

Отзыв официального оппонента

на диссертацию Распоповой Александры Андреевны

на тему «**Эволюционная история видовой группы**

***Sorex araneus* s.l. и филогеография *S. araneus* s.str.**»,

представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук

по специальности 1.5.12. Зоология

Актуальность темы диссертационного исследования

Обыкновенная бурозубка – это уникальная биологическая модель. Эти звери населяют обширный ареал и обладают и впечатляющим хромосомным полиморфизмом (доказано наличие у бурозубок нескольких десятков хромосомных рас), как считается, в результате быстрой и недавней эволюционной радиации. Благодаря этому группа «*araneus*» стала объектом цитогенетических и молекулярно-генетических исследований. Множество работ, охватывающих широкий таксономический и географический диапазон и использующих разнообразные генетические маркеры, показали, что хромосомная и митохондриальная эволюция в данной группе представляют собой независимые процессы. Научное сообщество десятилетиями исследует это эволюционное явление, но до настоящего времени не было объяснения несоответствия разных филогений и вообще убедительной системы, построенной с хорошей долей достоверности. Таким образом, работа весьма актуальна и представляет несомненный фундаментальный и методический научный интерес.

Научная новизна представленной работы

В диссертации Александры Андреевны представлена уникальная по своей полноте и методической мощности филогения *Sorex araneus* (как группы видов, в широком смысле, так и вида узком смысле), полученная на основе 20 ядерных и двух митохондриальных маркеров, а также геномных данных, полученных популярным методом секвенирования нового поколения, RADseq. Последний метод применен для данных животных впервые в мире, полученные данные по однонуклеотидному

полиморфизму (SNP) сопоставлены с расширенными данными по мтДНК (в том числе, были использованы 12 белоккодирующих генов из расшифрованных полных митохондриальных геномов). Использование большого количества ядерных локусов позволило получить разрешенную топологию группы “*araneus*”, что ранее не удавалось ни на основе митохондриальных, ни на основе ограниченного числа ядерных маркеров. Построен сценарий формирования современного ареала *S. araneus* за счет расселения из ледникового рефугиума, показаны несоответствия между генетической структурой и делением на хромосомные расы. Доказано существование гибридизации (так называемых «ретикулярных процессов»), затронувшей три вида группы *S. araneus*, *S. satunini* и *S. daphaenodon*).

Все последовательности, полученные автором диссертации, опубликованы в международной базе данных GenBank.

Оценка обоснованности полученных результатов и выводов, сформулированных в диссертации

Работа выполнена на более, чем обширном фактическом материале нескольких музеев и коллекции тканей кабинета молекулярной зоологии кафедры зоологии позвоночных Биологического факультета МГУ. Широкий ареал группы представлен более чем убедительно: 120 локалитетов для обыкновенной бурозубки и из 23 локалитета для близких видов группы. Все этапы работы проведены лично автором работы или с его активным участием.

В работу вошла 981 последовательность митохондриального гена *cytb* (из них 247 оригинальных), 135 оригинальных последовательностей митохондриального гена *ND2*. Мультилокусное секвенирование по Сэнгеру проведено для 20 ядерных маркеров (из них 11 экзонов и 9 интронов) В общей сложности было использовано 533 последовательности, 433 из которых оригинальные. Секвенирование нового поколения методом Rad-seq проведено для 59 образцов *S. araneus* из 22 локалитетов и 20 образцов других видов группы «*araneus*», получено около 700 млн чтений.

Тема работы десятилетиями не имела решения, однако автор диссертации сумел не только собрать уникальный материал, но и получить от него максимум полезной

информации, в процессе чего продемонстрировал блестящее владение как лабораторными методами, так и исчерпывающим арсеналом специальных компьютерных программ и статистических тестов. Учитывая высочайший уровень теоретической проработки поставленных в работе вопросов и осмысления полученных результатов, не вызывает сомнений, что выводы логично следуют из результатов, они полностью соответствуют цели и задачам.

Теоретическое и практическое значение научных результатов

Результаты представляют большой интерес для специалистов в области исследования биологической эволюции, видообразования и фауистики. Целесообразно использовать данные в лекционных и практических курсах и программах по сохранению биоразнообразия. Поскольку буроzubки имеют широкий ареал и участвуют в циркуляции таких опасных для человека природно-очаговых инфекций как иксодовый клещевой боррелиоз, понимание структуры вида и видовых границ крайне важно.

