



**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ
БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
ЗООЛОГИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК
(ЗИН РАН)**

Университетская наб., д. 1, Санкт-Петербург, 199034

Тел.: (812) 328-03-11

Факс: (812) 328-29-41, (812) 328-02-21,
(812) 714-04-44

E-mail: admin@zin.ru, office@zin.ru,

WWW: http://www.zin.ru

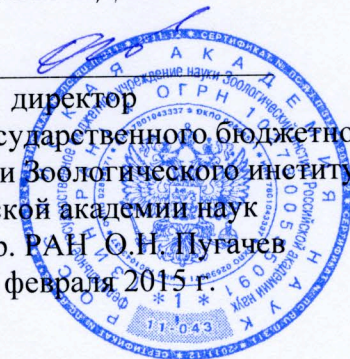
ОКПО 02698571, ОГРН 1027800535091,
ИНН/КПП 7801043337/780101001

11.02.2015 № 12505-217.1
На № 12504-02-01-6215/96-05 17.12.2014

«УТВЕРЖДАЮ»

директор

Федерального государственного бюджетного
учреждения науки Зоологического института
Российской академии наук
Член-корр. РАН О.Н. Пугачев
“10” февраля 2015 г.



ОФИЦИАЛЬНЫЙ ОТЗЫВ

ведущей организации Федерального государственного бюджетного учреждения науки

Зоологического института Российской академии наук

на диссертацию Елены Владимировны Шайкевич

**"ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ИДЕНТИФИКАЦИЯ БЛИЗКОРОДСТВЕННЫХ ВИДОВ
НАСЕКОМЫХ И РОЛЬ СИМБИОНТОВ В ИХ ЭВОЛЮЦИИ (НА ПРИМЕРЕ
КОМПЛЕКСА ВИДОВ *Culex pipiens* и *Adalia spp*)",**

представленной на соискание ученой степени доктора биологических наук по
специальности 03.02.07 – генетика

Диссертационное исследование Елены Владимировны Шайкевич направлено на решение чрезвычайно актуальных фундаментальных вопросов современной биологии, связанных с использованием молекулярных маркеров для изучения генетической структуры биологического разнообразия, исследованием генетических процессов, приводящих к диверсификации организмов, и анализом роли симбиотических микроорганизмов в эволюции насекомых.

Работа состоит из Введения, Обзора литературы, Главы “Материалы и Методы”, Результаты, Обсуждения, Выводов и Списка литературы. Ее общий объем 223 страницы.

На наш взгляд, наиболее значимые достижения Елены Владимировны Шайкевич состоят в следующем:

Во-первых, показано, что разные, географически удаленные антропогенные популяции комаров формы *Culex pipiens f. molestus* образуют монофилетическое единство и возникли от одного общего предка. Таким образом, отброшена альтернативная гипотеза, согласно которой каждая из локальных популяций *Culex pipiens f. molestus* возникала от

симпатрично обитающих диких популяций *Culex pipiens pipiens* в ходе экологической дифференциации. Эти данные вносят серьезный вклад в дискуссию о роли симпатрического и аллопатрического формообразования в природе.

Во-вторых, получены интересные филогеографические сценарии для комаров и божьих коровок, показывающие закономерности их дивергенции и расселения и дающие привязку изученных генетических процессов к географии. Особый интерес представляют выявленные многочисленные случаи вторичных контактов и гибридизации между дивергировавшими формами, приводящие, в частности, к митохондриальной интрогрессии.

В-третьих, доказана роль симбиотических микроорганизмов в эволюции комаров и божьих коровок и высказаны идеи о генетических механизмах и о том, каким образом взаимодействия между насекомыми и их симбионтами приводили в формо- и видообразованию. И это тоже серьезный вклад в генетику и эволюционную биологию.

Методы, которые использовались в работе, можно охарактеризовать как современные и адекватные.

Работа представляет не только научный, но и большой практический интерес, поскольку комары рода *Culex* являются активными кровососами (особенно на урбанизированных территориях) и известны как переносчики возбудителей ряда опасных заболеваний человека и животных.

