

ОТЗЫВ

Официального оппонента на диссертацию

Соколовой Надежды Алексеевны

«Филогеография и генетическое разнообразие речной выдры (*Lutra lutra*)

на территории России и стран Закавказья»,

представленную на соискание ученой степени

кандидата биологических наук

по специальности 1.5.12 – Зоология

Диссертация Н.А. Соколовой написана компактно и четко, основной текст изложен на 107 страницах, Приложения занимают еще 17 страниц. Во Введении приведено обоснование темы, научная новизна и практическая значимость работы. Здесь же представлены цели и задачи, перечислены публикации диссертанта по теме, приведены благодарности и краткое резюме использованных методик исследования. Далее следуют четыре основных главы, а также Заключение, Выводы, Список цитируемой литературы и Приложения.

Каждая глава диссертации и замечания к ней будут рассмотрены ниже.

Глава 1 Обзор литературы занимает 27 страниц, она написана информативно, хорошим языком. Автор не перегружает читателя, а подробно рассматривает только вопросы, непосредственно связанные с темой работы: различные аспекты биологии и экологии речной выдры, современное состояние исследований филогеографии и генетической изменчивости этого вида, а также имеющиеся данные о палеонтологии объекта исследования. Для сравнения кратко обсуждены исследования филогеографии нескольких близких видов выдр.

Глава 2 Материалы и методы занимает 10 страниц.

Речная выдра - непростой объект для исследований. Плотность популяции животных в природе невысока, они скрытны, низко плодовиты, привязаны к речным биотопам, уязвимы перед антропогенными факторами. В музейных коллекциях хранится немного экземпляров этих зверей, регулярный промысел не ведется, а пробы шерсти или фекалий не так просто собрать, кроме того, вероятны ошибки первичной видовой идентификации. Дополнительная трудность сбора неинвазивного материала состоит в том, что ДНК в фекалиях быстро портится.

Для выполнения работы был использован весь доступный старый коллекционный материал, а также современные сборы тканей и экскрементов речной выдры, всего 166 особей из различных регионов России и соседних государств. Диссертант принимал участие в сборе неинвазивных проб лично. Лабораторная работа и обработка материала были выполнены преимущественно Надеждой Алексеевной. Очень важно, что исчерпывающая информация об использованных образцах представлена в диссертации в Приложении.

Автор применил в своей работе ставшими уже классическими методы секвенирования мтДНК по Сэнгеру и фрагментный анализ мультиплексов микросателлитных ядерных локусов. В Главе 2 рассказано об условиях ПЦР, способах формирования выборок для разных разделов исследования, применяемых компьютерных программах и алгоритмах построения филогенетических деревьев. Автор демонстрирует хорошее знание методов анализа нуклеотидных последовательностей, корректно применяет необходимые программы и тесты.

К Главе 2 есть замечания:

Для внутривидовых исследований требовался высоко изменчивый фрагмент генома, автор резонно выбрал контрольный регион мтДНК. Для объединения оригинальных данных с имеющимся массивом фрагментов, опубликованных в GenBank и в статьях, часть расчетов сделана лишь для четверти контрольного региона (255 п.н.). Понимая ограниченность такого подхода, автор вводит в работу больший фрагмент мтДНК длиной 820 п.н., однако данный ПЦР-продукт представляет собой окончание белок кодирующего гена цитохрома b, последовательности двух тРНК и первую половину контрольного региона длиной 572 п.н. Не вполне ясно, почему отказались от прочтения контрольного региона целиком. Его длина обычно составляет около 1000 п.н., и полиморфизм в нем точно выше, чем в цитохроме b и тем более в тРНК.

Для микросателлитных локусов не указано, какой праймер нес флуоресцентную метку (вероятно, прямой).

Глава 3 Результаты изложена на 30 страницах.

В первом разделе проведена отработка видовой, половой и индивидуальной идентификации речной выдры на территории ГПЗ «Калужские засеки». Автор оценивает эффективность работы с пробами и убедительно доказывает, что с

определенной долей аккуратности можно использовать экскременты для индивидуального учета животных в природе. Более того, ДНК в части выборки оказалась сохранной настолько, что позволила амплифицировать необходимые участки генома, так что 9 особей были включены в основную выборку работы.

Второй раздел посвящен изменчивости мтДНК у двух подвидов. Отдельно представлены результаты для большой выборки и короткого фрагмента (255 п.н.), отдельно – для оригинальной выборки и длинного фрагмента (820 п.н.). Медианные сети гаплотипов построены как для выборки в целом, так и для отдельных частей ареала. Ценным расширением знаний о генетическом полиморфизме вида является обнаружение 33 новых гаплотипов для фрагмента мтДНК (820 п.н.).

