

Отзыв

официального оппонента на диссертацию

Юзефовича Александра Павловича на тему

«Систематика и границы таксонов листоносов семейства *Hipposideridae* (*Hipposideros* Gray, 1831 и близкие роды)», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.12. Зоология

Актуальность избранной темы.

Диссертационная работа А.П. Юзефовича посвящена анализу систематики и границ таксонов листоносов Старого Света сем. *Hipposideridae* (отр. *Chiroptera*, *Mammalia*) с помощью главным образом молекулярно-генетических методов, но с учётом анализа собственных и литературных данных о морфологии, анатомии, акустике и экологии представителей группы. Тема представляется актуальной, поскольку в сложном для анализа отряде рукокрылых выбранное в качестве объекта семейство – одна из таксономических групп со сложной систематикой. Филогения листоносов до сих пор противоречива и остаётся до конца неразрешённой по настоящее время, несмотря на значительные усилия, предпринятые в предшествующих исследованиях. Очевидно, что предлагаемые в данной диссертации подходы требующей приложения современных молекулярных технологий, существенно расширяют существующие представления об эволюционной истории, филогении и филогеографии сем. *Hipposideridae*, важной в экологическом отношении, при этом характеризующейся ограниченной применимостью морфологических критериев разграничения видов и слабой эффективностью использования традиционных признаков фенотипа для реконструкции их эволюционных взаимоотношений.

Поставленные задачи адекватны для достижения цели работы – установления филогенетических связей и проведения таксономической ревизии азиатских представителей семейства *Hipposideridae*.

Научная новизна.

Научная новизна исследования обеспечивается широким охватом

собственными сборами образцов и привлечением музейного материала с обширной территории Юго-Восточной Азии, а также представленностью среди объектов исследования видов нескольких родов и экологических групп; впервые также использован для анализа филогении набор из нескольких классов информативных молекулярно-генетических маркеров. Методы анализа ДНК основаны на секвенировании как митохондриальных, так и ядерных ПЦР-амплифицированных фрагментов ДНК. Использование в работе репрезентативного материала, сравнение и обсуждение полученных данных по разным классам маркеров и предложенные автором реконструкции эволюционных сценариев являются приоритетными. В результате впервые проведена наиболее подробная на данный момент ревизия азиатских представителей листоносов Старого Света, предложена новая система групп видов р. *Hipposideros*. Впервые обсуждаются выявленные морфологические параллелизмы и интрогрессия мтДНК.

Структура работы.

Диссертация построена по традиционному плану и содержит следующие разделы: «Оглавление», «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы», «Результаты», «Обсуждение», «Заключение», «Выводы», «Благодарности», «Список литературы» из 193 источника, 3 из которых опубликованы на русском языке, и Приложений. В Приложения выделены частные филогенетические реконструкции по отдельным генам, описание использованных образцов и матрицы генетических дистанций. Работа изложена на 178 страницах (из них 156 страниц основного текста), содержит 11 таблиц (6 в основном тексте и 70 рисунков (54 в основном тексте)).

Введение включает представление автором актуальности, новизны, теоретической и практической значимости работы, формулировки цели и задач исследования, положений, выносимых на защиту, изложение методологии и методов. Описан личный вклад соискателя, степень достоверности результатов, результаты апробации работы.

Обзор литературы (Глава 1) логично организован, имеет близкий к оптимальному объём и насыщен информацией, содержит обзор всех основных

публикаций, относящихся к теме работы и их анализ. Автор освещает современные взгляды на систематику рукокрылых и место в ней листоносов Старого Света. Приводится подробное описание современного разнообразия, распространения и особенностей биологии представителей семейства *Hipposideridae*. Освещаются морфологические особенности листоносов и их ближайших родственных таксонов, при этом приведены профессионально выполненные оригинальные авторские рисунки голов и элементов носовых листков представителей разных видов, что даёт расширенное представление о функционировании этих систем у *Hipposideridae*. Даются представления об особенностях эхолокации (постоянно-частотной) и охотничьих стратегий. Наиболее подробно приведены сведения о таксономическом разнообразии и истории изучения систематики группы, включая обзор ревизий рода *Hipposideros* на основании морфологических, морфометрических, палеонтологических и молекулярно-генетических данных, а также экологических особенностей различных видов р. *Hipposideros*. Для азиатских групп видов *Hipposideros* в том числе обсуждается наличие криптического разнообразия и возникающие многочисленные случаи спорного таксономического статуса отдельных видов и видовых комплексов.

