Отзыв официального оппонента

на диссертацию Жуковой Светланы Сергеевны на тему

«Систематика и филогенетические взаимоотношения настоящих нетопырей и родственных таксонов (Pipistrellini, Vespertilionidae, Chiroptera)»,

представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.12. Зоология

Актуальность темы диссертационного исследования

Работа представляет не только фундаментальный научный интерес в контексте изучения эволюционной биологии и фаунистики, но также имеет практический смысл, поскольку летучие мыши далеко мигрируют, имеют большую численность и участвуют в циркуляции возбудителей многих заболеваний, в том числе, опасных для человека. Исследование фокусируется на нетопырях в широком смысле, одной из самых экологически успешных групп рукокрылых умеренных и тропических зон Старого Света. Систематика рукокрылых по-прежнему имеет много спорных моментов, это связано с ограниченностью традиционных морфологических подходов и присутствием криптического разнообразия внутри видовых комплексов.

Научная новизна представленной работы

Диссертация Светланы Сергеевны содержит первую современную ревизию всей трибы Pipistrellini с использованием как представительного числа генетических маркеров, так и традиционных морфологических данных (промеров черепа, формы зубного ряда и половой косточки). Все полученные реконструкции поддержали парафилию рода *Pipistrellus* в современном понимании относительно *Glischropus* и *Nyctalus* и указали на необходимость разделения рода *Pipistrellus* на две клады – «восточную» и «западную». Результатом стало уточнение количества и границ родов, входящих в состав трибы, а также дополнение информации о внутриродовой систематике ряда таксонов. С участием автора впервые расшифрован полный митохондриальный геном для вида *Glischropus bucephalus*. Полученный митгеном, также как и часть фрагментов отдельных генов, выложены в базу данных GenBank, что обеспечивает вклад автора в мировую науку. На основании конкатената 12 белок

кодирующих генов впервые были оценены датировки эволюционных событий в трибе Pipistrellini.

Оценка обоснованности полученных результатов и выводов, сформулированных в диссертации

Для выполнения работы был использован солидный фактический материал из коллекции Зоологического Музея МГУ им. М.В. Ломоносова, а также дополнительные оригинальные сборы. Итогом стал крайне широкий охват ареала группы: были исследованы 123 экземпляра, относящихся к 23 видам, из 54 локалитетов Старого Света (из Вьетнама, Израиля, Индонезии, Ирана, Марокко, Мьянмы, Папуа-Новой Гвинеи, России, Таиланда, Таджикистана, Турции и Эфиопии). Автор лично принимал участие в сборах на территории России и одной поездки в Юго-Восточную Азию (Вьетнам и Таиланд). Дополнительные данные (как для отдельных геномных маркеров, так и целые митохондриальные геномы) были извлечены из базы данных GenBank.

Автором был проведен подробный морфологический анализ с зарисовкой в двух плоскостях черепа и зубного ряда 61 экземпляров летучих мышей разных видов, а также исследована и зарисованы морфология бакулюмов 12 видов. Для сравнения использованы промеры большего числа черепов, полученные научной группой ранее.

Мультилокусное секвенирование ДНК особей проведено классическим методом Сэнгера. Результаты получены на основании совокупной изменчивости фрагментов четырех ядерных генов общей длиной 3238 п.н. и фрагментов двух митохондриальных генов общей длиной 1680 п.н. Автор демонстрирует знание современных лабораторных методов и приемов биоинформатического анализа нуклеотидных последовательностей, корректно применяет необходимые программы. Все варианты филогенетического анализа подтвердили предположения об обособленности «восточной» клады нетопырей и ее монофилетическом характере. Этот вывод основан на анализе шести генетических маркеров и полных митогеномов и дополнительное подтвержден морфологией бакулюмов и отчасти строением зубов и черепа. Автор вдумчиво и подробно рассматривает связанные с темой работы фундаментальные вопросы, включая экологические стратегии родов. Выводы следуют из результатов, они соответствуют цели и задачам.

Таким образом автор диссертации удачно объединил классические морфологические методы исследования с современными подходами оценки генетического полиморфизма, грамотно провел обработку полученных данных и всесторонне обсудил собственные результаты в свете имеющегося массива исследований. Все это поднимает систематические выводы работы на самый современный научный уровень.

Теоретическое и практическое значение научных результатов

Результаты представляют несомненный интерес как для специалистов, так и для натуралистов, потому что получены на весьма обширном и представительном материале из естественных мест обитания нетопырей. Результаты морфометрии могут быть использованы при подготовке атласов-определителей, а по генетическому полиморфизму – в лекционных курсах и программах по сохранению биоразнообразия. Отдельно отмечу важность установки видовых границ и ареалов в паразитологических и вирусологических исследованиях.

Структура и содержание диссертационной работы

Диссертация Жуковой Светланы Сергеевны это зрелый фундаментальный труд, изложенный на 230 страницах. Текст разбит на следующие разделы: «Оглавление», «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы», «Результаты», «Обсуждение», «Заключение», «Выводы», «Благодарности», «Список литературы» и «Приложения». В работе содержится 34 рисунка и 24 таблицы.

