

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
«ФЕДЕРАЛЬНЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР БИОРАЗНООБРАЗИЯ
НАЗЕМНОЙ БИОТЫ ВОСТОЧНОЙ АЗИИ»
ДАЛЬНЕВОСТОЧНОГО ОТДЕЛЕНИЯ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК
(ФНЦ БИОРАЗНООБРАЗИЯ ДВО РАН)

690022, г. Владивосток, проспект 100-летия Владивостока, 159

тел.: (423) 231-04-10, факс: 231-01-93, e-mail: info@biosoil.ru

«06» 11 2020 г. № 161471 597

"УТВЕРЖДАЮ"

Директор ФНЦ Биоразнообразия ДВО РАН

чл.-корр. РАН  А.А. Гончаров

" 6 " ноября 2020 г.

ОТЗЫВ

ведущей организации на диссертацию И.С. Сухих «ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ВИДОВ САРАНЧОВЫХ СЕМЕЙСТВ ACRIDIDAE И RAMPHAGIDAE НА ОСНОВЕ МИТОХОНДРИАЛЬНЫХ И ЯДЕРНЫХ МАРКЕРОВ», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – генетика

Тема диссертационной работы Сухих И.С. несомненно актуальна. Начиная с конца XIX века классификация надродовых таксонов семейств Acrididae и Pamphagidae претерпевала значительные изменения. До сих пор таксономический статус многих подсемейств, триб и подтриб остается весьма дискуссионным, а их родовой состав нуждается в уточнении. Использование молекулярно-биологических методов, основанных на анализе нуклеотидных последовательностей, позволяет объективно установить филогенетические взаимоотношения между таксонами любого ранга, внести соответствующие изменения в классификацию и лучше понять эволюцию этих насекомых. Целью данной диссертационной работы является изучение филогенетических взаимоотношений видов семейств Acrididae и Pamphagidae, а также их подсемейств и триб, на основе сравнения последовательностей митохондриальной и ядерной ДНК.

Диссертация состоит из введения, трех глав, заключения, выводов и списка литературы. Работа изложена на 100 страницах, содержит 2 таблицы и 16 рисунков. В приложения вынесены 2 таблицы и 4 рисунка.

Во «Введении» (5 стр.) диссертант акцентирует внимание на актуальности, целях и задачах исследования, его научной новизне, положениях, выносимых на защиту, теоретической и практической ценности работы.

Научная новизна. Впервые на основе филогенетического анализа фрагментов трех митохондриальных и одного ядерного семейства Acrididae установлена полифилия для подсемейств Acrididae, Gomphoceridae и Oedipodidae, ранее считавшихся монофилетическими, а также предложена гипотеза о целесообразности выделения двух новых подсемейств из видов полифилетических групп. Впервые в семействе Pamphagidae установлена полифилетическая природа подсемейства Pamphagidae, а также предложены варианты распределения видов данного подсемейства по новым группам (трибы Nocarodeini, Tropidauchenini). На основе сравнения последовательностей митохондриальной и ядерной ДНК подтверждено, что триба Haplotropidini входит в состав подсемейства Thrinchinae, а не Pamphaginae.

В главе 1 «Обзор литературы» (28 стр.) на основе литературных данных обобщены сведения по изучению филогенетических взаимоотношений у саранчовых, выбору филогенетического маркера, построению выравнивания, выбору эволюционной модели, филогенетическому анализу и оценке достоверности. Подробно изложена история классификации семейств Acrididae и Pamphagidae и приводятся сведения по их экологии.

Однако данная глава не лишена недостатков. В главе излишне детализированы этапы филогенетического исследования в целом, что детально описано в справочниках, во всех руководствах к пакетам программного обеспечения и в методиках проведения подобных анализов. Достаточно было бы процитировать данные источники, не переписывая их содержание.

В ряде случаев соискателем даны интерпретации, отличающиеся от общепринятых, и приводятся данные, не соответствующие сути, изложенной в процитированном источнике. Так, Ч. Дарвин никакой схемы, подобной филогенетическому дереву, не предлагал. Единственным рисунком в его работе «Происхождение видов ...» (Darwin, 1859) была схема дивергентного механизма эволюции видов, демонстрирующая расхождение потомков от предка. Первое родословное дерево было построено еще до выхода книги Ч. Дарвина П.С. Палассом, а после выхода книги одним из первых дерева строил Э. Геккель.

Встречаются неудачные формулировки, типа «филогения находит применение ...». Не «филогения находит применение ...», а результаты филогенетических анализов находят применение практически во всех отраслях биологии.