Глава 2. Материал диссертационной работы представляет собой 122 экземпляра 22 видов трёх родов листоносов Старого Света, это образцы из коллекции Зоологического музея МГУ им. М.В. Ломоносова, собранные из 29 локалитетов Юго-Восточной Азии (Вьетнама, Таиланда, Мьянмы, Индонезии), а также Африки (Эфиопии и Экваториальной Гвинеи). В значительной мере автор является и коллектором использованных образцов (38 экз.), приняв участие в 15 экспедициях во Вьетнам.

В ходе исследования получено 647 нуклеотидных последовательностей семи ядерных и двух митохондриальных фрагментов, этот материал следует признать репрезентативным для решения поставленных задач. Дополнительно для сравнительного анализа привлечены сиквенсы ядерных и митохондриальных генов из GenBank.

Методология и методы. Выбранные методы отличает взвешенный

сбалансированный подход. Хотя основную роль играют молекулярные маркеры, основанные на секвенировании фрагментов мтДНК и ядерных генов. Описаны с подробностью, достаточной для воспроизведения, процедуры выделения ДНК, ПЦР-амплификации со специфическими праймерами (при этом целый ряд праймеров оригинальные, разработанные автором), секвенирования по Сэнгеру. Описаны также достаточно детально методы анализа данных, от выравнивания последовательностей до выбора моделей молекулярной эволюции и построения деревьев. Для объединения деревьев по нескольким генам использованы современные алгоритмы для среды R. Выбор модели для оценки времени дивергенции («Random local clock»), как и калибровочных точек датировки, также адекватен задачам. Молекулярные методы удачно дополнены сравнительным анализом морфоанатомических структур (краниума, носовых листков и бакулумов), механизмов эхолокации и экологических особенностей таксонов.

В Главе 4 представлены Результаты собственных исследований. Раздел 4.1 посвящён филогенетическим взаимоотношениям рр. *Hipposideros* и *Aselliscus*, внутри р. *Hipposideros*. Филогенетические деревья оригинальны, вносят существенный вклад в понимание эволюции и систематики, особенно информативным выглядит продукт комбинирования метода конкатенированных последовательностей и объединения топологий (MRP и ASTRAL), на MRP дереве по сиквенсам семи ядерных генов все узлы имеют впечатляющую поддержку 100.

В разделе 4.2 приводятся результаты анализа структуры взаимоотношений «мелких» листоносов по разным наборам молекулярных маркеров и морфологии. В разделе 4.3 аналогичный анализ для «крупных» листоносов.

Следует позитивно отметить проведённый автором анализ времени дивергенции таксонов (4.4).

Последующие разделы посвящены анализу строения носовых листков и эхолокации представителей азиатских листоносов.

Глава 5 представляет собой достаточно обширное и глубокое Обсуждение результатов, содержащее немало примеров аналитического подхода и

сопоставления оригинальных данных с ранее полученными и опубликованными в мировой научной литературе. При рассмотрении систематики на уровне видов внутри *Hipposideros* автором отмечается тенденция к отказу от подродовой системы в пользу групп видов, что лучше согласуется с дискуссионной ситуацией в таксономии рода. Фактически вся рассмотренная сумма накопленных данных позволила автору провести таксономическую ревизию изученной группы рукокрылых.

Несмотря на общую высокую оценку работы, следует сделать некоторые замечания.