Третий раздел **Результатов** посвящен изменчивости микросателлитных локусов яДНК. Выборка из 117 образцов выдры была разделена на 4 географических региона и исследована по 18 микросателлитным локусам из 20, два локуса были исключены из работы.

Замечания к Главе 3:

На Рисунке 3.3. *«Индекс распределения попарных различий ...»* не вижу анонсированную бимодальную вершину для выдр с Кавказа.

На стр. 74-76 автор показывает результаты анализа демографической истории популяции с помощью метода расширенного Байесова скайлайна и пишет *«эффективная численность популяции выдры за последние 150 тысяч лет непрерывно медленно росла»*, однако на рисунках 3.14-3.16 видно уменьшение величины N_e , а не рост. Автору следовало корректно подписать ось времени, указав, что показаны «миллионы лет назад». Тогда читателю будет понятно, что ход времени показан в обратном направлении.

По какой причине расчет анализа демографической истории популяции (стр.74) проведен только для 32 гаплотипов фрагмента мтДНК 820 п.н., а не по всем обнаруженным 36 (Таблице 3.5)?

Нарушена нумерация подразделов со стр. 62 до стр. 75.

Что указано в качестве плюс минус значений нуклеотидного и гаплотипического разнообразия, а также индекса попарного различия (SD или SE)? Нет этой информации и в главе Методы.

Глава 4. Обсуждение занимает 9 страниц.

В данной главе обсуждаются результаты работы в свете перспектив природоохраны а также проводится сравнение с другими видами и реконструкция расселения речной выдры на своем обширном ареале в голоцене.

Вопросы к Главе 4:

В Таблице 4.1 и в сопутствующем тексте, на мой взгляд, не вполне корректно проведено сравнение. Анонсировано «*Гаплотипическое разнообразие (H) и нуклеотидное разнообразие (π) четырёх видов хищных млекопитающих по фрагменту в 700-800 п.н. контрольного региона мтДНК*». При этом у диссертанта взят в работу меньший фрагмент контрольного региона, только 572 п.н.

Заключение на одной странице доступным языком обобщает наиболее значимые результаты диссертации.

Выводы следуют из результатов, они соответствуют цели и задачам.

После прочтения диссертации остается вопрос – насколько продуктивно в современной науке придерживаться устаревшего подвидового деления, если все больше результатов свидетельствуют, что как минимум некоторые подвиды не имеют существенных отличий между собой. Автор так и не говорит об этом напрямую, оставляя в качестве Вывода 5 гибкую фразу «*Кавказская выдра (L. l. meridionalis) генетически крайне близка к выдрам Европейской России номинативного подвида (L. l. lutra).*»

Список литературы содержит 169 источников, 22 из них на русском языке.

Приложение содержит 5 таблиц с характеристиками использованных для диссертации образцов, последовательностями праймеров и результатами генотипирования по микросателлитным локусам.

Замечания к Приложению:

В шапке к Таблице 2 Приложения «Плоидность» кажется некорректным термином. Вероятно, имеется в виду число нуклеотидов в тандемном повторе. В этом случае остается непонятным, почему у специфичного для мужского пола гена SRY стоит единица?

Интересно было бы узнать, есть ли отличия по встречающимся гаплотипам «исторических» и «современных» выдр? Из таблицы мы узнаем, что значительная часть материала была собрана в более 70 лет назад.

В тексте имеются некоторые редакторские недочеты:

Отсутствует единообразие при использовании разделительного знака, следовало использовать или точку, или запятую.

В названиях таблиц не нужна точка в конце.

Количество знаков для одного и того же параметра в разных разделах результатов колеблется в пределах нескольких порядков.

Есть случаи неоптимальной верстки в разделах с рисунками или таблицами.

Все сделанные замечания носят рекомендательный характер и не снижают крайне высокой ценности работы. Диссертация написана литературным языком, содержит малое число опечаток или несогласованных предложений, хорошо читается.

Без сомнений диссертационная работа Соколовой Надежды Алексеевны «Филогеография и генетическое разнообразие речной выдры (*Lutra lutra*) на территории России и стран Закавказья», полностью соответствует требованиям пп. 9-14 Постановления Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. №842 «О порядке присуждения ученых степеней», а ее автор вполне заслуживает присвоения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.12 – Зоология.

Матросова Вера Анатольевна,

к.б.н., научный сотрудник

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки

Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта

Российской академии наук (ИМБ РАН). ГСП-1,

119991, г. Москва, ул. Вавилова, д. 32.

v.matrosova@gmail.com

+7-915-231-78-88

07.05.2026

