

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию

Олеси Георгиевны Булзу

«ЭВОЛЮЦИЯ КАРИОТИПОВ И СИСТЕМ ХРОМОСОМНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПОЛА
У САРАНЧОВЫХ СЕМЕЙСТВА PAMPHAGIDAE (ORTHOPTERA, ACRIDOIDEA)»,

представленную на соискание ученой степени кандидата биологических
наук по специальности 03.02.05 – «энтомология»

Данные сравнительной цитогенетики широко используются при изучении популяционной структуры и эволюционной истории видов, систематики и филогении надвидовых таксонов. Большой интерес и острые дискуссии вызывают проблема половых хромосом, основы изучения которых были заложены в начале XX века классическими работами генетиков-эволюционистов Т. Моргана, Р. Гольдшмидта, С. Дарлингтона и др. К настоящему времени опубликованы сотни работ, в которых можно найти как фактические данные, полученные с использованием разных методов хромосомного анализа, так и самые противоречивые гипотезы о природе и эволюции половых хромосом. Одной из модельных групп для изучения хромосом, в том числе, проблемы хромосомных механизмов определения пола, являются прямокрылые насекомые (Orthoptera) и, особенно, настоящие саранчовые семейства Acrididae (надсемейство Acridoidea), обладающие крупными хромосомами с отчетливо выраженной морфологией. Симптоматично, например, что именно на саранчовых была установлена роль в эволюции центрических хромосомных слияний, т.н. «роберстоновских» транслокаций (Robertson, 1916).

Диссертационная работа Олеси Георгиевны Булзу посвящена изучению кариотипов и хромосомных механизмов определения пола в гораздо менее изученной, по сравнению с Acrididae, группе саранчовых – Pamphagidae. Это семейство, благодаря исследованиям научного руководителя диссертантки А.Г. Бугрова и его коллег, претендует в настоящее время на роль еще одной модельной группы для изучения проблемы половых хромосом и хромосомного видообразования, во всяком случае, среди Acridoidea и Orthoptera в целом. Поэтому тема диссертации очень актуальна. Мне было интересно узнать, что нового внесла диссертантка в изучение цитогенетики Pamphagidae.

Диссертация состоит из Введения и трех глав: «Обзор литературы», «Материал и Методы» и «Сравнительно-кариотипический анализ саранчовых семейства Pamphagidae». Далее идут «Обсуждение», «Заключение» и «Выводы». Список цитированной литературы включает 175 наименований, из них 27 публикаций на русском и 148 на иностранных

языках. В работе имеются 47 рисунков и 3 таблицы. Общий объем диссертации (без приложений) 118 страниц. Четыре приложения в виде таблиц занимают 9 страниц, в них приводится информация о классификации семейства Pamphagidae, кариотипах, особенностях локализации структурного гетерохроматина, генов рибосомной ДНК и теломерных повторов ДНК в хромосомах изученных видов.

Во ВВЕДЕНИИ обосновывается актуальность работы, анализируется степень разработанности темы диссертации, описываются цель и задачи исследования, сообщается о научной новизне, теоретической и практической значимости диссертации, о методах исследования и личном вкладе диссертанта в проведенное исследование. Перечисляются семь положений, которые диссертант выносит на защиту, и сообщается, что результаты исследования были доложены неоднократно на институтских семинарах и на 4-х конференциях. В разделе «Благодарности» упомянуты специалисты, оказывавшие помощь диссертантке при сборе материалов и подготовке работы, и охарактеризован вклад каждого из них, что исключает возникновение конфликта интересов. Указан грант РФФИ (№ 15-04-04816 А, руководитель А.Г. Бугров), который частично финансово способствовал научной работе соискателя. Уровень научной новизны результатов диссертационной работы заслуживает самой высокой оценки. Благодаря исследованиям Олеси Георгиевны (а ею изучены 41 вид из 16 родов и 3 подсемейств), существенно увеличилось количество изученных цитогенетически видов и надвидовых таксонов Pamphagidae. Наряду с традиционными методами хромосомного анализа, в работе широко использовались современные методы молекулярной цитогенетики. В результате проведенного анализа полученных данных, появилась новая важная информация о том, на каких этапах эволюции семейства Pamphagidae возникал механизм определения пола нео-XY и какие механизмы лежали в основе трансформаций полопределяющих систем в разных таксонах памфагид. В целом, раздел «Введение» не вызывает нареканий. Единственное замечание относится к той его части, где диссертант дает краткую характеристику Pamphagidae и упоминает в сравнительном аспекте семейство Acrididae, которое, как сказано мною выше, является модельной группой для изучения эволюции половых хромосом у Orthoptera и одной из модельных групп для изучения проблемы видообразования и хромосомной эволюции в целом.