ВОПРОСЫ И КОММЕНТАРИИ К ДИССЕРТАЦИИ

1. Неточность формулировок

Автор по всему тексту работы допускает методическую неточность, называя **генами** их фрагменты. Среди использованных шести геномных маркеров нет ни одного целого гена, даже компактный ген цитохрома б, полная длина которого составляет 1140 п.н., исследован в виде фрагмента длиной 1026 п.н. При этом нигде в тексте работы нет расшифровки, какую именно часть гена брали для анализа – интроны или экзоны, при том, что это существенно влияет на скорость их эволюции. Следовало бы привести эту информацию в разделе «методы».

При сложении указанных длин фрагментов 4 ядерных генов получается длина конкатената получается равная 3238 п.н., а в работе взята немного укороченная версия, 3206 п.н. Вероятно, автор укоротил концы последовательностей для обеспечения единообразия с чужими данными из литературы. Отмечу, однако, из таблицы П13 читатель узнает, что хотя число конкатенатов было не слишком большим, зато каждый был составлен из четырех последовательностей одной конкретной особи, что делает результаты методически чистыми.

В Таблице П13 вместо «Аббревиация» следовало использовать термин «Аббревиатура». Кроме того, в тексте встречаются необоснованные введения аббревиатур. На стр. 39 два сокращения «*(Genetic Species Concept, GSC) от биологической (Biological Species Concept, BSC)*», которые не упоминаются более в тексте. Введенное сокращение на стр.76 *«(protein-coding genes, PCGs)»* используется всего 1 раз и на этой же странице.

На стр. 42. Автор допускает фактическую ошибку «*Однако COI у млекопитающих – короткий (**ок. 600 п. о.**) и гипервариабельный ген*». У большинства эукариот полная длина последовательности этого гена составляет примерно 1500–1600 пар нуклеотидов. При этом для ДНК-штрихкодирования (DNA barcoding) часто используется стандартизированный участок длиной около 600–650 п.

Там же, на с.42 сказано *«к сильным искажениям результатов могут приводить случаи интрогрессии митохондриальных генов между видами (**например**, в результате гибридизации)*». Поясните, результатом каких еще процессов может явиться митохондриальная интрогрессия? *«Случаи гибридизации путём интрогрессии не редки»*. Вероятно, следовало перевернуть это утверждение.

На стр. 64 при описании условий секвенирования по Сэнгеру автор некорректно составила фразу, в итоге модель генетического анализатора *ABI PRISM 3100-Avant* слилась с названием набора для проведения самой реакции секвенирования *BigDye Terminator v. 3.1*, что может запутать читателя, незнакомого с процедурой.

На стр.64 при описании состава ПЦР-реакции вместо внесенных объемов гораздо информативнее указать количество геномной ДНК в нг и количество

праймеров в пикомолях. При описании условий ПЦР нет единообразия, на стр. 65 «синтез», на соседней стр.67 «элонгация».

2. Нарушение оформления

Согласно стандартам оформления (ГОСТ, правила оформления документов) в конце названия таблицы точка не ставится.

Нет единообразия **при использовании разделительного знака**. В тексте все значения даны с разделителем запятой, но во многих таблицах с точкой.

Приложения занимают 73 страницы и содержат большой фактический материал, конечно, представлять его всегда достаточно трудно, но автору следовало уделить больше внимания аккуратности оформления. Часть таблиц в приложениях имеют неудачную верстку. Так у обширной таблицы Табл. П17 последняя строка сместилась на отдельную страницу, таблица П19 «разорвана» пополам, хотя гораздо логичнее было бы дать ее на отдельной странице целиком без разрыва.

Поддержки на дополнительных рисунках с деревьями очень плохо видны, местами не читаются вовсе (Рис. П28-П33).

3. Перегруженность изложения

Обзор литературы мне как читателю кажется несколько перегруженным побочными линиями исследований (разделы «2.2.2. Анализ эхолокационных сигналов» и «2.2.3. Аллозимный электрофорез»). При этом раздел Обзора литературы «2.2.1. Кариологические методы» уместно перекликается с Обсуждением, поскольку число хромосом, известное по литературным данным, включено в «ключи» для разделения родов в Обсуждении (стр. 103-116).

Таблица П15 содержит первичные данные о морфологических промерах, и она без сомнения имеет большую научную ценность. Включение в работу части данных по статистическим результатам (Значения канонических переменных) выглядит целесообразно, но Значения квадратов дистанций Махаланобиса (Табл. П20 и П24) выглядят избыточными и на мой взгляд перегружают текст работы.

Вопросы, на которые хотелось бы услышать ответ автора:

По какой причине для прочтения полного митохондриального генома был выбран именно *Glischropus bucephalus?*

По какому принципу выбирали конкретных особей (представителей вида) для зарисовки бакулюма и исследования зубного ряда?

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 Жукова Светлана Сергеевна 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.

Подпись сотрудника ИМБ РАН Матросовой Веры Анатольевны удостоверяю: