

ОТЗЫВ

официального оппонента

на диссертацию Коваленко Маргариты Григорьевны

на тему «Систематика и видовая диагностика шашечниц подрода *Mellicta* Billberg, 1820 рода *Melitaea* Fabricius, 1807 (Lepidoptera, Nymphalidae) на основе морфологических и молекулярно-генетических методов»,
представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук
по специальности 1.5.14 – Энтомология

Диссертация Коваленко Маргариты Григорьевны представляет собой целенаправленное комплексное исследование шашечниц подрода *Mellicta* Billberg, 1820 с применением современных молекулярно-генетических и морфологических методов в энтомологии для решения вопросов по систематике и видовой диагностике исследуемой группы дневных чешуекрылых.

Тема диссертации **актуальна** в силу недостаточности и слабой изученности особенностей генитального аппарата полов, его функциональном значении в плане закономерностей эволюционных преобразований на уровне видовых таксонов у данной группы Nymphalidae.

Поставленная диссертантом **цель работы** – изучить особенности морфологии шашечниц подрода *Mellicta* Billberg, 1820 рода *Melitaea* Fabricius, 1807 (Lepidoptera, Nymphalidae) в сочетании с молекулярно-генетическими данными для совершенствования систематики и видовой диагностики исследуемой группы – была в полной мере достигнута автором благодаря решению хорошо скоординированных и **четко поставленных задач** работы.

Так, в ходе работы диссертантом были изучены особенности строения гениталий самцов и самок шашечниц подрода *Mellicta* и установлено функциональное значение структур их полового аппарата; выявлены надежные «работающие» диагностические признаки внутривидовой изменчивости гениталий шашечниц подрода *Mellicta*; разработана система изучаемой группы на основе морфологии полового аппарата самцов и самок; установлены особенности

строения ультраструктуры хориона яиц подрода *Mellicta* для включения данных признаков для систематики группы; использованы данные баркодов гена первой субъединицы цитохром с-оксидазы (COI) митохондриальной ДНК для видовой диагностики и системы шашечниц подрода *Mellicta* в сравнительном аспекте с морфологическими данными; для решения сложных таксономических вопросов в изучаемой группе шашечниц использованы данные баркодов ядерного гена 18S рРНК; проанализированы экологические особенности и распространение шашечниц подрода *Mellicta*, выявлены центры их видовой разнообразия; проведенное комплексное исследование позволило уточнить видовой состав подрода и составить определительные ключи.

Выполненные Маргаритой Григорьевной практическая и теоретическая части работы позволили ей адекватно **сформулировать и обосновать 4 Положения**, выносимые на защиту. Все 4 Положения подтверждены полученными авторскими результатами, которые сформулированы и представлены в Выводах №1-№8.

Научная новизна диссертационной работы заключается в том, что впервые Коваленко М.Г. изучила особенности взаимодействия гениталий шашечниц во время спаривания и определила функции их генитальных структур, что, в свою очередь, позволило диссертанту выдвинуть предположения о закономерностях эволюционных преобразований полового аппарата в данной группе. В ходе изучения внутривидовой изменчивости полового аппарата самцов и самок установлены работающие стабильные диагностические признаки. Диссертантом предложен новый метод окрашивания плохо видимых морфологических структур фукорцином. Впервые Маргаритой Григорьевной разработана полноценная видовая идентификация группы по самкам и для ряда видов впервые приведено изображение полового аппарата и составлены определительные ключи для идентификации самцов и самок всего подрода. Использование электронно-сканирующей микроскопии позволило установить морфологические особенности хорионов у видовых таксонов. Использование молекулярно-генетических методов баркодинга позволило решить целый ряд таксономиче-

ских вопросов в рамках изучаемого подрода шашечниц. Анализ полученных авторских данных по экологии и границам распространения показал географическую изоляцию популяции *Melitaea ambigua* Ménétriés, 1859, что послужило основанием для описания нового подвида. На основе комплексных исследований статус таксона *Melitaea aurelia distans* (Higgins, 1955) повышен до видового. Во время обработки музейных коллекций был выделен лектотип *Melitaea ambigua ambigua* Ménétriés, 1859, хранящийся в Зоологическом институте РАН.

Теоретическая и практическая ценность работы заключается в авторском вкладе в изучение систематики, морфологии и филогении шашечниц Палеарктики. Полученные Коваленко М.Г. данные полезны и безусловно очень востребованы специалистами энтомологами для видовой диагностики, что важно как для таксономических, так и для фаунистических и прикладных работ. Анализ авторских молекулярно-генетических результатов позволяет по-новому «взглянуть» на вопросы филогении изучаемой группы дневных бабочек. Исследование взаимодействия генитальных структур при спаривании вносят вклад в изучение морфологии и эволюции гениталий чешуекрылых, а сведения о яйцах, полученные при помощи электронно-сканирующей микроскопии, дополняют знания об использовании данной стадии развития в систематике. Собранные сведения о распространении редких и эндемичных видов по шашечницам могут быть полезны в составлении региональных Красных книг. Использование красителя фукорцина для окрашивания плохо визуализируемых морфологических структур расширяет набор специальных средств, которые могут быть использованы в энтомологии.

Методическое обеспечение проведенного исследования вполне достаточно для **достоверности** полученных результатов. Так, диссертантом были использованы традиционные и современные молекулярно-генетические методы в энтомологии для решения задач систематики и таксономии рассматриваемой группы дневных бабочек из семейства Nymphalidae. Для анализа морфологических признаков гениталий использовалась программа Mesquite 3.70. Филогенетические деревья были построены методом ближайшей экономии в программе

TNT анализом Traditional search и в программе Asado (ver. 1.61) анализом Ratchet с числом репликаций 10000 с сохранением 10 деревьев после каждой репликации. Анализ проводился с равным весом всех отобранных признаков.

Всего было исследовано 1767 экземпляров подрода *Mellicta*. Были зарисованы гениталии для 719 экземпляров самцов, также было сделано более 1000 фотографий генитальных структур самцов и самок. Было исследовано 37 типовых экземпляров, принадлежащих к десяти таксонам. Обработка такого большого объема материала свидетельствует о большом трудолюбии диссертанта и ответственном подходе к поставленным задачам.

Планирование работы по диссертации, проведение полевых изысканий, обработка музейных коллекций, анализ научных публикаций по теме исследования, изготовление препаратов гениталий, зарисовка и фотографирование генитальных структур и других морфологических признаков, изучение взаимодействия гениталий во время спаривания, обработка и интерпретация полученных результатов сделаны лично Коваленко М. Г. Молекулярно-генетические исследования, работа на сканирующем микроскопе и подготовка ряда публикаций осуществлены как в результате самостоятельной работы, так и в результате сотрудничества с научным руководителем и коллегами.

По результатам исследований диссертантом сделаны доклады в 2010-2022 гг. на 7 конференциях всероссийского и международного уровней. Участие в конференциях и выступления с результатами диссертационной работы подтверждают, что основные результаты исследований Коваленко М. Г. были **в полной мере апробированы**.

Кроме того, научные результаты диссертации опубликованы автором в рецензируемых научных изданиях: 7 статей, индексируемых в базах данных Scopus, WOS и RSCI. Доля личного вклада диссертанта в совместных работах от 30% и выше.

В целом, это свидетельствует о высоких показателях **личного вклада Маргариты Григорьевны** в заявленное диссертационное исследование. Науч-

ные положения, выводы обоснованы и подкреплены обширным экспериментальным материалом.

Диссертация **написана по традиционному плану** и изложена на 285 страницах машинописного текста, представлена 2 томами и содержит 148 рисунков, 10 таблиц, введение, семь глав, заключение, выводы, список сокращений и условных обозначений, список литературы и семь приложений (том №2, 208 стр.). Библиография включает 226 литературных источника, из них 164 – на иностранных языках.

Кратко остановимся на содержании глав диссертационной работы (том №1, 285 стр.).

Во **Введении** (на 12 стр.) обосновываются актуальность исследований, научная новизна, теоретическая и практическая значимость, основные положения, выносимые на защиту, апробация работы, объем и структура диссертации. Цель сформулирована четко и ясно. Задачи соответствуют поставленным целям. Заявлены положения (4), выносимые на защиту работы.

В целом – эта вводная часть диссертации представляет собой повторение одноименных блоков автореферата.

Глава 1 (на 17 стр.) посвящена обзору научных источников по тематике авторских исследований в рамках истории изучения шашечниц подрода *Mellicta*, начиная с XVIII века. Содержание данной главы диссертационной работы свидетельствует о хорошем знании автором современного состояния изученности решаемой научной проблемы, что позволило ему в свою очередь четко обосновать цели и задачи диссертационного исследования.

Глава 2 (на 11 стр.) представляет собой описание методов морфологических и молекулярных исследований, указаны принципы делимитации видов и приведен объем материала исследования. Все используемые Коваленко М. Г. в исследованиях методы апробированы и не вызывают сомнения. Все вышеизложенное позволяет считать **методическое обеспечение** данного исследования **вполне достаточным**, чтобы **достоверно** оценить полученные результаты,

обосновать научные положения и выводы диссертации, которые в полном объеме были представлены уже в других главах диссертации.

Глава 3 (на 32 стр.) является результирующей частью диссертационной работы. Основой этой работы является обоснование характерных признаков у подрода *Mellicta* и его отличия от других представителей Melitaeini. Представлена общая характеристика полового аппарата, рисунка крыла и преимагинальных стадий видов шашечниц подрода. На основании полученного автором фактического полевого материала как в качественном, так и в количественном отношении, дано описание хетотаксии гусеницы первого возраста. Научный текст главы изложен четко и последовательно, хорошо иллюстрирован.

Глава 4 (на 29 стр.) одна из основных глав представленной работы, которая раскрывает функциональное значение и эволюционные преобразования генитальных структур шашечниц подрода *Mellicta*. Детальное исследование копулирующей пары модельного объекта – *M. menetriesi* позволило провести сравнительно-морфологический анализ гениталий остальных видов подрода и сравнить с другими группами шашечниц. Диссертант, резюмируя полученные данные, обсуждает диагностически значимые признаки половых структур и «привязывает» их к функциональной активности во время спаривания полов. Результаты этой главы полностью подтверждают выдвинутые авторские положения № 1 и № 2. Такой авторский подход к обоснованной трактовке результатов исследований свидетельствует о **становлении Коваленко М.Г. как ученого и специалиста** в данной области знаний.

Глава 5 (на 96! стр.) детально отражает название представленного диссертационного исследования и раскрывает современный видовой состав изучаемого подрода на уровне используемых критериев внутривидовой изменчивости диагностических признаков как самцов, так и самок. Впервые для диагноза представителей подрода используются полученные с использованием электронно-сканирующего микроскопа авторские данные по особенностям морфологии хориона изученных видов шашечниц. Установленные диагностические

характеристики обоих полов снимают вопросы у специалистов о трудно определяемых и диагностируемых видах из этого подрода шашечниц.

Глава 6 (на 33 стр.) знакомит читателя с филогенией данной группы на основе морфологии и метода сравнения баркодов фрагмента гена COI (с привлечением авторских результатов по использованию фрагмента ядерного гена 18S рРНК как дополнительного маркера в решении сложных систематических вопросов в данном подрode). Убедительно продемонстрирована согласованность системы подрода на основании комплексного подхода и доказана необходимость баркодинга для видовой идентификации при сложных ситуациях с морфологическими вариантами признаков как у самцов, так и у самок. Полученные данные по этой главе и их интерпретация подтверждают заявленные диссертантом положения № 3 (первая часть) и № 4.

Глава 7 (на 17 стр.) завершает практические авторские исследования по биологии, экологии и распространению шашечниц подрода *Mellicta*, что еще раз убедительно показывает состоятельность Маргариты Георгиевны как специалиста энтомолога по данной группе чешуекрылых. Глубина пояснений спецификации группы по этой главе свидетельствует, что диссертант владеет как теоретической базой, так и практической составляющей по данной специальности – энтомология. Полученные данные по этой главе и их интерпретация подтверждают заявленные диссертантом положения № 3 (вторая часть).

В **Заключении и Выводах** (на 4 стр.) диссертантом подведены итоги выполненной работы и обсуждены перспективы данной тематики.

