

## ОТЗЫВ

официального оппонента Климова Евгения Александровича на диссертационную работу Шайкевич Елены Владимировны на тему «Генетическая идентификация близкородственных видов насекомых и роль симбионтов в их эволюции (на примере комплекса видов *Culex pipiens* и *Adalia spp*)», представленную на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.02.07 – генетика.

Систематика насекомых часто сталкивается с проблемами идентификации, требующими использования не только морфологических и эколого-физиологических признаков, но и анализа полиморфизма ДНК. Это связано с наличием большого количества видов-двойников в таксономической группе насекомые, а также выраженной морфологической изменчивости в пределах политипического вида. Приводящие к этому микроэволюционные изменения в популяциях насекомых на ранних стадиях видообразования обусловлены изменением генетической структуры, в основе которой лежат мутационные изменения, гибридизация и взаимодействие генома насекомого-хозяина с геномом симбионта. Между тем проблема идентификации видов важна не только для уточнения систематики насекомых, но и для контроля их численности. Особенно это касается видов переносчиков опасных заболеваний, вредителей, а также видов, используемых в борьбе с насекомыми вредителями.

Не менее важным вопросом, поднятым в диссертационной работе, является вопрос о роли симбионтов в микроэволюционных процессах у насекомых. Как правило, симбиотические бактерии передаются по материнской линии и могут вызывать различные эффекты, такие как манипуляцию репродукцией хозяина и защиту хозяина от естественных врагов. Каждый из этих эффектов позволяет симбионтам быстро распространяться по популяции насекомых, поскольку он выгоден инфицированным самкам. Эти эффекты являются также экологически и эволюционно значимыми и для конкретного инфицированного вида-хозяина,

вызывая в ряде случаев репродуктивную изоляцию или направляя изменения в половом поведении.

В связи с этим в актуальности работы можно выделить два основных момента:

1. Фундаментальный, направленный на выявление микроэволюционных процессов у насекомых и роли в них симбиотических бактерий.
2. Практический – разработка ДНК маркерных систем для идентификации морфологически схожих видов, оказывающих влияние на здоровье и хозяйственную деятельность человека.

Для решения этих проблем автором поставлена цель – провести генетическую идентификацию близкородственных форм насекомых со спорным или неясным таксономическим статусом и выявить генетические процессы, протекающих в популяциях комаров комплекса *Culex pipiens* и жуков комплекса *Adalia bipunctata* и роль симбиотических бактерий в их эволюции.

В качестве одного из объектов исследования выбраны комары комплекса *Culex pipiens*, имеющие всемирное распространение, известные как активные кровососы и переносчики возбудителей серьезных заболеваний, таких как лимфатический филяриоз, лихорадка долины Рифт и нескольких форм энцефалита, в том числе западно-нильского (ЛЗН). Формы, входящие в комплекс, слабо или совсем не отличаются по морфологии личинок и имаго, взрослые самки не имеют морфологических отличий. В то же время, они значительно различаются по экологическим, физиологическим характеристикам и пищевым предпочтениям. Различно и их эпидемиологическое значение. Для успешного контроля переносчиков заболеваний необходима точная идентификация видов комаров, выяснение роли каждого члена комплекса в эпидемиологических процессах. А информация о генетических процессах, протекающих в популяциях комаров переносчиков, является основой для развития программ противодействий распространению опасных заболеваний человека и животных.

Другой объект исследований – божьи коровки р. *Adalia* (Coleoptera, Coccinellidae), в отличие от комаров, имеют ярко выраженный внутривидовой полиморфизм и географическую изменчивость в пределах видов по таким общепринятым морфологическим признакам как окраска и рисунок пронотума и надкрылий. Виды божьих коровок р. *Adalia* имеют широкие ареалы распространения, что позволяет изучать географические тенденции изменения генофонда и выделить факторы, влияющие на генетическую структуру популяций. Известно существование на протяжении продолжительного времени гетероморфных популяций адалий, состоящих из нескольких достаточно резко различающихся друг от друга типов. Анализ ДНК адалий практически не проводился. Вид *A. bipunctata* является политипическим видом, состоящим из четырех географических популяций или подвидов. Между тем, генетические основы разделения перечисленных форм на таксономические единицы не были выяснены. До работы Елены Владимировны Шайкевич не была известна и степень генетической дивергенции между видами рода *Adalia*.

**Структура диссертационной работы.** Диссертация Шайкевич Е.В. изложена на 223 страницах, содержит 30 рисунков и 24 таблицы, и включает введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты, обсуждение, выводы и список литературы, представленный 361 источником.

Во введении сформулированы актуальность работы, цели и задачи исследования, обозначена практическая и теоретическая значимость работы, представлены положения, выносимые на защиту.

В главе «Обзор литературы» дана характеристика исследуемых объектов. Глава состоит из трех разделов. В первом описаны комары комплекса *Culex pipiens* и *Culex torrentium*. Описана их таксономия, генетика, экология, описаны исследуемые в работе виды и формы, а также роль комаров в переносе патогенов и методы их идентификации. Второй раздел посвящен божьим коровкам рода *Adalia*. В нем представлен анализ литературных данных по их таксономии, генетике и изменчивости. В третьем разделе уделено внимание симбиотическим бактериям у *Culex pipiens* (*Wolbachia*) и у *Adalia*.

