



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

119991, Москва, ГСП-1, ул. Губкина, 3  
Тел.: 499 135-62-13 дирекция, 499 135-20-41 канцелярия  
Факс: 499 132-89-62

E-mail: iogen@vigg.ru  
Internet: www.vigg.ru

№ 12504

На №

« 12 » декабря 2014 г.

«УТВЕРЖДАЮ»

директор ИОГен им. Н.И.Вавилова РАН  
чл.-корр. РАН, профессор  
Янковский Н.К.

**ОТЗЫВ**

ведущей организации на диссертационную работу  
Быкова Романа Андреевича на тему «ДИНАМИКА  
ИНФИЦИРОВАННОСТИ ПРИРОДНЫХ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ  
ПОПУЛЯЦИЙ *DROSOPHILA MELANOGASTER* РАЗНЫМИ ГЕНОТИПАМИ  
ЭНДОСИМБИОНТА *WOLBACHIA*», представленную на соискание ученой  
степени кандидата биологических наук по специальности (03.02.07) «генетика»

**Актуальность исследования.** Диссертация Р.А.Быкова посвящена изучению распространения симбиотической бактерии *Wolbachia* в популяциях и линиях популярного модельного объекта биологических исследований - *Drosophila melanogaster*.

Известно, что этой бактерией заражено не менее 40% видов насекомых, при этом в некоторых популяциях инфицированные особи составляют подавляющее большинство. Как широкое распространение симбионта, так и его разнообразные эффекты – от паразитических до собственно симбиотических, а также в некоторых случаях перенос фрагментов бактериального генома в хромосомы хозяина, все это привлекает большое внимание исследователей в последние два с половиной десятилетия.

В популяциях классического генетического объекта - *Drosophila melanogaster* вольбахия встречается с высокой частотой, при этом симбионт не

оказывает заметного влияния на биологические особенности хозяина. Последнее побуждает выяснять особенности взаимодействия бактерии и хозяина, которые обеспечивают широкое распространение инфекции и ее стабильное сохранение.

В связи с этим Р.А.Быков определил цель своей работы как выяснение распространенности и генетического разнообразия эндосимбиотической бактерии *Wolbachia* в природных популяциях и лабораторных линиях вида-хозяина – *Drosophila melanogaster*, изучение динамики распространения и возможных механизмов поддержания двух наиболее распространенных генотипов *Wolbachia* в экспериментальных популяциях. Соответственно были поставлены следующие конкретные задачи:

1. Оценить концентрацию инфицированных бактериями *Wolbachia* особей в природных популяциях *Drosophila melanogaster* различных регионов Евразии.
2. Определить генотипический состав *Wolbachia* в исследуемых природных популяциях.
3. Установить концентрацию различных митохондриальных гаплотипов в природных популяциях *Drosophila melanogaster* Евразии среди свободных от *Wolbachia* особей.
4. Оценить цитотипическое разнообразие и уровень инфицированности бактерией *Wolbachia* среди мутантных линий *Drosophila melanogaster* фонда лаборатории генетики популяций ИЦиГ СО РАН.
5. Изучить динамику изменения концентраций двух широко распространенных генотипов *Wolbachia* – wMel и wMelCS в экспериментально созданных популяциях *Drosophila melanogaster*.
6. На основании данных, полученных в эксперименте, оценить значения уровня цитоплазматической несовместимости и относительной плодовитости вида-хозяина.

Все поставленные задачи в работе были успешно выполнены.

**Структура диссертационной работы.** Диссертация построена по традиционному плану и содержит следующие разделы: введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты, обсуждение, выводы и список литературы. Работа изложена на 135 страницах, включает 18 рисунков и 10 таблиц. Список цитируемой литературы включает 201 наименование. По материалам диссертации опубликовано 15 работ, из них 3 статьи в журналах, входящих в список ВАК.

В главе Обзор литературы рассмотрена классификация симбиотической бактерии *Wolbachia*, ее распространенность среди видов насекомых и в популяциях дрозофил, влияние симбионта на размножение хозяина и другие

эффекты вольбахии. Затронутые в обзоре литературы вопросы имеют непосредственное отношение к проблематике собственных исследований.

