

## 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

Актуальность темы диссертации не вызывает сомнений в связи с глобальной проблемой сохранения биологического разнообразия. Чёткую таксономическую детерминацию объекта разнообразия следует считать одной из основных задач для решения указанной проблемы. Кроме этого, точная таксономическая идентификация объектов – основа экологических, биогеографических, эволюционных и других исследований в биологии. Диссертационная работа М.Г. Коваленко представляет собой детальное исследование подрода *Mellicta* рода *Melitaea* – одной из самых сложных групп булавоусых чешуекрылых с точки зрения систематики и видовой диагностики. Доказательством этому может служить тот факт, что для 15 видов, включённых в настоящее время в состав подрода, было опубликовано 277 таксонов видовой группы, из которых более 250 являются младшими синонимами.

В работе используется комплексный подход, сочетающий применение морфологических и молекулярно-генетических методов, отдельным пунктом является применение методов электронно-сканирующей микроскопии для изучения преимагинальных стадий. Такой подход заметно повышает значимость данного исследования.

В диссертации используется коллекционный материал, насчитывающий более 1700 экземпляров, каждый из которых был подвергнут препарированию гениталий.

Диссертационная работа изложена на 493 страницах, содержит 275 рисунков (148 в основной части и 127 в приложениях), 12 таблиц (10 в основной части, 2 в приложениях): введение, семь глав с описанием истории изучения шашечниц подрода *Mellicta*, методов и результатов исследования, заключение, выводы, список сокращений и условных обозначений, список литературы, семь приложений. Список литературы содержит 226 источников, 62 – на русском, 164 – на иностранных языках.

Во «Введении» (стр. 5–16) сформулирована актуальность темы, поставлена цель и определены 8 задач, необходимых для ее достижения. Кроме того, в разделе указаны предмет и объект исследования, научная новизна, теоретическое и практическое значение работы, положения, выносимые на защиту (всего их четыре), степень достоверности результатов, личный вклад автора, апробация работы, список публикаций и краткая структура работы.

Первая глава «История изучения шашечниц подрода *Mellicta*» (стр. 17–33) охватывает историю изучения группы и включает четыре раздела: ранний период, первую половину XX века, вторую половину XX века и современный период. Работы, посвященные изучаемой группе, критически проанализированы, и резюмированы достижения и проблемы в исследовании шашечниц подрода *Mellicta*.

Вторая глава «Материалы и методы» (стр. 34–44) посвящена материалам и методам работы. Включает три раздела. В первом разделе указываются регионы сбора материала автором (их двенадцать – от Европы до Дальнего Востока), а также перечисляется список музеев и других научных учреждений, с коллекциями которых работал диссертант (их десять). Далее следует описание методов сбора материала, препарирования гениталий, фотографирования морфологических признаков. Приводятся методы изучения преимагинальных стадий и описывается новый метод окрашивания гусениц и прозрачных генитальных структур фукорцином, разработанный диссертантом с соавторами. В конце раздела указываются методы обработки морфологических данных и объем исследованного материала. Второй раздел включает методы молеку-

лярно-генетических исследований. В разделе подробно описаны методики выделения, амплификации и секвенирования ДНК, а также методы обработки данных. Для филогенетического анализа использовались три метода: Байесовский подход, метод максимального сходства и метод максимального правдоподобия. В третьем разделе освещаются принципы делимитации видов, применяемые в диссертации.

В третьей главе «Общая характеристика подрода *Mellicta* и его отличия от других представителей Melitaeini» (стр. 45–76) автор касается общей характеристике группы. Глава включает 4 раздела. В первом разделе рассматривается систематическое положение подрода *Mellicta* и обсуждаются признаки других групп палеарктических шашечниц. Обсуждения сопровождаются иллюстрациями. Во втором разделе приводится характеристика полового аппарата подрода *Mellicta*, в третьем – окраски крыла, в четвертом рассматриваются преимагинальные стадии. Четвертый раздел содержит подразделы, посвященные различным стадиям. В первом подразделе описываются яйца и приводятся фотографии яиц подрода *Mellicta* и других групп палеарктических шашечниц. Во втором подразделе приводится хетотаксия гусеницы первого возраста подрода *Mellicta*. Все щетинки обозначены на фотографиях, сделанных при помощи электронно-сканирующей микроскопии. Наряду с хетотаксией, обозначенной на фото, приведена общая схема хетотаксии. В третьем подразделе даются фотографии и описание куколки подрода *Mellicta*.

В четвертой главе «Функциональное значение и эволюционные преобразования генитальных структур шашечниц подрода *Mellicta*» (стр. 77–105) диссертант рассматривает функциональное значение и эволюционные преобразования гениталий в роде *Melitaea*. Важным аспектом является впервые установленное взаимодействие гениталий при спаривании у шашечниц. Взаимодействие проиллюстрировано как фотографиями, так и схемами. Глава содержит 5 разделов, посвященных различным генитальным структурам. Показано, что структуры, взаимодействующие при спаривании со структурами противоположного пола, обладают высоким диагностическим значением,

невзаимодействующие – слабым. Проиллюстрирована коэволюция генитальных элементов у самцов и самок разных видов. Также продемонстрировано, что при редукции одних элементов гениталий, усиливается развитие других и наоборот. Диссертант предполагает, что важную роль в эволюции полового аппарата подрода *Mellicta* сыграл механизм «замка-и-ключа», и приводит рассуждения о связи разнообразия гениталий со стратегиями репродуктивной изоляции в различных группах чешуекрылых.

Пятая глава «Внутривидовая изменчивость диагностических признаков шашечниц подрода *Mellicta*» (стр. 106–201) посвящена анализу изменчивости диагностических признаков в подроде. Для каждого вида описан характер внутривидовой изменчивости отдельных структур полового аппарата самцов и самок. Для отдельных видов приводится и окраска крыла. Иллюстрации представлены в виде фотографий и рисунков. Для некоторых видов была изучена и внутривидовая изменчивость. В данной главе также обсуждаются таксономические статусы спорных представителей подрода. Представлены четкие морфологические отличия *Melitaea distans*, который ранее трактовался как подвид *Melitaea aurelia*. Показана внутривидовая изменчивость сложнейшего таксона *Melitaea menetriesi*, и предложено рассматривать его внутривидовые таксоны, которые иногда трактуются как разные виды, в качестве единого комплексного вида. Таксон *Melitaea rhea* предложено рассматривать в качестве подвида *Melitaea rebeli*.

В шестой главе «Филогения подрода *Mellicta*» (стр. 202–234) диссертант рассматривает вопросы филогенетическим взаимоотношениям видов подрода. Глава включает два раздела. Первый раздел посвящен делению на видовые группы внутри подрода. Диссертантом показано, что выделенные три группы на основе морфологии имеют надежную поддержку молекулярно-генетическими методами. Важно отметить, что на уровне видовых групп различаются и яйца: для каждой группы характерна своя форма. Второй раздел посвящен возможностям применения молекулярно-генетических методов для видовой диагностики в подроде *Mellicta*. Диссертантом показано в целом

успешное применение для этих целей метода сравнения баркодов COI. Важно отметить, что большинство широко распространенных видов представлено в работе популяциями из различных регионов их ареалов. Особенно стоит выделить трансевразийский вид *M. britomartis*: в диссертации использованы его баркоды от Европы до Дальнего Востока. Ограничения применения этого метода для видовой идентификации наблюдаются у парапатрических видов *Melitaea menetriesi* и *Melitaea aurelia* в зоне контакта и на сопредельных территориях, где диссертант предполагает интрогрессию между ними. В качестве дополнительного молекулярно-генетического маркера к этим таксонам диссертантом был привлечен фрагмент ядерного гена 18S рРНК. Особи этих двух видов, не показавшие (или показавшие крайне слабые) отличия по COI, четко разделились на две монофилетические группы по ядерному гену. Это говорит о перспективности использования данного гена в качестве дополнительного маркера для решения сложных вопросов в группе.

Седьмая глава «Биология и распространение шашечниц подрода *Mellicta*» (стр. 235–256) касается биологии преимагинальных стадий и распространения шашечниц подрода *Mellicta* и состоит из двух разделов. Первый раздел главы включает анализ трофических связей подрода. Для группы установлено 24 рода кормовых растений, относящихся к восьми семействам. В разделе приведена сводная таблица по кормовым растениям с указанием регионов и ссылками на литературные источники. Второй раздел главы посвящен анализу географического распространения и экологическим особенностям подрода. Раздел начинается с обсуждения оригинальных данных, полученных в ходе работы. Подробно рассказывается об истории описания таксона *Melitaea aurelia distans*, с которой связана неверная трактовка его типового местонахождения как территории Юго-Восточного Казахстана. Диссертантом исследованы экспедиционные отчеты сборщика типовой серии, на основании которых выявлено точное место сбора голотипа, лежащее у устья р. Кок-Терек в Северо-Западном Китае. Кроме того, автором были установлены и другие точки сбора этого локального и малоизученного таксона. Также диссертан-

том была выявлена неизвестная ранее часть ареала *Melitaea ambigua*, расположенная в Северо-Восточной Якутии и лежащая в сильной изоляции от основного ареала. Обнаруженные популяции были описаны диссертантом совместно с научным руководителем как новый подвид *Mellicta ambigua kurmaevi* Kolesnichenko et Bush, 2015. Далее в разделе идет общий анализ географического распространения подрода *Mellicta*, перечисляются типы ареалов, характерные для представителей подрода, указываются предпочитаемые высоты, биотопы и сроки лёта. Обсуждаемые данные основаны на комплексном анализе литературы, собственных наблюдений, а также этикеток коллекционных экземпляров. Все сведения собраны в обобщающую таблицу. Выявлено два центра видового разнообразия подрода – Альпы и Алтае-Саянская горная страна. Диссертантом также показано, что выделенные на основе морфологии и генетики видовые группы имеют свои экологические и зоогеографические особенности.

