

“УТВЕРЖДАЮ”

Проректор по научной работе и
инновационной деятельности
Пензенского государственного
университета
д.т.н. проф. И.И. Артёмов



08 мая 2014 года

ОТЗЫВ

ведущей организации на диссертацию
Екатерины Николаевны Мельниковой «Филогеография, история
расселения и внутривидовая структура европейской рыжей полевки
(Rodentia, Cricetidae)», представленную на
соискание ученой степени кандидата биологических наук
по специальности 03.02.04 – зоология

Диссертационная работа **Екатерины Николаевны Мельниковой** представляет собой законченное оригинальное исследование, посвященное изучению внутривидовой структуры и происходивших и происходящих в историческое время и сегодня микроэволюционных процессов в ареале широко распространенного вида мелких лесных грызунов – европейской рыжей полевки (*Myodes glareolus* (Schreber, 1780)). Выбор диссертантом проблематики и объекта исследования неслучаен и затрагивает актуальные вопросы внутривидовой таксономии, проблемы целостности видовых границ и концепции биологического вида в целом.

До сегодняшнего дня филогеографические исследования *M. glareolus* на основе изменчивости митохондриального гена цитохрома b касались только западно-европейской части ареала этого вида, при этом большая часть ареала от Восточной Европы до Западной Сибири оставалась почти не изученной. Не смотря на популярность рыжей полевки в зоологических и популяционных исследованиях, вопрос о внутривидовой структуре *M. glareolus* до сих пор остается дискуссионным. Различные авторы рассматривают в составе вида от 10 до 16 подвидов, выделяемых на основании окраски меха, размеров тела и краниологических признаков. В то же время, эти признаки никак нельзя назвать «надежными», так как именно они подвержены значительной географической, возрастной и сезонной изменчивости. Поэтому, совершенно очевидно, что существует необходимость пересмотреть представления о подвидовой структуре *M. glareolus* с учетом более «независимых» от индивидуальных особенностей молекулярно-генетических данных.

Межвидовая гибридизация с последующей интрогрессией генов в природных популяциях достаточно широко распространенное явление для многих видов животных. Изучение гибридных зон помогает понять природу генетических

дифференциации близкородственных видов, роль естественного отбора в поддержании видовых границ и эволюцию механизмов репродуктивной изоляции. В некоторых популяциях *M. glareolus* была показана интрогрессия мтДНК симпатричной сибирской красной полевки (*M. rutilus* (Pallas, 1779)). Однако масштаб интрогрессии и характер распространения *M. glareolus* с мтДНК *M. rutilus* оставались долгое время не исследованными. Так как восточная часть ареала европейской рыжей полевки была практически не затронута генетическими исследованиями, на сегодняшний день остается спорным вопрос о количестве митохондриальных линий у *M. glareolus* и их распространении. Кроме того, не проводилось сопоставление описанных подвидовых форм *M. glareolus* с данными по молекулярно-генетической изменчивости. Остается не ясным масштаб и само распространение интрогрессии в природных популяциях *M. glareolus*, не выявлены условия, при которых возможно нарушение межвидовых барьеров, не выяснен вопрос о времени прохождения интрогрессии – является ли она следствием давней гибридизации или гибридизация происходит в настоящее время. Совершенно очевидно, что поднятые Е.Н. Мельниковой в диссертационной работе вопросы являются новыми для науки и требуют специального исследования.

Таким образом, тема рецензируемой работы, несомненно, актуальна, а объект, выбранный для исследований, оптимально подходит для решения поставленных в ней задач.

Цель и задачи диссертационного исследования Е.Н. Мельниковой сформулированы четко и последовательно, а научная новизна работы не вызывает сомнений. Впервые исследована генетическая изменчивость *M. glareolus* в восточной части ареала, предложена реконструкция истории расселения вида в постплейстоценовый период. Разработан набор праймеров для ПЦР-типирования и выявления интрогрессированных особей *M. glareolus* (*M. glareolus* с мтДНК *M. rutilus*). Установлен масштаб и характер распространения интрогрессии мтДНК в популяциях *M. glareolus*. По молекулярным данным определено приблизительное время межвидовой гибридизации. Разработана методика по определению гибридов первого поколения (F1) между *M. glareolus* и *M. rutilus* с использованием ядерных маркеров. Обнаружен природный гибрид F1 от самки *M. rutilus* и самца *M. glareolus* на Среднем Урале. Проведено сопоставление между митохондриальными группами *M. glareolus* и подвидовой структурой вида.

