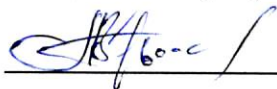


УТВЕРЖДАЮ

Директор Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина Российской академии наук (ИБВВ РАН), д.б.н., профессор



Александр Витальевич Крылов



10 ноября 2021 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

на диссертационную работу Зуйковой Елены Ивановны
**«ВИДОВОЕ РАЗНООБРАЗИЕ, ФИЛОГЕНИЯ И ФИЛОГЕОГРАФИЯ
ВЕТВИСТОУСЫХ РАКООБРАЗНЫХ ГРУППЫ *DAPHNIA LONGISPINA*
SENSU LATO (CRUSTACEA: CLADOCERA) СЕВЕРНОЙ ЕВРАЗИИ»,**
представленную на соискание ученой степени доктора биологических наук
по специальности 03.02.04 – зоология

Актуальность темы. Ветвистоусые ракообразные (Crustacea: Cladocera) – широко распространенная группа беспозвоночных, играющих ключевую роль в структурно-функциональной организации разнотипных водных экосистем. Среди них особое значение имеют представители рода *Daphnia* O.F. Müller, 1776 (Anomopoda: Daphniidae), которые также широко используются в качестве модельных животных. Несмотря на большую историю их изучения, статус некоторых таксонов остается неопределенным. Представленная работа посвящена решению ряда вопросов, раскрывающих механизмы формирования современного видового разнообразия группы видов группы *D. longispina* s.l. с использованием морфологического и генетического анализа широкого спектра популяций видов группы *Daphnia longispina* s.l. из водоемов Северной Евразии.

Научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы. Исследования проведены на обширной территории, которая ранее столь подробно не обследовалась. Уникальный методический подход позволил сделать важнейшие заключения по систематике, филогении и филогеографии *Daphnia longispina* s.l., путях и механизмах видообразования Cladocera. Важнейшее достижение – успешное применение «интегративного» подхода, включающего морфологический и популяционно-генетический анализы. Кроме этого, резуль-

таты исследования полезны для практического использования в ходе мониторинга разнотипных водоемов.

Обоснованность и достоверность научных положений и выводов. Все полученные результаты и сформулированные выводы обоснованы, базируются на большом объеме первичных данных, которые детально проанализированы с использованием современных подходов. Все основные положения работы широко апробированы на многочисленных конференциях, представлены в статьях, опубликованных в рецензируемых журналах.

Краткая характеристика основного содержания диссертации. Работа изложена на 264 страницах, включает введение, 7 глав, заключение, выводы, список литературы, состоящий из 311 источников (264 на иностранных языках). Диссертация проиллюстрирована 34 рисунками, данные представлены в 16 таблицах и приложениях.

В главе 1 дан всеобъемлющий обзор результатов и проблематики изучения ветвистоусых ракообразных, рода *Daphnia* и группы *D. longispina* s.l. Представлен достаточно полный литературный обзор по трем направлениям: история изучения рода *Daphnia* и таксономические проблемы, молекулярно-генетическая диагностика и филогения видов рода, взгляды на проблему криптических видов и современные методы идентификации *Daphnia*. В обзоре проанализировано много современных работ (с 2000 г. более 65% списка литературы), в том числе за последние 10 лет (с 2010 г. 100 работ или более 30% списка).

Глава 2 посвящена подробному и всеобъемлющему описанию материалов и методов, использованных при проведении работы. Весьма важно, что в самом начале автором приведены формулировки терминов и понятий. Сведения, представленные при описании материалов, методов их сбора и первичной обработки, морфологического, морфометрического и генетического анализа, свидетельствует о том, что все подходы автора обоснованы, их выбор позволяет решить все поставленные задачи.

В пяти разделах главы 3 описаны морфология, популяционная и межвидовая изменчивость *D. longispina* s.l. В частности, представлены диагностическая значимость морфологических признаков у близкородственных и криптических видов группы *D. longispina* s.l., изменчивость формы тела между морфами *D. galeata* из географически удаленных популяций, популяционная и межвидовая изменчивость формы тела у близкородственных видов группы *D. longispina* s.l., определена зависимость формы тела дафний исследуемой группы от размеров и факторов внешней среды, а также изменчивость формы тела у криптических видов группы *D. longispina* s.l.