В «Заключении» (стр. 257–258) подчеркивается согласованность результатов морфологического и молекулярно-генетического анализов применительно к систематике и видовой диагностике шашечниц подрода *Mellicta*. Отмечается перспективность использования фрагмента ядерного гена 18S рРНК в случаях, когда не работает фрагмент митохондриального гена COI. Обсуждаются дальнейшие перспективные направления разработки данной темы.

После заключения приводятся 8 выводов (стр. 258–260), которые отражают основные положения диссертации. Далее идет список сокращений, использованных в работе. Завершается основная часть диссертации списком литературы, который содержит 226 источников, из которых 62 на русском, 164 – на иностранных языках.

Второй том изложен на 208 страницах и включает 7 приложений.

В Приложении А приведены данные этикеток всех исследованных экземпляров с указанием мест хранения. В Приложении Б представлены ряды внутривидовой изменчивости генитальных структур, выполненные путем зарисовки. Приложение В содержит определительные ключи шашеч-

ниц изучаемой группы по самцам и самкам. Приложение Г включает морфологические описания яиц всех изученных видов, а также объем изученного материала и этикеточные данные. В Приложении Д представлен 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 видов подрода по данным баркодинга, построенные при помощи дополнительных методов (ближайшей экономии и максимального сходства).

#### Замечания по диссертационной работе в целом

Диссертант проигнорировал работу А.А. Ластухина (2003): «Taxonomic notes of the genus *Mellicta* Bilberg, 1820 (Melitaeinae, Nymphalidae)», в которой, на основе морфологии гениталий и внешнего вида разделяет род *Mellicta* (в понимании Ластухина) на три подрода и семь секций.

Кроме этого, следует указать на следующие замечания, носящие исключительно редакционный характер:

1). Целью работы не может быть «изучение», что является процессом. Цель это конечный результат и должна отвечать на вопрос «Что хочу сделать?»

2). Неудобство вызывает разнообразие цитирования литературных источников в «Списке литературы» (стр. 264–285), где в одних случаях название журнала приведено полностью, а в других – в сокращённом виде.

3). Ссылку на «WFO Plant List» в списке литературы следует перенести с № 3 (буква «Б») в конец списка в место с буквой «W».

#### Заключение

В целом по уровню обобщения и теоретического осмысления представленных материалов диссертационная работы М.Г. Коваленко является крупным научным исследованием и важным вкладом в познание дневных чешуекрылых Палеарктики. Впервые изучено взаимодействие гениталий шашеч-

ниц во время спаривания и определены функции их генитальных структур. На этом основании в сочетании с тщательным сравнительно-морфологическим анализом гениталий выдвинуты предположения о закономерностях эволюционных преобразований полового аппарата в данной группе. Изучена внутривидовая изменчивость полового аппарата самцов и самок, стабильность диагностических признаков проверена на обширном материале. Впервые разработана полноценная видовая идентификация группы по самкам и для ряда видов впервые приведено изображение полового аппарата. Составлены определительные ключи для идентификации самцов и самок всего подрода. Впервые осуществлено изучение яиц шашечниц подрода *Mellicta* при помощи электронно-сканирующей микроскопии. Решены спорные вопросы, касающиеся таксономического статуса и идентификации типовых мест отдельных представителей подрода *Mellicta*. Обобщены и проанализированы данные по экологии и географическому распространению шашечниц изучаемой группы. Все эти положения определяют существенное общебиологическое значение работы М.Г. Коваленко. Содержание работы с достаточной полнотой отражено в семи публикациях автора в отечественных и зарубежных изданиях. В автореферате чётко изложены основные положения диссертации, которая 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 М.Г. заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.14 – Энтомология.



Официальный оппонент:

Горбунов Олег Григорьевич

доктор биологических наук,

ведущий научный сотрудник лаборатории почвенной зоологии и общей энтомологии

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова Российской академии наук (ИПЭЭ РАН)

119071, г. Москва, Ленинский проспект, дом 33

Телефон организации: 8 (495) 633-09-22

Контактные данные:

Телефон:

Электронная почта:

Специальность, по которой официальным оппонентом защищена диссертация: 03.00.09 – Энтомология

11 сентября 2024 г.

О.Г. Горбунов