При выполнении работы помимо традиционных методов культивирования дрозофилы, в том числе в виде длительно поддерживаемых экспериментальных популяций, использован для идентификации генотипов вольбахии и митотипов мух молекулярный метод – метод полимеразной цепной реакции со специфическими праймерами.

В первом разделе экспериментальной части диссертации описаны результаты изучения распространения вольбахии в природных популяциях дрозофилы, собранных в различных регионах Евразии (всего 16 популяций), в том числе в популяциях, собранных автором на Алтае, в Кабардино-Балкарии, на Украине, в Египте и в Швеции. Из каждой популяции закладывались изосамочные линии, в которых и изучалось присутствие вольбахии и митотипы мух. Всего было создано и проанализировано 836 изосамочных линий *D. melanogaster*.

Было обнаружено, что вольбахия присутствует во всех популяциях, частота инфицированности колеблется от 33 до 100%, в большинстве случаев выше 50%.

Были изучены генотипы вольбахии, обнаруженной в разных регионах, при этом выявлен генотип, который ранее не был известен - wMel4. Среди незараженных мух были идентифицированы их митотипы; оказалось, что во всех выборках резко преобладает митотип М.

В лаборатории популяционной генетики ИЦИГ СО РАН поддерживается создававшаяся многие годы большая коллекция мутантных линий дрозофилы и линий дикого типа разного происхождения. Эта коллекция также была изучена в отношении ее инфицированности. Были изучены 353 мутантные линии. При этом оказалось, что заражено около 40% линий (результат, который важно учитывать при проведении любых генетических экспериментов) и что среди лабораторных линий (в отличие от природных популяций) преобладает не М, а S-митотип.

Наконец, автор поставил и провел длительный (до 20 поколений) популяционный эксперимент, в ходе которого в 4 вариантах были совмещены в общей культуре линии, различающиеся по зараженности и/или по митотипу. Хотя во всех вариантах наблюдалось четкое изменение соотношения мух разных цитотипов, автор проявляет критичность и большую осторожность в интерпретации наблюдаемой картины. Изменение соотношения цитотипов он приписывает генетическому дрейфу и отрицает кажущееся преимущество одного из двух сравниваемых в каждом варианте цитотипов.

**Научная и теоретическая значимость исследования.** Полученные в ходе работы данные существенно дополняют картину распространенности бактерии *Wolbachia* на евразийском континенте. Внесен существенный вклад в общую картину генетического разнообразия внутриклеточного симбионта *Wolbachia* в природных популяциях *D. melanogaster*.

Диссертация Р.А.Быкова написана ясным языком, хорошо оформлена, практически не содержит опечаток. Выводы, которые делает автор, обоснованы полученными результатами.

Единственное замечание касается формулировки вывода 6. Он составлен в предположительной форме, которая не подходит для выводов:

«Предполагается, что наблюдаемые изменения частот цитотипов в экспериментальных популяциях *D. melanogaster* обусловлены влиянием генетического дрейфа и ЦН... На основании анализа полученных данных *есть основания полагать*, что бактерия не оказывает существенного влияния на репродуктивную функцию...».

Надо также отметить то, что источники в списке литературы оформлены не единообразно.

В целом большая по объему полученных данных, выполненная с использованием современных методов и посвященная актуальной проблеме работа Р.А.Быкова соответствует требованиям к диссертациям, представляемым на соискание ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертационная работа полностью соответствует п. 9 Положения «О порядке присуждения ученых степеней» ВАК Министерства образования и науки РФ (постановление Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор Быков Роман Андреевич заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 03.02.07 – генетика.

Отзыв обсужден и утвержден на заседании Семинара Отдела популяционной генетики и природопользования Федерального государственного бюджетного учреждения Института общей генетики им. Н.И.Вавилова РАН (протокол № 6 от 10 декабря 2014 года).

Докт. биол. н., профессор, член-корреспондент РАН,  
советник РАН, гл. научн.сотрудник ИОГен РАН

Захаров-Гезехус Илья Артемьевич