Диссертационная работа Е.Н. Мельниковой хорошо апробирована. Материалы и результаты диссертации были представлены на 8 международных и всероссийских конференциях, конгрессах и совещаниях, а также обсуждались на итоговых годовых сессиях Зоологического института РАН.

Диссертация изложена на 141 странице и состоит из введения, 6 глав, заключения, выводов, списка цитируемой литературы и приложений. Список литературы включает 214 источников, 168 из которых на иностранных языках. Работа содержит приложение на 13 стр. и хорошо иллюстрирована. Основной текст работы включает 7 таблиц и 23 рисунка. В приложении приведены 2 таблицы и 2 рисунка. Такой качественный и уместный по излагаемой текстовой информации иллюстративный материал помогает лучше понять выдвигаемые автором положения и выводы.

Во введении автор кратко освещает историю вопроса и актуальность проблемы, четко формулирует цель исследования, задачи для ее достижения, а

также приводит основные характеристики предлагаемой к защите диссертационной работы.

В главе 1 – «Обзор литературы» (22 стр.) Е.Н. Мельникова приводится подробный и хорошо иллюстрированный ссылками на литературные источники анализ теоретических подходов к применению молекулярно-генетических маркеров в филогеографических исследованиях (п.1.1.). В ходе сравнения митохондриальных, ядерных и микросателлитных генетических маркеров автором достаточно ясно и точно выделены как сильные, так и слабые их стороны, а также диапазон исследовательских проблем, в решении которых они могут быть использованы. В итоге, диссертант не без оснований приходит к выводу, что использование молекулярных маркеров в зоологических исследованиях позволяет анализировать широкий круг вопросов для групп разного систематического уровня, а применение нескольких подходов при анализе данных, большого количества признаков и разных моделей эволюции нуклеотидов – в значительной степени повышают достоверность полученных филогенетических реконструкций.

В этой же главе (п. 1.2.) диссертант приводит добротное и хорошо иллюстрированное ссылками на литературные источники описание объекта исследований – европейской рыжей полевки, освещая общую характеристику рода лесных полевок *Myodes*, систематическое положение *M. glareolus* и внутривидовую структуру вида, как с позиций морфологического подхода, так и по результатам проведенных ранее молекулярно-генетических исследований.

В заключительной части главы (п. 1.3.) Е.Н. Мельникова приводит краткое описание возможных последствий исторической и современной межвидовой гибридизации в границах зон симпатрии для формирования внутривидовой генетической структуры вида, результатов экспериментальной гибридизации близких форм полевок, а также степени изученности популяций *M. glareolus* восточной части ареала с использованием молекулярно-генетических данных.

В качестве замечания к этому разделу диссертации отметим только не всегда ясно обозначенную автором связь между ее рубриками (п. 1.3.), что немного затрудняет ее прочтение.

Во 2 главе «Материалы и методы» Е.Н. Мельникова приводит описание материала, методов и методик диссертационного исследования, а также способов статистической обработки молекулярно-генетических данных. Автор освоила и применила комплекс традиционных, современных и оригинальных методов зоологических исследований. Избранная диссертантом форма подачи материала в этой главе, на наш взгляд, очень удачна. Описание молекулярно-генетических методов (п. 2.2.) и способов статистической обработки (п. 2.3), использованных в диссертационном исследовании, приводится в соответствии этапам выполнения работы (например, выделение тотальной ДНК, проведение ПЦР, электрофорез и визуализация, секвенирование), а также по некоторым специализированным методам анализа (например, ПЦР-типирование, микросателлитный анализ и т.п.).

Не смотря на почти полную безупречность этой главы, есть замечание к этому разделу диссертационной работы. Первая часть главы (п. 2.1.), посвященная описанию материала, на наш взгляд довольно сильно перегружена табличным материалом, который более логично было бы представить в приложении. Совершенно очевидно, что диссертант использовал в работе довольно обширный по объему материал, собранный на значительной территории, но в этой части

раздела работы хотелось бы увидеть обобщающие таблицы, которые позволили бы читателю лучше оценить использованный в работе материал. В целом, работа осуществлялась длительное время, и по всем аспектам исследования был получен значительный репрезентативный материал.