Замечание: В этой части работы не хватает информации о таксономической структуре Acridoidea, крупнейшего надсемейства подотряда Caelifera, в котором разные авторы принимают разное количество семейств. Следовало сообщить о родственных отношениях Pamphagidae и Acrididae друг с другом, а также с другими семействами, прежде всего, с Pyrgomorphidae. Дело в том, что главе «Обзор литературы» диссертант говорит, что

Purgomorphidae и Pamphagidae сходны по ряду цитогенетических параметров. Это интересно и несомненно заслуживает анализа, хотя бы краткого, однако, ни это сходство, ни даже само семейство Purgomorphidae нигде более в диссертации не упоминаются.

ГЛАВА I посвящена обзору литературы по теме диссертации. Первый раздел главы «**Общая характеристика саранчовых семейства Pamphagidae**» показывает, что диссертант хорошо знает литературу по своей группе. В разделе приводится информация о распространении, основных биологических и морфологических особенностях и видовом составе Pamphagidae, а также о том, как эволюционировали представления о таксономическом статусе памфагид (подсемейство, семейство), систематике и родственных связях таксонов, входящих в эту группу. Олеся Георгиевна принимает наиболее распространенную в настоящее время точку зрения, что памфагиды являются самостоятельным семейством. Название 2-го раздела «**Цитогенетические особенности эволюции кариотипов у саранчовых надсемейства Acridoidea**» стилистически неудачно: более корректным было бы название «Особенности кариотипов и их преобразований в эволюции саранчовых надсемейства Acridoidea». В этом разделе речь идет о хромосомных числах, половых хромосомах, количестве и локализации С-блоков и ядрышкообразующих районов, особенностях распределения генов рРНК и теломерных последовательностей ДНК. Завершает Главу раздел, в котором перечисляются методы хромосомного анализа, применяемые в настоящее время в разного рода цитогенетических исследованиях, дается оценка перспективности этих методов для решения тех или иных задач; описываются последовательные процедуры при разных типах дифференциального окрашивания хромосом; приводятся конкретные примеры из разных групп эукариот.

Замечания: 1. В разделе 2, названия видов и надвидовых таксонов часто приводятся без указания их семейственной принадлежности, что затрудняет чтение и адекватную оценку приведенных фактов. 2. В разделе 3, некоторая информация показалась мне лишней. Прежде всего, это относится к скрупулезным описаниям методических приемов, используемых при изучении кариотипов, которые слишком детализированы и, при этом, содержат, в основном, общеизвестную информацию.

В **ГЛАВЕ 2** «Материалы и Методы» имеется Таблица с информацией об исследованных видах и местах их сбора. Производят впечатление большой объем изученного материала, о чем я уже говорила выше, и широкий охват регионов, из которых этот материал происходит (Россия, Казахстан, Турция, Иран, Марокко, ЮАР). Сборы сделаны старшими коллегами диссертантки, однако, замечательно, что Олеся Георгиевна сумела обработать такой огромный материал. В главе описываются методы фиксации и приготовления хромосомных препаратов, методы дифференциального окрашивания

хромосом и метод FISH с микродиссекционной теломерной или 18S рДНК-пробами, сами методы микродиссекции хромосом и другие процедуры. В специальных разделах описываются использованные методы компьютерной обработки микродиссекционных FISH изображений, в том числе метод визуализации специфического сигнала *in Silico* (метод VISSIS, разработанный А.Г. Богомоловым; ИЦиГ СО РАН, Новосибирск). Приведены фотографии (Рис. 8), демонстрирующий результат успешного применения этого метода для усиления FISH-сигналов от гибридизации микродиссекционных ДНК-проб с мейотическими хромосомами памфагид. Замечаний к этой главе у меня нет.

