую уменьшать размер популяции, тем более генов – также неуклюжая фраза.

С. 32 – «общегеномное» -> полногеномное?

С. 34 – «Дублирование генов» - дубликация?

С.48 – «ковариат (переменных)» -> в скобках обычно синоним, но ковариатами обычно называют не все переменные. В регрессионном анализе это независимые переменные, в дисперсионном анализе смысл несколько другой и т.д.

ОПЕЧАТКИ И НЕСОГЛАСОВАННОСТЬ ПРЕДЛОЖЕНИЙ (не исчерпывающий список, ниже просто примеры из значительно большего числа):

С.5 Стр.20 «гистосовместивоВсти...» – гистосовместимости

С.11 Стр.19 – «некотрых видов» -> некоторых.

С.13 Подпись к рис. 1 – «однополового» -> очевидно, однополого.

С.14 Абз.2 «Триплоидные формы этой группы рыб используют гиногенез» -> используют.

С. 14 Абз.3 «без непосредственного оплодотворения» -> непосредственного.

С. 14 Абз.3 «тип размножения» -> размножения.

С.15 Стр.9 с конца – «генетическую идентичность» -> генетическую.

С.17 Абз.2 – «гермафродит» -> гермафродит.

С.17 Стр. 5 с конца – «причиы» -> причины.

С.17 Стр. 2 с конца – «их обнаружено не было» -> обнаружено.

С.19 Подпись к Рис. 2: «приемущества», «КраткАсрочный» – дважды, «МюЛЕРРа», «прЕИодах».

С.20 Стр. посл. – «Проверка выполнения гипотезА» -> гипотезЫ.

С.39 – *Poecillopsis* -> *Poeciliopsis*

С.52 Подпись к рис. 5. «Центрально-височный» что? Очевидно, пропущено «щиток»?

С.117 Стр.19 – «термобиологии» -> термобологии.

С.122 – «двуполго» -> двуполого

С.123 – «прведенных» -> приведённых.

С.124 Посл. абз. – 4 опечатки.

ЦИТИРОВАНИЕ:

С.20 Стр. 14-15. «Согласно гипотезе Красной Королевы (Red queen) (Bell, 1982)» - почему при первом упоминании этой гипотезы ссылка не на первоисточник Ли ван Валена (Van Valen, 1973)?

Список литературы оформлен не совсем аккуратно. Нет единообразия в приведении полностью и в сокращениях названий журналов. То же относится к капитализации названий русскоязычных журналов (иногда все слова почему-то начинаются с заглавных букв). В ряде случаев нет пробелов между словами. Встречаются и иные опечатки. Не выделены курсивом латинские имена видов.

Учитывая факт, что вышеперечисленными мелкими огрехами их список в диссертации не исчерпывается (приводить этот полный список в данном отзыве считаю невозможным и непрактичным), в целом можно заключить, что число допущенных опечаток и ошибок в орфографии и пунктуации близко к верхнему допустимому пределу для замечаний редакционного характера и относящимся к оформлению. Это тем более удивительно, что современные средства проверки правописания, встроенные в текстовые редакторы, позволяют проводить подобную проверку за считанные минуты. Почему автор не воспользовался ими (или альтернативно – помощью коллег, или хотя бы тщательно и многократно вычитал сам свой текст), мне лично остаётся непонятным.

Высказанные замечания, тем не менее, не имеют принципиального характера и не влияют на общую высокую оценку работы.

Работа хорошо структурирована, изложена лаконично, что позволило описать полученные результаты и тщательно обсудить их. Научный стиль большей части текста диссертации, несмотря на недочёты, заслуживает в целом высокой оценки. Оформлена работа достаточно тщательно, рисунки и таблицы наглядны и информативны.

Рассматриваемая диссертационная работа представляет собой существенный вклад в **решение ряда фундаментальных проблем** экологии, эволюционной биологии и популяционной генетики. При этом **практическая значимость** работы также несомненна. Материалы диссертации могут быть использованы при инвентаризации биоразнообразия, организации изучения и охраны популяций редких и охраняемых рептилий. Результаты работы, несомненно, найдут применение при подготовке и повышении квалификации студентов, аспирантов и специалистов в области биологии и биоинформатики в системе Минобрнауки.

В целом, нужно отметить, что автором проделан большой объем исследовательской работы, выборки и их репрезентативность достаточны для достижения заявленной цели. Применение избранных методов обоснованно, все выводы основаны на анализе данных и их обсуждении, что не позволяет сомневаться в достоверности полученных автором результатов. Содержание работы достаточно полно отражено в опубликованных статьях и автореферате. По теме диссертации автором опубликовано 12 печатных работ в отечественных и зарубежных изданиях, в том числе 1 монография в соавторстве, 10 работ в рецензируемых журналах из списка, рекомендованного ВАК: «Молекулярная генетика, микробиология и вирусология», «Известия Российской академии наук. Серия биологическая», «Российский журнал биологических инвазий, в т.ч. с достаточно высоким ИФ – PlosOne (Q1), Check List (Q3), Biodiversity Data Journal (Q2), Molecular Reproduction and Development (Q3), «Генетика»/«Russian Journal of Genetics» (Q4), специализированном журнале Salamandra (Q2), в том числе реферируемых Web of Science и Scopus. Опубликовано также 20 тезисов конференций. Результаты широко представлены и апробированы на авторитетных научных конференциях и школах, в том числе с международным участием на территории РФ и международных, проходивших за рубежом (Лимассол, Кипр и Тель-Авив, Израиль).

Таким образом, представленная Фёдором Алексеевичем Осиповым диссертационная работа является завершённым фундаментальным оригинальным научным исследованием, **отвечает** всем требованиям, предъявляемым ВАК к кандидатским диссертациям, а также критериям, изложенным в пп. 9-11, 13-14 утвержденного Правительством РФ Постановления №842 от 24 сентября 2013 г. «О порядке присуждения ученых степеней», а ее автор Осипов Ф.А. **заслуживает** присуждения учёной степени кандидата биологических наук по специальностям 1.5.15 - экология и 1.5.7 – генетика.

Главный научный сотрудник, заведующий отделом популяционной генетики, заведующий лабораторией популяционной генетики Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, доктор биологических наук,
119991, Москва, ГСП-1, ул. Губкина, 3, тел. +7(499)135-5067, +7(499)135-6213
Email: dmitri_p@inbox.ru, dmitri.p17@gmail.com, Вебсайт <http://www.vigg.ru/>

27 декабря 2022 г.

Политов Дмитрий Владиславович

Подпись Д.В. Политова заверяю:

Учёный секретарь Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН,
доктор биологических наук,

Горячева Ирина Игоревна

27 декабря 2022 г.