Замечания по обзору литературы. На заимствованном из Taylor, 2019 рисунке с картой распространения семейства представлены только 4 вида из семи обсуждаемых в тексте.

В работе цитируется всего три источника на русском языке, что, возможно, отражает истинную картину соотношения существенных публикаций по предмету исследования на русском и английском по рассматриваемой группе. Однако, выражу свою частную точку зрения, что привлечение данных для сравнительного анализа структуры генетической изменчивости тропических листоносов и бореальных рукокрылых с территории России и сопредельных стран могло бы украсить работу. Кроме того, следовало бы в конце обзора не обрывать его на частных замечаниях, а дать какую-то интегральную характеристику состояния исследуемого вопроса, высветить «белые пятна», что подчеркнуло бы новизну и актуальность собственного исследования.

Не освещаются в работе и вопросы важности изучения рукокрылых, в частности листоносов, для профилактики зоонозных инфекций (а ведь именно их родственники подковоносы оказались одним из важных звеньев недавно разразившейся вирусной пандемии).

По методической части работы – на фоне подробно представленных технологий молекулярно-генетического анализа практически не описаны методы морфологического анализа и эхолокации (анализа сонограмм), что затрудняет восприятие значительной части работы, поскольку выводы основаны на всех методических составляющих, а не только на анализе последовательностей ДНК.

Использование для анализа морфологии «пабликов» типа iNaturalist допустимо в рамках расширения кругозора и заполнения в собственном сознании «белых пятен» относительно внешнего вида объектов исследования, но едва ли может быть признано частью научного подхода к анализу морфологии объектов животного мира.

По обзору и обсуждению - гибридогенное видообразование и сетчатая эволюция, на мой взгляд, несколько недооценены, в том смысле, что им не придаётся роль системного фактора эволюции рассматриваемой группы. Автор чаще концентрируется на чисто дивергентных сценариях эволюции и не всегда рассматривает в качестве одной из причин несогласованности топологий деревьев ретикулярные сценарии, которые со времени выхода статей Дж. Маллета (Mallet J. 2005. Hybridization as an invasion of the genome. Trends Ecol. Evol.; Mallet J. 2008. Hybridization, ecological races and the nature of species: empirical evidence for the ease of speciation. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.; Xiong, T., & Mallet, J. 2022. On the impermanence of species: the collapse of genetic incompatibilities in hybridizing populations. Evolution и многие другие) привели к формированию новой парадигмы в понимании сущности биологического вида, которую всё труднее стало не замечать, в том числе потому, что это влияет на оценку эволюционных сценариев. Наряду с недостаточной информативностью тех или иных маркеров, не вполне корректных методов объединения деревьев по разным маркерам, или же подверженности каких-то участков ДНК естественному отбору гибридизация с сопутствующей ей интрогрессией сейчас признаётся одним из наиболее частых механизмов видообразования, в результате чего часто получаются неконгруэнтные топологии по разным маркерам. Если же в этом смысле рукокрылые вообще или листоносы Старого Света по каким-то причинам являются исключением, это так же интересно и заслуживало бы отдельного обсуждения. В работе достаточно много упоминаний митохондриальной интрогрессии, например, в 2.4.1 и 5.4.3 обсуждается возможность интрогрессии между *H. pendleburyi* и *H. armiger* (с. 43); в разделе 5.4.1 интрогрессия мтДНК упомянута в контексте эволюции группы видов подрода *Gloionycteris* (с. 113) и группы видов "alongensis" (с. 118) и "swinhoë"; кроме того, в подразделе 5.6.3 (с. 131) упомянуты эти проблемы при обсуждении статуса *H. gentilis*. Однако, даже

несмотря на упоминание ретикулярных процессов в одном из Положений, выносимых на защиту, общего заключения о роли гибридного видообразования у *Hirposideridae* и механизмах, существенно дополняющих чисто дивергентные эволюционные сценарии и включённых в Выводы, на мой взгляд, в диссертации не хватает.

