

ОТЗЫВ

ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

на диссертацию Шеховцова Сергея Викторовича «Генетическая изменчивость дождевых червей России и ее отражение в морфологии, филогении и филогеографии», представленной на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальностям 1.5.12. – «зоология», 1.5.7. – «генетика».

Молекулярная филогенетика и филогеография – относительно молодые области науки. Исследования с применением молекулярно-генетических маркеров зачастую позволяют под иным углом зрения взглянуть на эволюцию тех или иных таксонов. Диссертация С.В. Шеховцова посвящена изучению группы почвенных животных – дождевых червей (*Megadrili*) при помощи различных молекулярно-генетических методик. Для дождевых червей характерно наличие значительного числа дивергентных филогенетических линий, число которых превышает количество принятых номинальных таксонов видового ранга. Следует отметить, что С.В. Шеховцов является одним из пионеров молекулярно-генетических исследований дождевых червей на территории нашей страны.

Диссертация содержит следующие разделы: «Обзор литературы», «Методы исследования», «Комплекс *Eisenia nordenskioldi*», «Эндемики регионов России», «Перегринные виды», «Молекулярные основы холодоустойчивости дождевых червей», «Выводы», а также список цитированной литературы. Текст занимает 360 страниц, включая список из 617 цитируемых работ.

Обзор литературы (40 страниц) написан с привлечением всей имеющейся современной литературы. В нем рассмотрено таксономическое разнообразие дождевых червей России, морфологические основы систематики этой группы, сформулировано резюме о современном состоянии генетических исследований, применения различных молекулярно-генетических методик. Значительный раздел обзора посвящен анализу опубликованных данных по каждому виду, рассматриваемому в диссертации.

В разделе «Методы исследования» (18 страниц) описана схема экспериментальной части, положенной в основу диссертации и ее методы: работу с нуклеиновыми кислотами, полимеразную цепную реакцию, сборку геномов и транскриптомов, создание наборов данных для филогенетического анализа, построение филогенетических деревьев, прочие

методы анализа генетических данных, краткие методики анализа холодостойкости и анализа метаболитов.

Собственные результаты автора разделены на несколько глав. Около половины работы посвящены одному комплексу видов, *Eisenia nordenskioldi*, и как продемонстрировал автор, фокус на нем оправдан. Этот модельный во многих отношениях вид занимает центральное положение среди дождевых червей Азиатской России. Автор использовал ряд молекулярно-генетических методик, характеризующих таксон с разных углов зрения. Показано, что внутри вида существует множество филогенетических линий, отличающихся по последовательностям ядерного генома, по его размеру, устойчивости к замораживанию, морфологическим признакам. Столь серьезные различия линий позволяют вполне обоснованно считать их разными видами.

В следующей главе обсуждаются два вида с более узкими ареалами: кавказский *Dendrobaena schmidti* и дальневосточный *Drawida ghilarovi*. Показано, что закономерности, выявленные для *E. nordenskioldi*, характерны и для локально распространенных видов.

В главе 4 обсуждены перекрестные (космополитные) виды. Глава беднее по использованным методикам, но зато нельзя не отметить огромный объем материала: для каждого из шести видов собрана обширная коллекция со всей России. У этих видов наблюдаются те же закономерности, что и на оседлых: в каждом из них присутствует несколько филогенетических линий, отличающихся и генетически, и морфологически. Филогеографическая картина для перекрестных видов оказалась обратной той, что была выявлена для оседлых: одни и те же гаплотипы встречаются по всей Евразии, что доказывает недавнее расселение этих видов. В отличие от многих быстро расселившихся видов, у перекрестных дождевых червей не происходит сильного снижения генетического разнообразия.

Глава 5 несколько отступает от основной линии диссертации: в ней речь идет об устойчивости дождевых червей к замораживанию. Работа сделана на основе использования ультраточного метода, основанного на принципе ядерного магнитного резонанса, позволяющего определять десятки различных молекул в метаболоме тестируемых экстрактах. Интерпретация полученных данных – заслуга автора. Было показано, что дождевые черви используют глюкозу как криопротектор. Кроме того, они отвечают на замораживание изменением концентраций многих веществ, и этот ответ видоспецифичен.