Трудно согласиться с интерпретацией абсолютной значимости молекулярных исследований. В силу большого несоответствия молекулярных филогений, основанных на анализе ограниченного количества целевых фрагментов генома, и устоявшихся представлений об эволюции групп на

основе морфологических и палеонтологических данных, в настоящее время отмечается уход от абсолютизации результатов, полученных исключительно на анализе молекулярных данных. Новое направление интегративной таксономии предполагает комплексный подход с использованием в филогенетическом анализе как молекулярных, так и морфологических, экологических и др. данных, коррелятивный анализ полученных древ и обоснование наиболее надежных узлов филограмм в таксономии той или иной группы.

Отсюда возникает вопрос и к соискателю, что он называет комплексными исследованиями в своей работе, в то время как его работа ограничена анализом только молекулярных данных?

На Рисунке 2 «Основные шаги в молекулярно-филогенетических исследованиях» в последовательности перечисленных этапов очевидным является отсутствие самого главного звена – логический анализ построенной кладограммы. Именно в ходе сопоставления новых реконструкций с ранее предложенными определяется значимость новых построений. Высокая технологичность выполнения молекулярных работ, исключая рутинную работу руками и интеллектуальную работу мозга, в последнее время становится более привлекательной. Не в этом ли истинная причина уменьшения анализов на основе морфологических данных, на чем акцентировано внимание соискателя?

Глава 2 «**Материалы и методы**» изложена на 5 страницах. В главе показано, что тотальная ДНК была выделена из мышечных тканей взрослого насекомого с помощью набора реактивов DNeasy Blood & Tissue Kit (QIAGEN). Были использованы соответствующие праймеры и современная аппаратура, соблюдены условия полимеразной цепной реакции (ПЦР) и электрофоретического разделения фрагментов ДНК. Определение нуклеотидной последовательности проводилось в центре коллективного пользования «Геномика» СО РАН. Для поиска полных нуклеотидных митохондриальных последовательностей, митохондриальных генов COI, COII и CytB, а также ядерного ITS2 видов саранчовых использовалась база данных NCBI GenBank. Построение выравниваний нуклеотидных последовательностей было выполнено с использованием алгоритма MAFFT в программе MAFFT v7.312. Для филогенетического анализа нуклеотидных последовательностей использовались разнообразные программы (IQ-tree, PartitionFinder 2.0, MrBayes 3.2.6 и др.), а для статистической поддержки максимального правдоподобия в программе IQ-Tree были использованы два коэффициента: “SH-like aLRT” (1000 репликаций) и сверхбыстрый бутстреп (“UfBoot”, 1000 репликаций).

Замечания к этой главе: совершенно непонятно, почему сведения по изученному диссертантом материалу вынесены в Приложение в виде таблиц 1 и 2. Именно из этих таблиц следует, что И.С. Сухих выполнил большую экспериментальную работу. Им впервые были установлены и/или уточнены нуклеотидные последовательности для 64 видов семейства Acrididae (Приложение, табл.

1) и 14 видов семейства Pamphagidae (Приложение, табл. 2). В автореферате (стр. 4) приведена ссылка на таблицу 1 Приложения, но самого приложения нет, и это не позволяет в должной мере оценить вклад диссертанта в представленную работу.

Соискатель неаккуратно цитирует источники. Известно, что всегда дается ссылка на автора, впервые предложившего последовательность того или иного праймера. Поиск источника незатруднителен, т.к. в ряде последующих работ источник исправно приводится. Однако в работе соискателя в качестве источника для последовательностей праймеров COII приводится Folmer et al., 1994, который свою работу посвятил совершенно другому гену - COI (Folmer et al., 1994: *DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates*). В то же время для амплификации COI для праймеров 911 и 912 вместо Guryev et al., 2001 (Guryev V, Mararevitch I, Blinov A, Martin J: *Phylogeny of the genus Chironomus (Diptera) inferred from DNA sequences of mitochondrial Cytochrome b and Cytochrome oxidase I*) и Folmer et al., (1994), соответственно, некорректно цитируется работа Bugrov et al., 2006.

К соискателю по выбору целевых фрагментов для филогенетического анализа таксонов высокого ранга возникает вопрос. Известно, что для филогенетического анализа таксонов группы семейства используют более консервативные фрагменты ядерных генов, тогда как митохондриальные чаще используют для установления статуса отдельных популяций и родственных отношений обычно на родовом таксономическом уровне. Соискатель аргументирует свой выбор митохондриальных фрагментов, как ранее используемых в филогенетических анализах и приводит ряд ссылок на работы (Temu et al., 2005; Fenn et al., 2007; Kim et al., 2007). Однако задачи перед авторами указанных работ и соискателем стояли разные, в упомянутых работах были проанализированы популяции у отдельных видов, что соответствует, как упомянуто выше, использованию целевого фрагмента mtCOI в филогенетических анализах (Kim et al., 2007 - Oriental Mole Cricket, *Gryllotalpa orientalis*; Temu et al., 2005 - *Anopheles arabiensis*; Fenn et al., 2007 - Mormon cricket (*Anabrus simplex*)).