Главы 3, 4 и 5 диссертационного исследования Е.Н. Мельниковой, посвящены изложению полученных результатов. В главе 3 «Филогеография и демографическая история европейской рыжей полевки по данным изменчивости митохондриального гена цитохрома b» автор приводит результаты исследования 489 нуклеотидных последовательностей цитохрома b *M. glareolus*, в ходе которого было выявлено 6 филогенетических линий рыжей полевки. Используя различные методы филогенетического анализа (ML, Байес и медианный метод), диссертант довольно убедительно обсуждает различия, выявленные в положении некоторых локальных (Карпатская) и материковых (Восточная и Западная) филогенетических групп. В итоге автор на основе достаточного статистического материала приходит к выводу, что полевки *M. glareolus* от Восточной Европы до Западной Сибири характеризуются низкой генетической дифференциацией, что свидетельствует о быстром заселении данной территории в постледниковый период при низкой численности предковых популяций, и с этим выводом трудно поспорить.

В главе 4 «Древняя и современная гибридизация между *M. rutilus* и *M. glareolus* в зоне симпатрии» Е.Н. Мельникова знакомит читателя с результатами анализа 334 нуклеотидных последовательностей фрагмента гена цитохром b, полученных от особей обоих видов из зоны симпатрии и обсуждает их с позиций былой и современной межвидовой гибридизации. Автором убедительно показано, что в зоне симпатрии *M. glareolus* и *M. rutilus* интрогрессия мтДНК от *M. rutilus* к *M. glareolus* является широко распространенным явлением (п. 4.1.). Используя демографическую модель быстрой экспансии, данные о преимуществах между гаплотипами (медианная сеть гаплотипов, MJ) и процедуру датирования популяционных событий с помощью молекулярных часов, диссертант логично приходит к выводу о том, что межвидовая гибридизация между *M. glareolus* и *M. rutilus* с последующей интрогрессией мтДНК происходила в позднеплейстоценовый период и сопровождалась миграцией особей *M. glareolus* с мтДНК *M. rutilus* из рефугиума на Южном Урале (п. 4.1.). В следующей части главы (п. 4.2.) Е.Н. Мельникова знакомит читателя с интересным материалом по случаям современной гибридизации между *M. glareolus* и *M. rutilus*. По результатам анализа этого материала автор вполне обоснованно приходит к выводу о том, что гибридизация между этими видами полевок возможна в фазу депрессии численности обоих видов с некоторым численным доминированием *M. glareolus*. Удивляет, что автор не характеризует наблюдаемое межвидовое скрещивание «случайным», так как оно известна только в одной современной популяции на Среднем Урале.

В главе 5 «Внутривидовая структура *M. glareolus* в восточной части ареала» автор знакомит читателей с результатами сопоставления полученных данных по генетическому разнообразию рыжей полевки с выделенными на настоящий момент внутривидовыми таксонами для восточной части ареала. Используя полученные филогеографические данные и результаты дискриминантного анализа морфологических показателей диссертант логично заключает, что полевки *M. glareolus* от Восточной Европы до Западной Сибири генетически и морфологически

однородны. Никаких генеалогических групп соответствующих подвидам *M. g. glareolus*, *M. g. suecicus*, *M. g. isticus* с изученной территории не выделяется.

Материал этих трех глав хорошо иллюстрирован и обработан. Е.Н. Мельникова использовала разнообразные виды генетического анализа (реконструкция филогенетических деревьев, медианный тест, программы, описывающие популяционный полиморфизм и динамику популяционной структуры и т.п.), что подтверждает достоверность полученных выводов. В целом, данные, изложенные в этих главах, интересны и являются новым для науки.

