

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу
Комаровой Валерии Александровны на тему «Микроэволюционные процессы на
выраженном высотном градиенте в горных тропиках на примере крапчатых
жестковолосых мышей *Lophuromys flavopunctatus* s. l.», представленную на соискание
учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.12–Зоология

Эфиопия, представляющая собой северную и самую большую часть Восточного Африканского центра биоразнообразия, считается важной зоной разнообразия и эндемизма млекопитающих в Африке. Климатические особенности и сложный горный рельеф, фрагментированный Рифтовой долиной и каньонами крупных речных долин, территории Эфиопского нагорья дают уникальные возможности для исследования микроэволюционных процессов в условиях горных тропиков. Механизмы этих процессов на сегодняшний день недостаточно изучены. Поскольку Великая рифтовая долина и глубокие речные каньоны представляют непреодолимые географические барьеры, ограничивающие поток генов между популяциями высокогорных видов, ожидается, что современное видовое разнообразие Эфиопии возникло в результате аллопатрического видообразования. Однако разнообразие создаваемых климатом экологических ниш и возможность узкой специализации отдельных видов создают предпосылки для экологической диверсификации образующихся форм вдоль высотного градиента в пределах градиентной модели видообразования. В то же время, периодические колебания климата в плейстоцене вызывали сдвиги границ высотных поясов растительности в горных экосистемах и оказывали влияние на расселение, темпы видообразования, а также на пространственную структуру генетического разнообразия в различных группах организмов горной Африки. Такие изменения областей распространения видов способствовало вторичным контактам между близкими таксонами и прохождению древней межвидовой гибридизации.

По мнению соискателя, и с этим трудно не согласиться, хорошей моделью, для исследования различных микроэволюционных процессов в выраженном высотном градиенте природных условий являются виды крапчатых жестковолосых мышей *Lophuromys flavopunctatus* sensu lato (s.l.) Эфиопского нагорья, имеющие высокое морфологическое разнообразие и представляющие собой уникальный пример множественной ретикулярной эволюции. Особенности экологии и распространения большинства видов этого комплекса характеризуются выраженной адаптацией к узкому диапазону условий среды в условиях локальной симпатрии. В этой связи описание сложного взаимодействия дивергентных и ретикулярных процессов требует использования широкого набора ядерных генов. Поскольку подавляющее большинство современных исследований этих процессов проведено на ограниченном наборе генетических маркеров, весьма востребованным является применение методов высокопроизводительного секвенирования, которые позволяют получить обширный набор данных по всему ядерному геному.

Все сказанное выше, безусловно, определяет актуальность диссертационного исследования В.А. Комаровой, новизну ожидаемых результатов, а также обосновывает выбор объекта исследований. В соответствии с актуальностью темы автором были четко сформулирована цель исследования и поставлены соответствующие ей задачи.

В основу диссертационной работы В.А. Комаровой положены результаты долговременных и кропотливых исследований, в которых автор принимал личное участие на всех этапах работ – от постановки проблемы, поиска методов ее решения, экспериментальных исследований до построения теоретических выкладок и глубокого анализа эмпирических данных.

Научная новизна работы В.А. Комаровой подтверждается впервые полученной с использованием мультилокусного анализа и ddRAD-данных окончательно разрешенной филогенией эфиопских видов комплекса *Lophuromys flavopunctatus* s.l., а также выявленными филогенетическими взаимоотношениями между ними. Впервые получены последовательности полных митохондриальных геномов для эфиопских *Lophuromys*, на основе которых проведен детальный анализ их филогенетической структуры. Была подтверждена гипотеза о множественной ретикуляции, включающей предполагаемые события как современной, так и древней интрогрессии мтДНК, среди некоторых видов эфиопских *Lophuromys*, населяющих крайне ограниченные территории.