Структура и содержание диссертационной работы

Текст диссертации Александры Андреевны изложен на 254 страницах и имеет традиционную состоит из Введения, пяти глав: «Обзор литературы», «Материалы и методы», в двух главах представлены «Результаты», «Обсуждение», далее следуют Заключение, Выводы, Список литературы и девять Приложений, занимающих 95 страниц. Список литературы включает 239 источников. В основном тексте работы содержится 34 рисунка и 9 таблиц. В секцию Приложения помещены еще 4 рисунка и 9 таблиц.

ВОПРОСЫ И КОММЕНТАРИИ К ДИССЕРТАЦИИ

На стр. 48 сказано, что «В качестве внешней группы использовали 28 последовательностей cyt b 4 видов р. *Sorex* других видовых групп...»

По какой причине потребовалось так много внешних групп?

Стр. 48. Как можно объяснить настолько значительную разницу в числе полученных RAD-seq прочтений на образец (на два порядка, от 180 тысяч до 36 млн)?

Для понимания весомости результатов ядерной филогении стоило при перечислении использованных геномных маркеров указать их длины в главе Методы. Для 21 геномного маркера длины указаны в Приложении (Таблица П3.2., стр. 187). Но поскольку ND2 не участвовал в филогенетическом анализе для группы «araneus», его длина в работе не фигурирует нигде. Судя по значениям из таблицы, суммарная длина 20 ядерных маркеров получилась 13272 п.н., хотя единственное упоминание длины конкатената встречается на стр. 119, автор коротко пишет о 13084 пар нуклеотидов ядерного выравнивания.

Из главы Методы (стр. 47) мы узнали, что для анализа данных секвенирования нового поколения методом RAD-seq автор создал 4 отдельные выборки однонуклеотидных полиморфизмов (SNP). Детально описан принцип выбора «...все SNP, представленные у 95% образцов выборки (95all), заведомо несцепленные SNP представленные у 95% образцов выборки (95ul), все SNP, представленные у 75% образцов выборки (75all), заведомо несцепленные SNP представленные у 75% образцов выборки (75ul).»

Однако большинство результатов показаны только для одного из четырех вариантов.

Например, Рис. 4.7. Филогенетическое дерево популяционного уровня получено на основе матрицы SNP 75ul.

Рис.4.8. Филогенетическая сеть, построенная методом Neighbour-Net на основе матрицы 75all.

Таблица 4.2. Параметры разнообразия по данным SNP рассчитаны на основании матриц 95ul.

Таблица 4.4. Результаты AMOVA получены на основании матрицы SNP 75ul.

Таблица 4.7. Показывает результаты теста Таджимы, выполненного на основе SNP-матрицы 95all.

При этом, например, NJ дерево на Рис. 4.6 рассчитано на основании трех (но не четырех) матриц SNP (95all, 75all, 75ul).

Поясните принцип использования этих четырех выборок.

Текст в целом оформлен хорошо и аккуратно, но не лишен редакторских недочетов

Отсутствует единообразие при использовании разделительного знака, следовало использовать или точку, или запятую.

На Рис. 3.9 нет подписей на осях.

Рис. 4.1 стоило привести крупнее, в таком виде он плохо читается.

Рис. 4.2 Медианная сеть гаплотипов - Было бы полезно отобразить нуклеотидные замены, как это реализовано на Рис. 4.4. Плохо читаются оси.

Расшифровка аббревиатур должны быть приведена при первом упоминании термина, а не в обсуждении на стр. 130, как произошло с временем существования последнего общего предка (TMRCA).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Вместе с тем, указанные замечания не умаляют значимости диссертационного исследования. Диссертация 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». Диссертационное исследование оформлено 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 Распопова Александра Андреевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.12. Зоология.

Официальный оппонент:

кандидат биологических наук,

научный сотрудник лаборатории механизмов и контроля трансляции

Федерального государственного бюджетного учреждения науки

Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта

Российской академии наук (ИМБ РАН)

Матросова Вера Анатольевна

Контактные данные: Тел.:

Специальность, по которой официальным оппонентом защищена диссертация:
03.02.04 Зоология (2009 год).

Адрес места работы: 119991, г. Москва, ул. Вавилова, д. 32. ИМБ РАН

Тел.: 8(499)135-97-19, e-mail: zkpg@yandex.ru

Подпись сотрудника ИМБ РАН Матросовой Веры Анатольевны удостоверяю:

