

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию

Сухих Игоря Сергеевича «Филогенетический анализ видов саранчовых семейств Acrididae и Pamphagidae на основе митохондриальных и ядерных маркеров», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – генетика

Актуальность

Исследование филогенетических взаимоотношений таксонов является одним из актуальным направлений в современной биологии. В данной работе это направление изучается на семействах Acrididae и Pamphagidae отряда Orthoptera (Прямокрылые). Представители данной группы насекомых играют значительную роль в переработке фитомассы в травянистых экосистемах. Также, некоторые виды саранчовых являются вредителями сельскохозяйственных культур. Диссертация Сухих Игоря Сергеевича «Филогенетический анализ видов саранчовых семейств Acrididae и Pamphagidae на основе митохондриальных и ядерных маркеров» посвящена исследованию филогенетических взаимоотношений в двух семействах Acrididae и Pamphagidae. Для исследования взяты два семейства: Acrididae – самое большое и древнее семейство в надсемействе Acridoidea подотряда Caelifera, и Pamphagidae (Burmeister, 1840) - это относительно небольшое семейство суперсемейства Acridoidea с большим количеством эндемичных видов. Существующие реконструкции филогенетических отношений и представления об эволюции настоящих саранчовых долгое время складывались преимущественно на основе сравнительного анализа ключевых морфологических структур рецентных и ископаемых видов и до сих пор вызывают споры. Данная работа проведена с применением комплексных молекулярных методов с применением последовательностей митохондриальной и ядерной ДНК.

В диссертационном исследовании Сухих И.С. проведен филогенетический анализ двух семейств саранчовых с использованием наиболее распространенных маркеров, широко представленных в базе данных GenBank для видов семейства Acrididae: первая субъединица митохондриальной цитохром оксидазы (COI), вторая субъединица митохондриальной цитохром оксидазы (COII), цитохром В (Cytb) и внутреннего транскрибируемого спейсера 2 (ITS2).

Диссертация Сухих Игоря Сергеевича «Филогенетический анализ видов саранчовых семейств Acrididae и Pamphagidae на основе митохондриальных и ядерных маркеров» изложена на 100 страницах,

содержит 2 таблицы, 16 рисунков и 6 приложений. Рукопись состоит из оглавления, списка сокращений, введения, обзора литературы, материалов и методов, результатов и обсуждений, заключения, выводов и списка литературы.

Введение: в краткой форме изложено состояние проблемы, изучению которой посвящена диссертация, определены актуальность исследования, цель, задачи, научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы. Проводятся основные положения, выносимые на защиту, имеется информация об апробации и публикациях результатов исследования, личном вкладе автора.

Глава 1 «Обзор литературы» – занимает 26 страниц, состоит из трех основных разделов. В главе представлены история изучения филогенетических взаимоотношений семейств Acrididae и Pamphagidae, особенности их экологии. В обзоре имеется информация об областях применения филогенетических деревьев, обосновывается выбор филогенетических маркеров, рассказывается об их преимуществах и недостатках, выборе эволюционной модели и филогенетического анализа и оценке достоверности. В разделах по семействам Acrididae и Pamphagidae представлена информация о таксономическом статусе этих семейств, истории и экологии, а также, существующих в настоящее время, различных классификациях по саранчовым. Перечислены варианты существующих молекулярных филогений, отмечены основные недостатки в имеющихся филогениях семейств.

В целом, обзор литературы является достаточно полным обоснованием для постановки цели и задач диссертации, выборов методов оценки полученных результатов и их обсуждения. Диссертационная работа Сухих И.С. является логическим продолжением этих исследований, поскольку она направлена на детальное исследование филогенетических взаимоотношений видов Acrididae и Pamphagidae, на основе сравнения последовательностей митохондриальной и ядерной ДНК.

В главе 2 «Материал и методы» приведена очень подробная характеристика использованных методов анализа. Описание методов дано в целом лаконично, но при этом указаны все существенные детали, даны ссылки на использованные программы и базы данных. В Приложении 1 указаны регионы места сбора материала и список видов, использованных для построения филогении семейства Acrididae. Также, виды, последовательности которых были установлены в данной работе, выделены в списке шрифтом. Однако в тексте главы 2 не указано из какого количества

видов выделена ДНК и сколько видов использовано автором для филогенетического анализа.

В главе 3 «Результаты и обсуждение» на 22 страницах изложены полученные автором данные.

В первой части главы 3 приводятся результаты поиска последовательностей в нуклеотидных базах данных и установление последовательностей экспериментальным путем. Подобран оптимальный температурный режим (42 °C) для амплификации последовательностей как видов семейства Acrididae, так и Pamphagidae. De novo были установлены нуклеотидные последовательности для 68 видов семейства Acrididae и 49 видов семейства Pamphagidae. Что является несомненным плюсом данной работы. Построение филогенетических деревьев семейства Acrididae начиналось с видов, для которых автором были установлены полные нуклеотидные последовательности, а затем на конкатенированных COI, COII и Cytb последовательностях.

Второй раздел посвящен филогенетическому анализу видов семейства Acrididae, в котором приведено филогенетическое древо, построенное на основе полных кодирующих митохондриальных последовательностей видов семейства Acrididae с помощью методов максимального правдоподобия и Байеса. Внутри ветви выявлены три филогенетические группы, сформированные видами семейства Acrididae. Первая группа I объединяет виды трех подсемейств: Oxyinae, Hemiacridinae и Spathosterninae; вторая – виды подсемейства Melanoplinae; третья самая многочисленная – виды девяти подсемейств: Acridinae, Calliptaminae, Catantopinae, Conophyminae, Cyrtacanthacridinae, Eupreopscnemidinae, Gomphocerinae, Oedipodinae и Pezotettiginae. Внутри филогенетической группы III автором работы, выделяется подгруппы А и В по три подсемейств в каждой. Внутри подгруппы А выявлено пять очевидных кластеров. На основании этого автором сделано предположение, о независимости каждого кластера подгруппы А и предложено выделить отдельные таксономические группы на уровне подсемейств.

Также, в данном разделе представлено схематичное изображение древа, построенного на основе ITS2 последовательностей для 96 видов саранчовых. Данное древо не противоречит древу, построенному на полных митохондриальных последовательностях, хотя в нем не формируются филогенетические группы, как в митохондриальном древе. Показано, что использование ITS2 маркера позволяет четко разделять подсемейства между собой, но не позволяет установить между ними филогенетические взаимоотношения. Только представители подсемейств Acridinae,

Gomphocerinae и *Oedipodinae* образуют единую группу, как и на полном митохондриальном древе.

Диссертант использовал для филогенетического анализа также и конкатенированные последовательности митохондриальных генов COI, COII и Cytb. На основе данного исследования отмечено, что из исследованных 12 подсемейств, 11 совпадают с подсемействами на древе, построенном на основе полных митохондриальных последовательностей.

Выявлено, что использование конкатенированных последовательностей COI+COII показывает намного меньшую разрешающую способность для филогенетического анализа, чем COI+COII+Cytb. В результате анализа последовательностей COI+COII, на древе выделяется 40 линий видов семейства *Acrididae*.

Анализ нуклеотидных последовательностей видов семейства *Acrididae* показал наиболее проблемные места в систематике данного семейства: полифилию трех подсемейств, ранее считавшихся монофилетичными (*Acridinae*, *Gomphocerinae* и *Oedipodinae*). Автор на основе своих данных предлагает три подсемейства (*Acridinae*, *Gomphocerinae* и *Oedipodinae*) разделить на пять групп на уровне подсемейств.

Следующий этап работы посвящен филогенетическому анализу видов семейства *Pamphagidae*. Для данного семейства представлено древо, построенное на основе конкатенированных COI и COII последовательностей для 48 видов саранчовых, принадлежащих трем подсемействам (*Pamphaginae*, *Thrinchinae* и *Porthetinae*).

Также для данного семейства построено филогенетическое древо на основе ITS2 последовательностей 58 видов из двух подсемейств (*Pamphaginae* и *Thrinchinae*). Топология данного древа, в целом, соответствует топологии древа, построенного на основе митохондриальных последовательностей с некоторым дополнительным кластером.

В результате комплексного филогенетического анализа видов семейства *Pamphagidae* установлено, что трибы *Nocarodeini* и *Tropidauchenini* могут иметь статус отдельных подсемейств, а триба *Harlotropidini*, ранее считавшаяся частью подсемейства *Pamphaginae*, входит в состав подсемейства *Thrinchinae*.

В разделе «Заключение» приведено обобщение результатов по работе. Здесь кратко приведены основные результаты, предположения и выводы на основании филогенетического анализа двух семейств саранчовых.

В результате филогенетического анализа конкатенированных нуклеотидных последовательностей генов COI и COII видов семейства

Acrididae было установлено, что данный набор молекулярных маркеров не подходит для изучения взаимоотношений между таксонами ранга выше рода видов семейства Acrididae, а для видов семейства Pamphagidae продемонстрировал достоверное разделение подсемейств. Автором сделано предположение, что набор молекулярных маркеров COI и COII позволяет выяснить филогенетические взаимоотношения между видами, общий предок которых образовался приблизительно от 40 миллионов лет назад и позднее.

В ходе изучения семейства Acrididae была установлена полифилия для трех подсемейств, считающихся монофилетичными: Acridinae, Gomphocerinae, Oedipodinae. На основе проведенного анализа были сделаны гипотезы по коррекции существующей систематики видов данных семейств саранчовых. Было предложено выделение двух новых подсемейств из видов полифелитичных групп. Для семейства Pamphagidae была установлена полифилетическая природа подсемейства Pamphaginae, а также предложены варианты распределения видов данного подсемейства по новым группам (трибы Nocarodeini, Tropidauchenini). Было показано, что триба Nartropidini входит в состав подсемейства Thrinchinae, а не Pamphaginae.

Автореферат оформлен согласно предъявляемым к нему требованиям. Текст автореферата соответствует тексту диссертационной работы, в нем отражены все основные положения диссертационной работы и выводы, достаточно полно представлены основные иллюстрации по диссертации.

Замечание

Диссертационная работа И.С. Сухих производит хорошее впечатление, выполнено на высоком профессиональном уровне и не дает повода для серьезных критических замечаний. Имеются некоторые отпечатки и ошибки в оформлении списка литературы.

Хотелось бы уточнить, насколько достоверно использование молекулярных маркеров COI и COII к группам, имеющим происхождение от 40 до 73 млн. лет назад?

Заключение

Диссертационная работа Сухих И.С. является законченным исследованием, выполненным на высоком научном и методическом уровне. Результаты диссертационной работы, существенная часть которых получена впервые, были представлены на различных конференциях и съезде, и опубликованы в рецензируемых журналах из списка ВАК, что свидетельствует о достоверности полученных автором данных. Заключение и выводы, сделанные по результатам работы, обоснованы и полностью

соответствуют задачам, поставленным в исследовании. Исходя из вышеизложенного, считаю, что диссертационная работа «Филогенетический анализ видов саранчовых семейств Acrididae и Pamphagidae на основе митохондриальных и ядерных маркеров», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности «03.02.07 – генетика», полностью соответствует требованиям п.п. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24.09.2013 г., предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор, Сухих Игорь Сергеевич, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности «03.02.07 – генетика».

Официальный оппонент

Сибатаев Ануарбек Каримович,
доктор биологических наук,
профессор, с.н.с. Института биологии, экологии,
почвоведения, сельского и лесного хозяйства Федерального
государственного автономного образовательного учреждения
высшего образования «Национальный
исследовательский Томский государственный университет»
Адрес: 634050, г. Томск, пр. Ленина, 36
Томский государственный университет
Тел.: +7 (3822) 529752
Email: anuar@mail.tsu.ru

Подпись А.К. Сибатаева удостоверяю

Ученый секретарь ученого совета ТГУ
канд. геол.-минерал. наук



Н. А.Сазонтова