Теоретическая и практическая значимость исследования заключается в предоставлении большого фактического материала, способствующего лучшему пониманию механизмов формирования и поддержания современного биологического разнообразия, большая часть которого сконцентрирована в горных тропиках. Применение различных методов при исследовании филогенетических взаимоотношений видов крапчатых жестковолосых мышей *Lophuromys flavopunctatus* s.l. позволяет апробировать комплексный подход и при изучении других групп мелких млекопитающих, населяющих горные тропики. В целом, полученные в исследовании результаты вносят вклад в эволюционную биологию. Кроме этого, проведенное соискателем исследование имеет потенциальное природоохранное значение. Несмотря на то, что часть ареалов исследованных видов расположена на территориях Национальных Парков, их местообитания находятся под угрозой исчезновения как за пределами, так и внутри охраняемых территорий из-за чрезмерного выпаса скота, пожаров и вырубке лесов. Кроме того, некоторые из исследованных в диссертации видов являются малочисленными эндемиками (*L. menageshae*, *L. chercherensis*, *L. pseudosikapusi*) или занимают крайне ограниченные участки афро-альпийских местообитаний (*L. melanonyx*), и этой связи подлежат особой охране. Полученные соискателем результаты вносят вклад в понимание общих процессов адаптации млекопитающих к условиям высокогорья и могут иметь определенное медицинское значение. Материалы исследования могут быть использованы при подготовке лекций по зоологии, генетике и эволюционной биологии.

Проведенные исследования и анализ их результатов позволили В.А. Комаровой сформулировать, не вызывающие замечаний, основные защищаемые положения.

Диссертация состоит из введения, 5 глав основной части, выводов, списка работ, опубликованных по теме диссертации и приложения. Текст диссертации изложен на 234 страницах. В списке цитируемой литературы представлены 434 источника. Работа

иллюстрирована 6 таблицами и 16 рисунками в основном тексте и 4 рисунками и 4 таблицами в приложении.

Кратко остановимся на анализе содержания разделов и глав диссертационного исследования.

Во **«Введении»** автор обосновывает актуальность темы своего исследования, формулирует цель и задачи исследования, защищаемые положения, выделяет научную новизну, теоретическую и практическую значимость полученных результатов. В целом этот раздел диссертации изложен достаточно подробно (с. 7–13) и дает полное представление о диссертационной работе.

Первая глава диссертационного исследования В.А. Комаровой «Обзор литературы» (с. 14–69) посвящена анализу теоретических представлений о сетчатой эволюции, горизонтальном переносе генов в эволюции эукариот и значении ретикулярных процессов (межвидовой гибридизации) в эволюции млекопитающих, а также обсуждению значения горных тропических территорий для исследований микроэволюционных процессов. Вполне логичным видется представленный в этой главе детальный анализ результатов исследований интрогрессивной гибридизации (п. 1.1.2). При этом основное внимание в этой части обзора автор уделяет эволюционным последствиям интрогрессии, связанным с повышением жизнеспособности организмов в экстремальных условиях обитания и формированию новых таксономических и экологических форм. Представленные в обзоре рассуждения автора об Эфиопском нагорье, как о полигоне для микроэволюционных исследований (п. 1.2.2), и сведения о распространении, систематическом положении, морфологии, адаптивной приспособленности и экологии крапчатых жестковолосых мышей надвидового комплекса *Lophuromys flavopunctatus* s.l. (п. 1.3.) полностью вводят читателя в тематику проведенного исследования. В целом, собранные и представленные автором сведения являются хорошим фундаментом для решения задач, поставленных в диссертационной работе. В качестве замечания отмечу, на мой взгляд, излишне подробное обсуждение общих вопросов сетчатой эволюции и горизонтального переноса генов у прокариот, в какой степени отвлекающих внимание читателя от проблематики исследования.