В главе 4 проанализированы митохондриальная филогения и генеалогические связи гаплотипов. В частности, представлена филогения группы *D. longispina* s.l. на основе полного 12S блока, оригинального 12S блока, объединенного 12S+16S+ND2 блока, определены генеалогические связи между митохондриальными гаплотипами массовых видов группы, а также между митохондриальными гаплотипами криптических и редких видов группы.

В отдельных разделах главы 5 дан подробный анализ полиморфизма митохондриальной ДНК и эволюционной дивергенции, молекулярная дисперсия, демографическая история видов *D. galeata* и *D. longispina* s.str.

Глава 6 посвящена описанию филогении и идентификации криптических видов на основе региона ITS2 ядерной ДНК. В отдельных разделах представлены полиморфизм ITS2 последовательностей, предполагаемые модели вторичной структуры ITS2, проведен анализ компенсаторных замен, филогения группы *D. longispina* s.l. на основе фрагмента ITS2.

В главе 7 представлена филогеография и эволюционная история сибирских таксонов и митохондриальных клад. В частности, описано географическое распространение видов (*D. galeata*, *D. longispina* s.str., *D. dentifera*, *D. umbra*, *D. turbinata* и *D. cf. longispina*), эволюционная история массовых и редких видов группы *D. longispina* s.l. в Сибири, влияние плейстоценового оледенения на формирование современного разнообразия группы *D. longispina* s.l. в Сибири.

В заключении работы и 9 выводах резюмированы все основные положения диссертационного исследования, которые свидетельствуют об успешном достижении основной цели работы и решении поставленных задач.

Содержание автореферата в целом соответствует содержанию рукописи диссертации.

Столь интересная и масштабная работа, широкий спектр используемых методов и подходов, весьма актуальная проблематика неизбежно порождают вопросы. Ниже мы представляем вопросы и замечания к тексту диссертации и автореферата.

1. В названии диссертации указана Северная Евразия, в цели – азиатская часть России. Как соотносятся эти географические понятия в работе? Необходимо отметить, что реально исследованы лишь популяции юга Сибири, и огромная сибирская территория оказывается неохваченной. Оз. Чаны, Телецкое озеро и даже озера Тоджинской котловины вместе – это не вся азиатская часть России.

2. Раздел «практическая значимость» начинается с фразы «Наши исследования в целом повысили точность идентификации видов в пределах группы *Daphnia longispina* s.l. и внесли заметный вклад в развитие систематики рода, в частности, позволили с высокой степенью надежности определять редкие таксоны... В ходе выполнения работы подготовлен материал для определительных ключей рода *Daphnia longispina* s.l.». Однако, самих ключей в работе нет. А из заключения к главе 3 (стр. 103) следует, что различия между видами группы *D. longispina* s.l. «... определяются главным образом, формой рострума, верхней части вентрального края раковины, вентрального края головы (степенью ее изогнутости) и положением глаза относительно вентрального края головы». Те же признаки приведены в большинстве существующих определителей, в том числе в сводке (Ветвистоусые ракообразные ..., 2021). На наш взгляд, пока нет определительных ключей, рано говорить об увеличении «точности определения видов» и возможности «с высокой степенью надежности определять редкие

таксоны». Молекулярно-генетические методы дороги и не доступны большинству гидробиологов.

3. В разделе 1.5 автор пишет о наличии двух основных точек зрения на систематику исследуемой им группы. При этом нигде нет информации о том, какая система выбрана автором. Это становится понятно только из подписи к рис. 2.1.

4. В главе «Материалы и методы» отсутствует таблица, где был бы указан объем материала (в частности, количество проб, характеристики исследованных водоемов и т.п.). Во многих вещах приходится автору верить, что называется, «на слово». Отсутствует информация, из каких конкретно 100 популяций исследованы особи, на рис. 2.1 представлено явно не 100 точек. То же самое об исследованных генетическими методами 3000 особях (стр. 58). Если смотреть таблицы и приложения, где приводятся некоторые цифры по исследованному материалу, то 3000 не получается. Необходимо более подробно указать в отдельной таблице или приложении, из каких популяций, какими методами сколько особей исследовано, что объем диссертации вполне позволяет сделать.

5. В материалах и методах подраздел 2.3.1 не указано, из каких водоемов и в каком количестве использованы особи дафний для традиционного морфологического описания.