В ГЛАВЕ 3 описываются результаты сравнительного анализа кариотипов у изученных видов Pamphagidae. Приводится информация о числах и морфологии хромосом, хромосомных механизмах определения пола, количестве и распределении С-блоков, локализации рибосомных генов и теломерных повторов, о чем я уже упоминала выше. Хочу отметить, что в исследованиях по сравнительной цитогенетике насекомых присутствует, как правило, именно такой, а иногда и более узкий набор признаков кариотипа. Олеся Георгиевна в своих исследованиях пошла значительно дальше, поставив перед собой актуальную и сложную задачу – выяснить, как возникают *de novo* половые хромосомы в эволюции Pamphagidae. Ею были получены микродиссекционные ДНК-пробы из половых хромосом (их отдельных частей) у двух видов подсемейств Thrinchinae и Pamphaginae и проведена кросс-гибридизация проб с хромосомами близкородственных видов и родов. В результате, диссертантке впервые удалось выявить степень гомологии повторяющихся последовательностей ДНК в хромосомах видов с анцестральной у памфагид и эволюционно производной системами половых хромосом X(0) и neo-XY. Приведенные рисунки, обработанные с использованием метода VISSIS, о котором я упоминала выше, отлично иллюстрируют полученные результаты, а сами эти исследования можно смело назвать пионерскими. В разделе «Обсуждение», Олеся Георгиевна подводит итоги проведенного исследования; приводит схему, иллюстрирующую этапы преобразований кариотипов и систем определения пола в эволюции Pamphagidae. В разделе «Заключение» справедливо утверждается, что семейство Pamphagidae может использоваться как еще одна модельная группа (наряду с семейством Acrididae) для изучения эволюции половых хромосом.

Оценивая диссертацию в целом, хочу сказать, что она является примером высококачественного сравнительно-цитогенетического и эволюционного исследования, приведшего к выявлению основных тенденций и механизмов кариотипических изменений в изучаемой группе. Большое впечатление производят объем, новизна и значимость полученных данных, а также сложность использованных современных методов хромосомного анализа. Не вызывает сомнений доказанность каждого из 7-ми положений,

вынесенных на защиту, и объективный характер 11-ти выводов, которые адекватно отражают все многообразие полученных результатов. По теме диссертации опубликовано 13 работ, в том числе 2 статьи в журналах из списка ВАК, и 4 статьи в профильных журналах, входящих в базы цитирования Web of Science и Scopus. Автореферат полностью отражает содержание диссертации.

Замечания к диссертации частично были сделаны мною в конце отдельных глав. Добавлю еще два, оба технические. 1. В диссертации, все рисунки и фотографии превосходного качества, однако в большинстве случаев не упоминаются автор или источник, откуда рисунки взяты. Я делаю вывод, что эти рисунки оригинальные, о чем следовало, однако, сказать в подписях или, например, в главе 2. В подписях следовало привести ссылку на оригинальную публикацию (если опубликовано). 2. В диссертации много орфографических, стилистических и других ошибок. Очень небрежно сделаны ссылки в тексте, где 42(!) ссылки либо отсутствуют в списке литературы, либо приведены неверно, а также в списке литературы, где перечислены 17(!) статей, на которых нет ссылок в тексте. К оформлению диссертации следовало отнестись с большей ответственностью.

Все сделанные мною замечания, однако, никак не влияют на общую, очень высокую оценку диссертационного исследования. Считаю, что диссертация «Эволюция карิโอ типов и систем хромосомного определения пола у саранчовых семейства Pamphagidae (Orthoptera, Acridoidea)» по актуальности, обоснованности научных положений и выводов, достоверности, новизне и научной значимости полученных данных полностью соответствует критериям, установленным в пп. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденным постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013г. №842, а ее автор Олеся Георгиевна Булзу, безусловно, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.05 – Энтомология.

Официальный оппонент:

Кузнецова Валентина Григорьевна

Доктор биологических наук (03.02.05 – Энтомология),

Профессор, Заслуженный деятель науки РФ,

Главный научный сотрудник Лаборатории систематики насекомых Федерального государственного бюджетного учреждения науки Зоологический институт Российской академии наук

199034 г. Санкт-Петербург, Университетская наб. дом 1, <https://www.zin.ru/>

Телефон +7 812 3235197, e-mail: valentina_kuznetsova@yahoo.com

Кузнецова Валентина Григорьевна

19.11.2020г.

В Кузнецова

Подпись руки

Кузнецова В.

удостоверяется

Ученый секретарь *ВМ*