В главе «Материалы и методы» диссертационной работы автором описаны использованные в работе образцы, дана информация о местах их сбора. Далее подробно описаны молекулярно-генетические методы, использованные в работе, и методы статистической обработки данных.

В главе «Результаты» автором изложены результаты собственных исследований. Глава состоит из двух частей, посвященных комарам комплекса *Culex pipiens* и божьим коровкам рода *Adalia*. Автором получен большой объем экспериментальных данных, ориентированных не только на морфо-биологические особенности изучаемых насекомых, но и в первую очередь на их генетическую идентификацию и дифференциацию различных видов и форм исследуемых таксономических групп, что является основной целью работы.

Описание полученных данных логически обоснованное и пошаговое: решение одной задачи позволяет перейти к следующей, полученный результат дает базу для следующего эксперимента. Это позволяет легко ориентироваться в полученных автором результатах, а также говорит о том, что автор четко следовал намеченному плану. Среди множества интересных полученных автором результатов хочется выделить те, которые обладают наиболее ярко выраженной научной новизной и практической значимостью:

Полученные автором результаты позволили разработать дифференцирующие маркеры и определить степень генетических различий между таксонами исследованных насекомых рода *Culex* и рода *Adalia*. На основе разработанных маркеров автором показано, что природные биотопы Северной Евразии заселены преимущественно *C. torrentium*, который замещает здесь *C. p. pipiens f. pipiens*. Комары *C. p. pipiens f. molestus* не происходят от симпатрических природных популяций *C. p. pipiens f. pipiens* и географически удаленные популяции этой формы имеют единое происхождение. Также автором выявлено, что описываемые как самостоятельные виды *A. fasciatopunctata*, *A. revelierei* и *A. turanica* являются

лишь географическими формами политипического вида *Adalia bipunctata*, а вид *A. frigida* можно считать близкородственным видом *A. bipunctata*.

Данные, полученные автором при анализе заражения исследуемых популяций насекомых симбиотическими бактериями, доказывают:

1. Снижение разнообразия мтДНК за счет неравновесия по сцеплению с симбионтами и за счет того, что симбионты являются мутуалистами (придают преимущества хозяину) и зараженные самки предпочтительно распространяются по популяциям. Это явление встречается у насекомых, но далеко не у всех. А Елена Владимировна Шайкевич обнаружила влияние симбионтов на разнообразие ДНК у насекомых двух родов, причем у божьих коровок рода *Adalia* впервые.
2. Симбионты способствуют митохондриальной интрогрессии и сохранению связанных с ними мт-гаплотипов в генофондах других видов.
3. У комаров симбионты являются движущей силой дивергенции за счет цитоплазматической несовместимости.

Также на основании представленности симбиотических бактерий в популяциях насекомых исследованных родов автор делает вывод об отсутствии или редкости горизонтального переноса симбионтов в данных популяциях.

Выводы диссертационной работы обоснованы, соответствуют поставленным задачам и полученным данным.

Недостатки работы не затрагивают научную компоненту и относятся исключительно к оформлению. Собственно замечание одно: в конце главы «Обзор литературы» явно не хватает заключения, в котором были бы обобщены представленные в главе результаты анализа литературы и дано направление исследований, реализованное автором в диссертационной работе. Это замечание не умаляет значимости работы и носит скорее рекомендательный характер.

Содержание автореферата в полной мере соответствует содержанию диссертации. Результаты, полученные в исследовательской работе, представлены автором на многих конференциях, в том числе международных, опубликованы в 43 работах в международных и отечественных журналах и сборниках, их них 27 статей в российских и международных рецензируемых журналах, включенных в перечень рекомендованных ВАК Минобрнауки.

Таким образом, диссертационная работа Елены Владимировны Шайкевич на тему «Генетическая идентификация близкородственных видов насекомых и роль симбионтов в их эволюции (на примере комплекса видов *Culex pipiens* и *Adalia spp*)» является законченным научно-исследовательским трудом и содержит новые научные результаты в области генетики. Работа полностью соответствует требованиям п. № 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. за № 842, предъявляемым к докторским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения искомой степени доктора биологических наук по специальности 03.02.07 – генетика.

Официальный оппонент  
Климов Евгений Александрович  
Доктор биологических наук, доцент  
Ведущий научный сотрудник кафедры генетики  
Биологического факультета  
Московского государственного  
университета имени М.В.Ломоносова,  
Адрес: 119234, г. Москва, ул. Ленинские Горы, д.1, стр.12  
Телефон: +7(903)152-00-38, e-mail: klimov\_eugeny@mail.ru

  
25.02.2015

Заведующий кафедрой генетики  
Биологического факультета  
МГУ имени М.В.Ломоносова,  
д.б.н., профессор



В.В. Зинченко

Декан Биологического факультета  
МГУ имени М.В.Ломоносова,  
академик РАН



  
М.П. Кирпичников