Во **второй главе** диссертационного исследования «Материал и методы исследования» (с. 70–102) В.А. Комарова приводит подробное описание материала и методов полевых и лабораторных исследований. В первой части главы (п. 2.1.) соискатель подробно описывает процедуру сбора материала в полевых условиях с указанием методов отлова, процедуры сбора биоматериала, а также точек локалитетов. Второй раздел главы (п. 2.2.) посвящен подробному изложению методик выделения ДНК, амплификации и секвенирования митохондриальных и ядерных генов по Сэнгеру и описанию выборочного материала. Третий раздел главы (п. 2.3.) содержит описание процедур подготовки библиотек случайных фрагментов методом ddRAD, полногеномного секвенирования и получения SNPs данных. В четвертом и пятом разделах главы (п. 2.4. и 2.5.) автор поясняет читателю алгоритм процедуры проведения филогенетического анализа последовательностей гена *Cyt b* и анализа ядерных маркеров. Завершает соискатель вторую главу описанием процедуры получения и анализа полных митохондриальных геномов (п. 2.6.). Здесь же автор приводит пошаговую информацию о методах

филогенетического анализа. В целом, эта глава почти безупречна и по объему информации, и по форме ее построения и дает полное представление о материале и методах, использованных в диссертационном исследовании. Однако она перегружена подробными описаниями, уже ставших стандартными, молекулярно-генетических процедур (например, описаниями циклов ПЦР-реакций, представленных в табличном варианте).

В **третьей главе** диссертации В.А. Комаровой (с. 104–122) представлены результаты анализа данных молекулярно-генетических исследований. Первая часть главы (п. 3.1.) посвящена описанию изменчивости митохондриального генома крапчатых жестковолосых мышей, а именно, филогенетическому анализу последовательностей гена *Cyt b* (п. 3.1.1.), описанию географического распространения основных митохондриальных линий и гаплотипического разнообразия (п. 3.1.2.), а также анализу полных митохондриальных геномов (п. 3.1.3). Во второй части главы (п. 3.2.) автор приводит филогенетическую структуру эфиопских *Lophuromys*, которая была получена на основе разграничения видов по ядерным маркерам. Завершает соискатель главу (п. 3.3.) описанием видового дерева с датированием узлов дивергенции, а также перечислением фактов, свидетельствующих об интрогрессии ядерного генома в процессе микроэволюции эфиопских крапчатых жестковолосых мышей (п. 3.4). В.А. Комарова по результатам филогенетического анализа конкатенированных SNPs данных, полученных методом ddRadseq, достоверно выявила четкую филогенетическую структуру с 9 основными филогенетическими линиями, соответствующими 9 эфиопским видам *Lophuromys*, разграниченных ранее методами краниальной морфометрии и цитогенетического анализа. Полученные данные датирования филогенетической дивергенции позволили автору предположить, что надвидовой комплекс *L. flavopunctatus* s.l. представляет собой достаточно молодую группу, диверсификация которой началась в среднем плейстоцене, и с этим трудно не согласится. В целом глава интересна, хорошо иллюстрирована и понятно написана. Замечаний по ней практически нет.

В **четвертой главе** «Обсуждение» (с. 123–153) автор приводит подробное обсуждение полученных в предыдущей главе результаты молекулярно-генетического анализа с учетом полученных ранее данных по дифференциации крапчатых жестковолосых мышей надвидового комплекса *Lophuromys flavopunctatus* s.l. В первой части главы В.А. Комарова обсуждает филогенетические взаимоотношения и видовое разнообразие изученной группы грызунов (п. 4.1.). Ценным результатом этого раздела является, то, что генетический анализ, выполненный в рамках настоящей работы, позволил автору дополнить известные ранее данные о распространении эфиопских *Lophuromys* и существенно расширить границы ранее известных ареалов для ряда видов. Вторая часть главы посвящена обсуждению адаптивной радиации жестковолосых мышей в среднем плейстоцене и фактов выявления следов разновременных ретикулярных процессов (п. 4.2.). В этом разделе автор подробно и четко, используя дополнительную информацию палинологических реконструкций, приводит сценарии дивергенции различных групп сестринских видов жестковолосых мышей, заостряя свое внимание на роли митохондриальной и ядерной интрогрессии, происходящей на фоне адаптивной радиации видов в меняющихся условиях обитания. В итоге не без оснований автор приходит к выводу, что ретикулярная эволюция, сопровождавшая адаптивную радиацию