Отдельным разделом представлены **7 приложений** (том № 2 на 202 стр.). В Приложении А приведены этикеточные данные всех исследованных экземпляров с указанием мест хранения. В Приложении Б представлены ряды изменчивости генитальных структур в различных популяциях видов, выполненные путем зарисовки. В Приложении В приведены определительные ключи шашечниц изучаемой группы по самцам и самкам. В Приложении Г даны морфологические описания яиц для каждого изученного вида трибы Melitaeini с указанием этикеточных данных и объема исследованных яиц. В Приложении Д приведен

таксономический состав подрода с указанием распространения и типовых местонахождений таксонов. В Приложении Е приведены полученные сиквенсы фрагментов генов COI и 18S рРНК. В Приложении Ж представлены дендрограммы филогенетических связей между представителями подрода *Mellicta* по данным анализа фрагмента гена COI, построенные при помощи методов максимального сходства (ML) и ближайшей экономии (MP).

В целом, диссертационная работа Коваленко М. Г. представляет собой важное, интересное и профессионально выполненное исследование, соответствующее статусу научно-квалификационного труда с явными отправными точками для дальнейшего планирования научной работы, и её (диссертацию) следует охарактеризовать положительно, а диссертанта – как современного ученого энтомолога, вдумчивого, внимательного и широко эрудированного исследователя (теоретика и практика) в области систематики, таксономии, географии насекомых. Вся диссертация – и том № 1 и № 2 – грамотно структурирована, тщательно выверена, написана настоящим научным языком и читается с большим интересом и вызывает неподдельное восхищение новизной взглядов и детальным обоснованием полученных результатов.

Вопросы и замечания по содержанию диссертации: в целом по структуре и содержанию диссертационной работы принципиальных замечаний нет, вместе с тем у оппонента имеется ряд замечаний и вопросов:

1. В заявленной цели работы (стр. 4) диссертанту следовало было исключить использование слова «изучение», т.к. это процесс, который постоянно находится в динамике;
2. Положение № 2 (стр. 9) полностью повторяется в Выводе № 2 (стр. 259), что не допускается, т.к. именно вывод должен доказывать выдвинутое положение полученными результатами, а не постулировать его;
3. В Главе 3 на рис. 3.21 (стр. 74) следовало указать по какому автору была использована прилагаемая схема хетотаксии;

4. В Главе 4 (стр. 77, абз. 1) указывается использование для исследований особенностей работы генитальных структур пары *M. Menetriesi*. Использовалась для изучения только одна пара особей или было собрано несколько таких пар вида? Если одна, то достаточно ли такого объема материала для детального исследования и получения адекватных результатов для их дальнейшей интерпретации?
5. В Главе 7 автору следовало указать редкие виды шашечниц исследованного подрода, которые требуют особого внимания и их следовало бы внести в региональные Красные книги и/или РФ;
6. В Выводе № 4 (стр. 259) следовало заменить слово «стадия» на «форму» яйца, что, собственно, и подразумевалось диссертантом. Стадия – это процесс развития и в данном контексте не может выступать в качестве диагностического признака;
7. В Списке литературы следовало давать полное название журналов (№№ 46, 72, 73, 11, 120 и др.).

Других замечаний у оппонента нет, и я уверен, что на все сделанные замечания по тексту диссертации смогу получить от автора правомерные и разъясняющие ответы.

Поставленные вопросы и сделанные замечания не снижают научной ценности проведенной диссертантом работы.

Заключение.

Диссертация отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В. Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует специальности 1.5.14 – Энтомология (по биологическим наукам), а также критериям, определенным п.п. 2.1-2.5 «Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М. В. Ломоносова». Диссертационная работа оформлена согласно требованиям «Положения о совете по защите диссертаций на соискание

ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова».

Таким образом, соискатель Коваленко Маргарита Григорьевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.14 – Энтомология.

Официальный оппонент:

Аникин Василий Викторович
доктор биологических наук, профессор,
заведующий кафедрой
ФГБОУ ВО «Саратовский
национальный исследовательский государственный
университет имени Н.Г. Чернышевского»,
410012, г. Саратов, ул. Астраханская, 83, корпус 5
Биологический факультет

Контактные данные:

Телефон: +7 8452 23-11-11

Электронная почта: v.a.nikin@yandex.ru

1

24 сентября 2024 г.

Специальность, по которой официальным оппонентом
защищена диссертация:

1.5.14 – Энтомология

1.5.15 – Экология (Биология)