Почему же примеры ранее опубликованных работ не стали руководством для выбора генов, соответствующих задачам исследования?

Глава 3 «**Результаты и обсуждение**» (23 стр.) состоит из 5 подразделов. В первом подразделе показано, что в проведенном филогенетическом анализе были использованы полные митохондриальные последовательности, конкатенированные последовательности трех митохондриальных генов (COI, COII, Cytb), конкатенированные последовательности двух митохондриальных генов (COI, COII) а также последовательности межгенного рибосомального спейсера ITS2. Второй подраздел посвящен филогенетическому анализу семейства Acrididae. В нем диссертант анализирует филогенетические деревья, построенные на основе полных кодирующих

митохондриальных последовательностей, ITS2 последовательностей и конкатенированных митохондриальных последовательностей генов COI, COII и Cytb видов семейства Acrididae. Молекулярная филогения семейства Acrididae обсуждается в третьем подразделе. Четвертый подраздел посвящен анализу филогенетических деревьев, построенных на основе конкатенированных митохондриальных последовательностей генов COI и COII и последовательностей участка ITS2 видов семейства Pamphagidae. Подраздел «Молекулярная филогения семейства Pamphagidae» завершает эту главу. Материалы этой главы позволили диссертанту выдвинуть ряд предположений и гипотез относительно филогении и систематики подсемейств и триб саранчовых семейств Acrididae и Pamphagidae.

Замечания к этой главе: в результате филогенетических анализов получены по большей части неразрешенные кладограммы, которые, как правило, указывают на нерепрезентативность выборки для анализа, неподходящие целевые фрагменты, некачественное прочтение последовательностей и соответствующую их некачественную редакцию. В данном случае хотелось бы отметить разумную осторожность соискателя с высказыванием возможных гипотез о родственных связях и таксономическом положении групп и уклонение от введения таксономических изменений в систему исследуемых таксонов.

В «**Заключении**» (4 стр.) кратко обобщено основное содержание диссертации.

Выводы (1 стр.) завершают основную часть диссертации и отражают ее содержание. В качестве замечания отметим, что последний вывод следует уточнить, т.к. триба *Naplotropidini* была перенесена в подсемейство *Thrinchinae* в монографии по палеарктическим Pamphagidae (Ünal, 2016), а полученные диссертантом результаты лишь подтверждают это на молекулярном уровне.

Список литературы (13 стр.) включает 153 источника, из которых 151 на иностранных языках. В качестве замечания отметим, что список оформлен достаточно небрежно. В ряде статей (например, № 4, 35, 37, 50, 82 и др.) приводится только год публикации, а названия журналов отсутствуют. Из работ на русском языке приводится только двухтомная монография Г.Я. Бей-Биенко и Л.Л. Мищенко, которая по тексту диссертации почему-то цитируется как «Beu-Bienko et al., 1951». В списке литературы отсутствуют даже работы самого диссертанта, в том числе опубликованные на русском языке тезисы.

Приложения (11 стр.) содержат 2 таблицы и 4 рисунка.

Автореферат адекватно отражает содержание диссертации. Основные результаты диссертации опубликованы в 10 работах, в том числе в 3 статьях в журналах из перечня ВАК и изданиях, входящих в международные реферативные базы данных и системы цитирования (WOS).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изучение филогенетических взаимоотношений представителей семейств Acrididae и Pamphagidae на основе сравнения последовательностей их митохондриальной и ядерной ДНК имеют важное теоретическое значение и открывают новые перспективы исследования филогении и эволюции саранчовых. Полученные И.С. Сухих результаты могут быть использованы для подготовки курсов по генетике, эволюции и энтомологии в ВУЗах, а также для дальнейшей разработки классификации саранчовых, многие виды которых являются серьезными вредителями сельскохозяйственных культур.

Сделанные замечания носят рекомендательный характер, направлены на улучшение текста и не умаляют объема выполненной диссертантом работы. Их следует учесть при подготовке будущих публикаций.

Считаем, что диссертационная работа Игоря Сергеевича Сухих содержит много новых данных, представляет собой заметный вклад в исследование филогении и эволюции саранчовых, существенно расширяет наши знания об этой группе насекомых, и отвечает требованиям ВАК, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения ему ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – генетика.

Отзыв заслушан и обсужден на заседании лаборатории энтомологии ФНЦ Биоразнообразия ДВО РАН 29 октября 2020 г., протокол № 8.

Доктор биологических наук по специальности
03.02.05 – энтомология, профессор,
главный научный сотрудник лаб. энтомологии



Сергей Юрьевич Стороженко

Доктор биологических наук по специальности
03.02.05 – энтомология, доцент,
ведущий научный сотрудник лаб. энтомологии



Маргарита Геннадьевна Пономаренко