эфиопских *Lophuromys*, происходила в середине плейстоцена и продолжается до настоящего времени. В заключительной части главы соискатель предлагает ознакомиться с возможными тремя эволюционными сценариями митохондриальной интрогрессии в надвидовом комплексе *Lophuromys flavopunctatus* s.l. (п. 4.3.). Первый автор связывает с адаптивной интрогрессии мтДНК, второй – с заменой «перегруженной» вредными мутациями мтДНК, а третий – с нейтральной интрогрессией мтДНК в условиях асимметрии высотных поясов. В.А. Комарова, основываясь на результатах своих исследований и опираясь на данные полученные другими авторами, правомерно отмечает, что приведенные эволюционные сценарии не несут строго взаимоисключающего характера. Имеющиеся замечания не несут принципиального характера и связаны с формой подачи материала.

Пятая глава диссертации «Заключение» (с. 154–155) обобщает результаты проведенного исследования. Соискатель логично приходит к выводу, что для данной группы грызунов более вероятен сценарий эволюционной истории, согласно которому современные виды эфиопских *Lophuromys* и их генетическое разнообразие сформировались в результате адаптивной радиации, включавшей как сложные дивергентные, так и множественные ретикулярные процессы, связанные с межвидовой интрогрессией митохондриальной ДНК у ряда высокогорных видов. В качестве замечания к этому разделу работы отмечу, что он ни по объему (2 страницы), ни по резюмирующему значению не дотягивает до статуса отдельной главы. Более органично этот материал смотрелся бы в качестве простого заключения.

Раздел **Выводы** завершают изложение результатов исследования и подводят итог их обсуждения. Формулировки выводов логичны и понятны.

Диссертационная работа В.А. Комаровой хорошо структурирована, иллюстрирована необходимым количеством рисунков и таблиц, отвечает поставленным автором задачам, раскрывает все этапы проведения исследования и позволяет обосновать защищаемые положения и сформулированные выводы. Достоверность работы подтверждается необходимым количеством эмпирических данных. Результаты работы, безусловно, обладают научной новизной и практической значимостью, демонстрируют вклад автора в развитие современных представлений об эволюции грызунов в условиях высотной поясности и ретикулярной эволюции в целом.

Таким образом, можно заключить, что представленная Комаровой Валерией Александровной диссертационная работа «Микроэволюционные процессы на выраженном высотном градиенте в горных тропиках на примере крапчатых жестковолосых мышей *Lophuromys flavopunctatus* s.l.» является законченным оригинальным исследованием. Оно вносит существенный вклад в понимание особенностей и механизмов ретикулярной эволюции у животных и формирования биологического разнообразия в горных ландшафтно-экологических регионах.

Перечисленные выше критические замечания носят, в основном, частный и дискуссионный характер, а также относятся к техническому оформлению рукописи и не влияют на общую положительную оценку работы. Автореферат, соответствуя содержанию диссертации, отражает ее основные положения. Результаты диссертации достаточно полно опубликованы в изданиях, рекомендованных ВАК РФ, и были представлены на международных и общероссийских научных конференциях.

Считаю, что диссертационная работа «Микроэволюционные процессы на выраженном высотном градиенте в горных тропиках на примере крапчатых жестковолосых мышей *Lophuromys flavopunctatus* s.l.» отвечает всем требованиям пп. 9–14 Постановления Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. N 842 «О порядке присуждения ученых степеней», а ее автор, Комарова Валерия Александровна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.12 – Зоология.

Официальный оппонент:

Доктор биологических наук,
профессор
01.11.2023 г.

С.В. Титов

Контактные данные:

Титов Сергей Витальевич

Доктор биологических наук (1.5.12 – зоология, 1.5.15 – экология)

Профессор

Декан факультета физико-математических и естественных наук

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Пензенский государственный университет»

440026, Пенза, ул. Красная, д. 40;

+7 (927)3697925;

<https://pnzgu.ru>

svtitov@yandex.ru

«Подпись Титова С.В. заверяю»

Ученый секретарь

ФГБОУ ВО ПГУ, к.т.н., доцент

О.С. Дорофеева