Трудно понять, почему, по какой традиции, род *Rhinonictaris* пишется иначе (через «i»), являясь, очевидно, типовым для сем. *Rhinonycteridae*. В частности, два различных написания названия рода можно найти на сс. 33-34.

Нумерация рисунков и таблиц Приложения в традиционном варианте оформления диссертации более принята не сквозная с основным текстом, как оригинально сделано в данной диссертации, а отдельная, они приводятся обычно как таблицы и рисунки Приложения. Из-за сквозной нумерации ссылки на рисунки идут в тексте часто не по порядку их номеров, что затрудняет восприятие изложения содержания работы.

На с. 66 есть ссылка на рис. 65 (Приложение), однако по тексту речь идёт об объединении топологий частных деревьев, а на упомянутом рисунке представлены данные по одному гену *RAG2*.

Ссылки в тексте на таблицы 2-4 (раздел 3 - Материалы и методы) не обнаруживаются.

В работе нет прямых ссылок на референсные номера полученных в ходе исследования и депонированных в NCBI GenBank последовательностей, так что для их поиска в случае необходимости придётся прибегать к статьям автора.

Содержание и стиль раздела 4 (Результаты) частично включает в себя элементы Обсуждения.

В Результатах или связанных с соответствующими разделами Приложениях было бы уместно привести медианные сети гаплотипов, которые наглядно представляют взаимоотношения между последовательностями ДНК.

На с.80 слово «миоцен» написано с заглавной буквы («Миоцен»), что не принято в русском языке.

В работе допущен значительный ряд опечаток и несогласованных

предложений (напр., с. 26 – «и в палеарктической частях Северной Африки...»). Встречаются (и не единично) неразделённые пробелами слова (вероятно, из-за несоответствия версий применявшихся текстовых редакторов, но впоследствии не «вычищенные» автором).

Сделанные замечания не являются критичными и не снижают общей высокой оценки представленной диссертационной работы.

Степень обоснованности и достоверности положений, выносимых на защиту, научных выводов и рекомендаций

Достоверность полученных в рассматриваемой работе результатов обеспечивается большим объёмом оригинальных данных и грамотно проведённым сравнительным анализом результатов с имеющимися в мировой научной литературе сведениями. Списки исследованных таксонов и выборки репрезентативны и позволили решить поставленные задачи. Методы современны, описания лабораторных процедур и филогенетического анализа даны достаточно подробно и гарантируют воспроизводимость. Полученные генетические данные в виде последовательностей ДНК депонированы в открытых базах данных Genbank и BoldSystems. Использование современных методов анализа гарантирует корректность интерпретации результатов и сделанных выводов. Результаты работы опубликованы в пяти статьях в рецензируемых журналах, индексируемых в базах данных Web of Science, Scopus и RSCI (входящих в «белый список»), в том числе две публикации в журналах с достаточно высоким рейтингом: Diversity (SJR – Q1; WoS- Q3) и Zootaxa (SJR – Q2; WoS – Q3) и апробированы на ведущих профильных научных конференциях.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертация А.П. Юзефовича отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В. Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует специальности 1.5.12 Зоология (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 Юзефович Александр Павлович заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.12. Зоология.

Официальный оппонент:

Политов Дмитрий Владиславович

Доктор биологических наук, главный научный сотрудник, заведующий лабораторией популяционной генетики им. Ю.П. Алтухова

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук (ИОГен РАН)

119991 Москва, ГСП-1, ул. Губкина, 3, Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН

Контактные данные:

Телефон: +

Электронн:

21.03.2025

Специальность, по которой официальным оппонентом защищена диссертация:
1.5.7 генетика

Подпись главного научного сотрудника, заведующего лабораторией популяционной генетики им. Ю.П. Алтухова ИОГен РАН

Политова Дмитрия Владиславовича

удостоверяю:

УЧЕНЫЙ СЕКРЕТАРЬ

Д. Б. И

ГОРЯЧЕВА Ж.И