В главе 6 «Обсуждение» Е.Н. Мельникова анализирует результаты, полученные при выполнении работы с привлечением уже известных сведений по данной проблематике. При этом рубрикация этой главы соответствует содержательной части предыдущих трех глав диссертационной работы. На наш взгляд, для читателя удобнее было бы изложить часть материала этой главы в соответствующих диссертационных главах, освещающие полученные диссертантом материалы. Подводя итог изучению филогеографии и демографической истории *M. glareolus*, исторической и современной гибридизации между *M. glareolus* и *M. rutilus*, а также внутривидовой структуры рыжей полевки с учетом молекулярно-генетических данных, диссертант описывает особенности и основные пути формирования структуры ареала изученного в диссертационной работе вида. Исключая некоторые стилистические недочеты в изложении материала, в целом этот раздел хорошо проработан. Однако не со всеми выводами и формулировками автора можно согласиться.

На стр. 93 (п. 6.2.) автор пишет, что «Согласно гипотезе «отсутствия конспецификов», низкая популяционная численность может способствовать нарушению изолирующих механизмов (Selander, 1971). У видов с низкой популяционной численностью или видов на грани вымирания гибридизация может происходить из-за отсутствия партнеров своего вида (Newton, 2003)». Выбранные автором теоретические основания для дальнейших измышлений, по нашему мнению, являются не совсем корректными, так как были разработаны для птиц и, в определенной степени, являются специфичными для этой группы животных. К тому же существуют ряд специальных исследований по гибридизации млекопитающих, раскрывающие механизмы нарушения межвидовых барьеров.

На той же стр., ниже по тексту, автор пишет: «...при гибридизации (экспериментальной) количество самок, давших потомство, выше в паре самка *M. rutilus* – самец *M. glareolus*, чем в паре самец *M. rutilus* – самка *M. glareolus*. Возможно некоторое численное преобладание *M. glareolus* способствует формированию пары самка *M. rutilus* – самец *M. glareolus* и приводит к однонаправленной интрогрессии». На наш взгляд, в этом фрагменте упоминаются совершенно несвязанные явления. В первом случае речь идет о возможности гибридизации, а во втором о направлении скрещивания. Здесь было бы более уместным обсудить полигинность размножающихся группировок рыжих полевок, повышающую возможность случайных неспецифичных половых контактов, а также высокую скорость возвратных скрещиваний гибридов с особями преобладающего по численности вида («вымывание» чужеродных ядерных генов при сохранении митохондриальных, т.е. интрогрессия).

В разделе «Заключение» в очень краткой форме резюмируются основные положения диссертационной работы Е.Н. Мельниковой. Следуя после столь

подробного обсуждения и мало отличаясь по содержанию от последующих выводов, оно показалось нам излишним.

Завершают диссертационную работу выводы, формулировки которых полностью соответствует изложенным выше в работе результатам. По окончании чтения основного текста рукописи складывается впечатление о диссертации, как о добротной, законченной и оригинальной работе.

Помимо незначительных замечаний, сделанных выше, имеются и другие, относящиеся к оформлению некоторых фрагментов работы и автореферата. Например, не совсем иногда продуманному и громоздкому табличному материалу, на наш взгляд, содержащему порой излишнюю информацию, затрудняющую его понимание; мелкому масштабу рисунков филогенетических реконструкций в автореферате и диссертации, затрудняющему их анализ. Высказанные замечания ни в коем случае не влияют на высокую оценку диссертационной работы Екатерины Николаевны Мельниковой «Филогеография, история расселения и внутривидовая структура европейской рыжей полевки (Rodentia, Cricetidae)».

Диссертационная работа «Филогеография, история расселения и внутривидовая структура европейской рыжей полевки (Rodentia, Cricetidae)» по специальности 03.02.04 – зоология соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям, изложенным в п. 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденном Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. N 842, а соискатель Мельникова Екатерина Николаевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.04 – зоология.

«06» мая 2014 года

Профессор, доктор биологических наук,
профессор кафедры «Зоология и экология»
естественнонаучного факультета ПГУ

С.В. Титов

Отзыв заслушан и одобрен на заседании кафедры «Зоология и экология» ПГУ
Протокол №10 от 07.05.2014 г.

Зав. кафедрой «Зоология
и экология», д.б.н., проф.  В.Ю. Ильин

Секретарь, доц.  Н.В. Быстракова

Подпись руки *С.В. Титова*
заверяю. *В.Ю. Ильина*
Начальник управления кадров *Н.В. Быстраковой*