Все выводы диссертации хорошо обоснованы. Они интересны не только в генетическом плане, но имеют определенное значение для почвенной биологии. Это обширное исследование выполнено с использованием новейших методик на высоком научном уровне и значительно дополняет наши представления о дождевых червях.

Как и к любому крупному исследованию, к данной работе имеется ряд вопросов и замечаний. Прежде всего, я хотел бы отметить, что автором уделено недостаточное внимание вопросам систематики дождевых червей. Как убедительно показал автор на основании огромного массива генетических последовательностей, многие из принятых в настоящее время таксонов видового ранга представляют собой комплексы криптических видов, которые автор называет линиями. Более того, представленные в работе филогенетические реконструкции указывают на то, что ряд видов являются полифилетическими – например, *Eisenia nordenskioldi* (рисунок 3.1.2). Такие сборные виды требуют таксономической ревизии с привязкой ранее описанных номинальных таксонов к генетическим линиям, обычно на основании сбора и изучения топотипов, т.к. генетический анализ оригинальных типовых серий осложняется высоким уровнем фрагментации ДНК в старых коллекционных образцах. К примеру, одна из линий, скорее всего, может рассматриваться как *Eisenia nordenskioldi* s. str., но в работе этот вопрос не рассматривается.

В работе также не обсуждается вопрос, какие генетические дистанции у дождевых червей можно рассматривать как внутривидовые, а какие могут указывать на межвидовые различия. Скажем, если брать пиявок, то р-дистанции свыше 3-4% по маркеру COI обычно характерны для разных видов, имеющих четкие морфологические и анатомические различия, в то время как дистанции в пределах 1-2% типичны для внутривидовых линий. В свою очередь, дистанции между линиями *Eisenia nordenskioldi*, выделенными автором, составляют 13.6-18.6% по маркеру COI и 2.7-8.1% по ядерному маркеру ITS2 (таблица 3.1.1). У большинства групп животных подобные величины дистанций однозначно указывают на межвидовые различия. Мне представляется, что таким генетическим дистанциям должны соответствовать и серьезные морфолого-анатомические различия, хотя автором такие различия не были выявлены. Возможно, в данном случае было бы целесообразно расширить набор изучаемых признаков.

В целом можно констатировать, что в рамках диссертации была создана масштабная основа для углубленной таксономической ревизии дождевых червей России, которая, надеюсь, будет далее использована автором для решения накопившихся вопросов систематики дождевых червей. Конечно, названия типа *Eisenia n. nordenskioldi* lin. 1 или

Lumbricus rubellus lin. 2 вполне приемлемы с точки зрения филогенетиков, и массово встречаются в современной литературе по самым разным группам животных. Однако, по требованиям зоологической номенклатуры, каждый биологический вид все же должен иметь свое биномиальное название. Соответственно, филогении с разбивкой на клады и сопутствующие морфолого-анатомические данные должны служить первичной основой для последующей углубленной работы по созданию обновленной системы той или иной группы, в данном случае – дождевых червей.

Высказанные мной замечания ни в коем случае не снижают общего положительного впечатления от работы и не влияют на выводы и полученные результаты. Это скорее некие советы и пожелания автору на будущее. Хочу также отметить, что по теме диссертации опубликована 41 работа, в том числе 18 статей в рецензируемых зарубежных журналах с высоким квартилем и 10 статей в центральных отечественных журналах. Материалы диссертации апробированы на десяти конференциях, включая международные.

В целом диссертационная работа «Генетическая изменчивость дождевых червей России и ее отражение в морфологии, филогении и филогеографии» представляет собой законченное исследование, соответствующее пп. 9-14 постановлению Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842 "О порядке присуждения ученых степеней", а ее автор Шеховцов Сергей Викторович заслуживает присуждения искомой степени доктора биологических наук по специальностям 1.5.12. – «зоология» и 1.5.7. – «генетика».

член-корреспондент РАН
доктор биологических наук
директор ФГБУН «Федеральный
исследовательский центр комплексного
изучения Арктики им. академика Н.П.
Лаверова Уральского отделения Российской
академии наук»
163069, Россия, г. Архангельск, проспект
Никольский, 20
Тел.: +79212445322,
электронная почта: inepras@yandex.ru
Шифр специальности – 03.00.16 “Экология”

Болотов
Иван Николаевич

24 09 20 22 г.