6. В «Приложении В» рисунки приведены не для всех рассмотренных в работе видов и без развернутого комментария. В тексте главы не проанализированы особенности морфологии изученных видов, приведены только морфометрические статистики. Вместе с тем, в заключении к главе 3 указано: «... на основе обширного фактического материала выявлены наиболее значимые признаки, обуславливающие популяционную и видовую изменчивость, и подтверждены достоверные различия в форме тела между формами/видами (в том числе и криптическими) группы *D. longispina* s.l.». При этом в задаче 2 прямо сформулирована необходимость «Проверить диагностическую значимость традиционных и новых морфологических (морфометрических) и генетических признаков

в пределах группы видов *Daphnia longispina* s.l.». Но результаты этой проверки отсутствуют.

7. Исходя из формулировки первого защищаемого положения («Большая часть популяций группы *D. longispina* s.l. Восточной Евразии представлена криптическими и эндемичными видами, идентификация которых возможна только с помощью комплексного подхода, включающего морфологические, морфометрические и молекулярно-генетические методы анализа.»), следует понимать, что без «комплексного подхода, включающего морфологические, морфометрические и молекулярно-генетические методы анализа» вообще нельзя идентифицировать большинство видов группы *D. longispina* s.l. в Восточной Евразии! В результате возникает противоречие между заключением к главе по морфологии, а также выводом № 2, и первым защищаемым положением?! К тому же в методике (глава 2) диссертант сама пишет, что «Перед выполнением всех анализов – морфологического, морфометрического и молекулярно-генетического – всех особей по возможности идентифицировали до вида (или группы видов) согласно ключам, представленным в работах С.М. Глаголева (Glagolev, 1986), Д. Флоснера и К. Крауса (Flößner, Kraus, 1986), М. Алонсо (Alonso, 1996), Д. Бензи (Benzie, 2005), а также по Определителю пресноводных беспозвоночных России (1995) и Определителю зоопланктона и зообентоса пресных вод Европейской России (2010)». То есть, сначала рачков определили до вида или группы видов, а потом после комплексного анализа написали, что без сложного комплексного подхода это сделать нельзя!

8. Задача № 3 сформулирована очень конкретно: «Провести ревизию отдельных таксонов группы видов *Daphnia longispina* s.l., распространенных в азиатской России». Ревизия была сделана для *D. turbinata* и *D. umbra* в работах (Zuikova et al., 2018, 2019). Однако в главе 3 ничего об этом не сказано. То есть, решенная задача осталась не запротоколированной в тексте диссертации.

9. На стр. 90 автор делает выводы о четких различиях формы тела для вида *D. cristata* и других видов дафний, изучив их представителей лишь из двух озер,

довольно удаленных друг от друга (см. рис. 3.4). А если взять особей этих видов из других водоемов и посмотреть изменчивость?

10. В заключении к главе 3 есть противоречия – в начале заключения диссертант говорит, «что большинство признаков формы тела не представляют собой ценности для их идентификации», тогда как в конце заключения уже – «на основе обширного фактического материала выявлены наиболее значимые признаки, обуславливающие популяционную и видовую изменчивость, и подтверждены достоверные различия в форме тела между формами/видами (в том числе и криптическими) группы *D. longispina* s.l.»

11. Необходимо отметить, что глава 3 – это единственная глава диссертации, в которой сведены все материалы по морфологии и результатам морфометрии популяций и видов рода *Daphnia*. В этом разделе акцент сделан на данных морфометрии, но особенности морфологии указаны кратко и поверхностно, хотя первые три задачи работы требуют в основном или частично анализа морфологических характеристик видов.

12. Вопрос для обсуждения: насколько оправдано «увлечение» автора геометрической морфометрией для целей систематики? Изучение топологии (не важно, используя ли ряды Фурье или путём сравнения множественных матриц) даёт больше информации о локальных морфах, нежели о действительном «хиа-тусе», пригодном для делимитации видов. Кроме этого, для рутинного разбора образцов в гидробиологических исследованиях этот метод вовсе не подходит. Скорее всего, выделенные морфы, которые будут считаться видами, в дальнейшем надо будет «классически» разодрать на части и составить нормальные дихотомические ключи на основании дискретных признаков.

13. Написано: «...нуклеотидные последовательности редактировали вручную...». Это немного странно, имея мощную программную базу для выравниваний (например, тот же пакет uGENE новосибирских разработчиков). Если для белок-кодирующих локусов можно собрать выравнивание и «на глаз», то для РНК подобный подход не только трудоёмкий, но и не совсем оправдан. Более

того, есть ряд алгоритмов, учитывающих вторичную структуру при выравнивании рДНК, которые явно лучше справятся с этой задачей.