Переходя к критике, хотим сразу отметить, что обзор литературы, предваряющий экспериментальную часть и Обсуждение, недостаточно хорошо увязан с основными достижениями диссертационной работы, отмеченными выше. В обзоре мало места уделено обсуждению общих проблем филогеографии, аллопатрического и симпатрического формообразования, роли межвидовой гибридизации в эволюции. Вместо этого дается детальный обзор литературы по систематике, частной генетике, экологии и физиологии комаров и божьих коровок. Роль симбиотических микроорганизмов в эволюции хотя и обсуждается, но все же, также в основном с точки зрения конкретики, известной для изучаемых групп, а не в более общем контексте. Такой подход – не от общего к частному (что позволило бы рассмотреть поставленные задачи в контексте того, что уже известно в биологии), а, наоборот, от частного сразу к собственным данным – затрудняет теоретическое обобщение полученных данных и осознание их значимости.

На наш взгляд, не очень удачным является первая часть названия диссертации (“Генетическая идентификация близкородственных видов насекомых. ”). Это название было бы оправдано, если бы исследование было посвящено **ПРОБЛЕМЕ** генетической идентификации видов. Эта проблема является одной из горячих точек современной биологии, по ней ежегодно публикуются сотни работ, как теоретических, так и

эмпирических и биоинформатических. В диссертации нет эксплицитного обсуждения принципиальных подходов к генетической видовой идентификации, таких как идентификация по таксоноспецифичным маркерам, идентификация с использованием генетических дистанций и идентификация, основанная на построении идентификационного филогенетического дерева. Есть более частные вопросы выявления конкретных молекулярных маркеров, характерных для тех или иных таксонов и популяций. Это, безусловно, очень важная часть работы и она очень полезна для других исследователей, особенно, в связи с большой практической значимостью комаров. Однако, она все же носит скорее технический характер, так как не предлагает новых решений проблемы идентификации и принципиальных теоретических обобщений.

Проблема идентификации (то есть отнесения особи к уже выделенным кластерам организмов) тесно соприкасается с проблемой видовой делимитации (установления межвидовых границ). Хотя последний вопрос не является главным в задачах (только вторая половина задачи 11), по факту, значительная часть диссертации и выводы 2, 7 и 8 посвящены именно этому. При решении этой задачи получены важные конкретные результаты, однако при их обсуждении за бортом остается существенный пласт современных публикаций. Например, работы, обсуждающие плюсы и минусы однолокусной (например, на основе гена *COI*) и мультилокусной делимитации, а также использование параметрических моделей (например, коалесцентной модели) и Байесовой статистики.

При обсуждении вопроса о гибридизации и митохондриальной интрогрессии, сразу же встает вопрос: а как отличить паттерны, обусловленные гибридизацией, от паттернов, обусловленных сохранением анцестрального полиморфизма. Действительно, гетерозиготность по сильно дивергировавшим ядерным маркерам и обнаружение в одной популяции разных, сильно дивергировавших митохондриальных гаплотипов чаще всего является следствием гибридизации. Но все же, априори нельзя исключать, что они могут быть следствием анцестрального полиморфизма – сохранения маркеров, унаследованных от общего полиморфного предка, при этом вероятность этой альтернативной гипотезы никогда не является нулевой. Мы несколько не сомневаемся, что в диссертации выявлены многочисленные случаи гибридизации и интрогрессии. Но при этом мы призываем к более тщательной документации этих примеров, в том числе, с применением современных методов статистики, позволяющих количественно оценивать вероятности альтернативных гипотез гибридизации и интрогрессии (например, Joly, S., McLenachan, P. A. & Lockhart, P. J. 2009. A statistical approach for distinguishing hybridization and incomplete lineage sorting. *Am. Nat.* **174**, e54–e70; Joly, S. 2012. JML. Testing hybridization from species trees. *Mol. Ecol. Res.* **12**, 179-184).

У нас есть несколько более частных замечаний.

Методы и результаты клонирования описаны недостаточно детально. В частности, непонятно, клонировались ли изучаемые последовательности *ITS2* и какие были получены результаты. Поскольку эти последовательности мультикопийные, то даже при изучении одной особи можно ожидать получение нескольких вариантов вследствие (1) гетерозиготности и (2) различия между копиями. Хотя процесс «концертной» эволюции, основанный на генной конверсии, и приводит к гомогенизации копий, он не обязательно бывает полным, и варианты при клонировании, как правило, выявляются.

Кроме того, на наш взгляд, не совсем правомочно называть гаплотипами варианты последовательности *ITS2* без учета возможных аллельных различий в пределах особи. Или все особи были гомозиготами? В принципе, есть методы и программы, позволяющие создавать усредненные индивидуальные «гаплотипы» ядерных генов на основе результатов клонирования и секвенирования, но, как мы понимаем, они не использовались.

Непонятна фраза о методах вычисления генетической дистанции (эволюционного расстояния) на стр. 93-94 диссертации. Во-первых, приводимые здесь термины *p-distance*, *Jukes-Cantor*, *Tamura-Nei* и *Kimura 2-parameter* – это не методы, а эволюционные модели нуклеотидных замен. Во-вторых, на наш взгляд, им даны неверные определения (эти модели различаются используемыми параметрами и их числом). В-третьих, трудно представить, что эти модели будут давать практически одинаковые значения дивергенции, так как число скрытых (повторных) замен почти всегда достаточно велико, и даже такая простая модель как *Kimura 2-parameter* дает значительно более высокие значения дивергенции, чем *p-distance* (последняя вообще не учитывает скрытые замены). Кроме того, в этом небольшом абзаце есть два взаимоисключающих положения. Вначале говорится, что в таблицах приводятся значения дивергенции, полученные с использованием модели *Maximum Composite Likelihood* (программа *MEGA*). А через несколько строк говорится, что в таблицах приводятся значения дивергенции, полученные с использованием *p-расстояний*. Так все же, какие значения приводятся?

Бросаются в глаза крайне высокие приводимые в диссертации значения генетической дивергенции последовательности *ITS2* у видов коровок *A. decempunctata* и *A. tetraspilota* по сравнению с другими видами: 41,5 и 57-58%, соответственно. Поскольку изученные последовательности депонированы в ГенБанке, мы их оттуда скачали и сравнили повторно. Оказалось, что виды *A. decempunctata* и *A. tetraspilota* дивергированы в реальности на порядок меньше, чем указано: всего лишь на 2-3% и в этом отношении существенно не отличаются от других. Вероятно, причиной этого промаха было то, что сиквенсы перед сравнением не были выровнены.

Подводя итог, мы считаем, что диссертация содержит высокий процент научной новизны. Ее результаты, выводы и предлагаемые научные положения обоснованы и достоверны и имеют большую значимость для генетики, эволюционной биологии и энтомологии. Диссертация соответствует специальности 03.02.07 – генетика. Все основные результаты диссертации опубликованы в ведущих научных изданиях (27 статей, включая журналы из базы WEB of Science (не менее 12). Содержание автореферата соответствует содержанию диссертации.

Диссертационная работа Е.В. Шайкевич "Генетическая идентификация близкородственных видов насекомых и роль симбионтов в их эволюции (на примере комплекса видов *Culex pipiens* и *Adalia* spp)" является законченной научно-квалификационной работой, содержащей новое решение актуальной научной задачи, заключающейся в разработке проблем, связанных с изучением генетических процессов в популяциях близкородственных видов насекомых и ролью симбионтов в их эволюции (специальность 03.02.07 – генетика). Эта работа соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук «Положением о присуждении ученых степеней», утвержденных постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г № 842, а ее автор – Шайкевич Елена Владимировна, несомненно, заслуживает присуждения искомой степени доктора биологических наук по специальности 03.02.07 – генетика.

Отзыв был заслушан и одобрен на заседании Отделения кариосистематики ФГБУН Зоологического института РАН, протокол № 1 от 09 февраля 2015 г

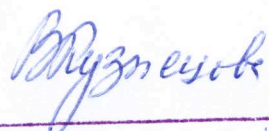
Отзыв на диссертацию составили ведущий научный сотрудник ЗИН РАН, доктор биологических наук В.А. Лухтанов и заведующая Отделением кариосистематики, главный научный сотрудник ЗИН РАН, доктор биологических наук, профессор В.Г Кузнецова.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Зоологический институт Российской академии наук, 199034 г Санкт-Петербург, Университетская наб., д. 1, E-mail. office@zin.ru

Ведущий научный сотрудник ЗИН РАН
Доктор биологических наук

 В.А. Лухтанов

Заведующая Отделением кариосистематики,
Главный научный сотрудник ЗИН РАН
Доктор биологических наук, профессор

 В.Г Кузнецова

Подпись руки Лухтанова В.А.
Кузнецовой В.Г.
удостоверяется
Ученый секретарь 