14. Автор пишет: «Анализ UPGMA (евклидово расстояние) позволил выявить ...». Метод невзвешенного попарного среднего не относится к классифицирующим, поэтому здесь не совсем корректно говорить о «выделении кластеров». Лучше было сказать: «На основании кластеризации (UPGMA) можно выделить...».

15. Почему использовано понятие «12S блок». Это рибосомально-кодирующий локус мтДНК, поэтому и нужно говорить – «локус» или «ген» (тем более что в нём нет ни интронов, ни позиций кодонов).

16. Автор не чётко разделяет понятия «поддержка ветвления» и «топология» для филогенетических деревьев. Бутстреп-тест относится к первому, тесты на топологию – несколько иные (см., например, Nei, Kumar, 2000).

17. Слишком категорично проведена связь между показателями ген. разнообразия и популяционной дифференциацией. Лучше всё-таки сказать «может являться следствием» (как это использует и Avise, 2000).

18. Выводы должны быть соответствовать поставленным задачам. Задач поставлено 5, но для первой и третьей задачи – выводов нет. Решение третьей задачи вообще не представлено в тексте диссертации.

19. В выводе 4 утверждается, что «с помощью методов молекулярно-генетического анализа на территории азиатской части РФ впервые обнаружены популяции видов *D. dentifera* и *D. umbra*, а также *D. cf. longispina ...*», однако *D. umbra* – используется в анализе популяционной и межвидовой изменчивости формы тела (таблица 2.1). Значит её автор смог идентифицировать и по морфологическим признакам? Почему тогда это выделено как отдельный вывод?

20. Вывод 6. «Филогения группы *D. longispina* s.l. на основе второго промежуточного транскрибируемого спейсера ITS2 ядерной ДНК демонстрирует плохо разрешимую политомию и представляет собой результат гибридного происхождения некоторых особей близкородственных видов *D. galeata* – *D. cucullata* – *D. longispina* s.str., формирующих смешанные клады». Для под-

тверждения гибридного происхождения особей близкородственных видов *D. galeata* – *D. cucullata* – *D. longispina* s.str. недостаточно использовать только транскрибируемый спейсер ITS2, необходимы также и другие маркеры ядерной ДНК.

21. Автор совершенно правильно сокращение s.l. пишет обычным прямым шрифтом, однако при написании «*Daphnia longispina sensu lato*» нужно использовать курсив («*sensu lato*»).

22. GenBank обязательно должен писаться с указанием центра-владельца знака, т.е. GenBank (NCBI)

23. Неправильное название журнала в списке опубликованных работ под № 1: «Журн. биол. внутр. вод.», а нужно «Биол. внутр. вод.»

24. Почему «Зоологический журнал» исключен из списка WoS Core Collection? Это как раз один из тех примеров, когда отечественный русскоязычный журнал имеет импакт-фактор.

Столь большое количество вопросов свидетельствует лишь о том, что представленное диссертационное исследование затронуло весьма важную проблематику, поставлена очень высокая планка. Эти вопросы не снижают самую высокую оценку работы, сомнений в значимости и успешности которой не возникают.

Общее заключение. Представленная работа – законченное исследование, в ходе которого автором успешно достигнута цель исследования, решены поставленные задачи, сделаны принципиально важные выводы, расширяющие и углубляющие наши знания в рамках зоологии.

Результаты проведенной работы широко апробированы на многочисленных профильных конференциях и совещаниях, представлены в солидных публикациях, включая статьи в рецензируемых журналах, входящих в перечень ВАК РФ, в журналах из международных баз данных.

Защищаемое диссертационное исследование полностью соответствует всем критериям пунктов 9–11, 13, 14 "Положения о порядке присуждения ученых степеней", утвержденного постановлением Правительства РФ от 24 сен-

тября 2013 г. № 842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук, а ее автор – Елена Ивановна Зуйкова – заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.02.04 – зоология.

Отзыв рассмотрен на расширенном собрании лаборатории экологии водных беспозвоночных Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина Российской академии наук 08 ноября 2021 г., протокол № 12.

Главный научный сотрудник лаборатории экологии водных беспозвоночных Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН
доктор биологических наук



Лазарева Валентина Ивановна

152742, п. Борок, Ярославской обл., Некоузского района
ФГБУН ИБВВ РАН им. И.Д. Папанина РАН,
тел. (рабочий) 485 472 48 24
E-mail: laz@ibiw.ru

09 ноября 2021 г.

