

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

на диссертацию Конорова Евгения Андреевича «Изучение адаптации и преадаптации муравьев *Lasius niger* к урбанизированной среде методами молекулярной экологии», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.05 – энтомология

Неизбежным результатом социально-экономического развития человеческого общества становятся все возрастающие темпы урбанизации территории, что вынуждает организмы приспосабливаться к новым условиям. Работа Евгения Андреевича Конорова выполнена в русле чрезвычайно интересного и перспективного направления исследований, связанного с антропогенной эволюцией организмов. Несмотря на большой интерес к данной теме и множество работ, выполненных с использованием классических фаунистических и экологических методов, ряд вопросов, касающихся адаптивных возможностей организмов в городской среде, до сих пор остаются недостаточно исследованными. Отличительной чертой данной работы является применение методов молекулярной экологии, что открывает новые возможности для выявления адаптаций организмов к обитанию в условиях урбанизированных ландшафтов. Кроме того, хотелось бы отметить очень удачный выбор объекта исследований. Черный садовый муравей *Lasius niger* (Linnaeus, 1758) является ярким примером экологически пластичных видов. Он заселяет разнообразные местообитания, которые включают практически весь спектр антропогенных ландшафтов. Причины такого ошеломительного успеха данного вида до сих пор оставались невыясненными. Сравнительный анализ городских и природных популяций *L. niger* на геномном и метагеномном уровне позволил автору раскрыть молекулярно-генетические основы адаптации муравьев данного вида к городским условиям.

Представленная диссертация состоит из введения, четырех глав, выводов, списка литературы и приложения. Общий объем работы составил 189 страниц, из них основной текст занимает 136 страниц. Список литературы включает 309 источников, из которых 290 на иностранных языках.

Во «Введении» обоснована актуальность выбранной тематики, изложена степень разработанности последней в настоящее время, сформулированы цель и задачи исследования, а также положения, выносимые на защиту, показана научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы, охарактеризован личный вклад автора и степень апробации материала, подтверждающий достоверность изложенного материала. По материалам исследования автором опубликовано 7 печатных работ, включая 3 статьи в

рецензируемых научных журналах (Молекулярная биология, Генетика и BMC Evolutionary Biology).

В главе «Обзор литературы» представлен анализ литературных данных, касающихся антропогенной эволюции насекомых. Рассмотрены основные факторы, влияющие на жизнь насекомых в городской среде, а также физиологические и поведенческие адаптации насекомых к этим условиям. Достаточно полно освещены особенности биологии и экологии главного объекта исследований – черного садового муравья, *Lasius niger*. Выделены основные характеристики муравьев данного вида, способствующие освоению антропогенно-трансформированных экосистем.

Хотелось бы отметить тщательную проработку всех разделов, касающихся методов молекулярной биологии и геномики и возможностей их применения для решения задач молекулярной экологии. Приведена информация об уже известных геномах муравьев в сочетании с особенностями биологии и экологии исследованных видов. Подробно описаны генные семейства и генетические системы организма, которые рассматривались при сравнении геномов муравьев и исследовании адаптации насекомых к условиям урбанизированных территорий. Рассмотрены задачи и методы метагеномных исследований, а также довольно полно освещены имеющиеся данные по бактериальному, вирусному и грибному метагеному и микробиому муравьев, включая *L. niger*. Кроме того, сделан краткий обзор методов молекулярного моделирования. Приведены работы, в которых данные методы использованы для функционального описания белков насекомых.

Замечания. Есть несколько мелких замечаний/пожеланий к тексту данной главы, которые большей частью касаются информации о муравьях.

1. В разделе 1.3. «Особенности биологии и экологии *Lasius niger*» ошибочно приведена ссылка на работу Г.М. Длусского 1967 года о муравьях совершенно другого рода («Муравьи рода *Formica*»), в которой якобы приводятся сведения о территориальной организации в семьях *L. niger* и особенностях фуражировочной деятельности этих муравьев на кормовой территории (с. 22).

2. Поскольку диссертация представлена по специальности энтомология, при первом упоминании видов следовало бы приводить полное латинское название с автором и годом описания.

3. Среди сведений, касающихся муравьев, встречаются термины, которые представляют собой «кальку» с английского и выглядят в русскоязычном варианте довольно нелепо: например, миноры и мажоры (с. 33; раздел 3.2.3), под которыми, по-видимому, подразумеваются мелкие и крупные особи, относящиеся к разным кастам.

В главе «Материалы и методы» представлена информация о местах и способах сбора и подготовке материала для секвенирования генома и транскриптома *L. niger*, а также объеме полученных выборок. Достаточно подробно изложены и другие методы, использованные для решения поставленных задач, в частности для функциональной аннотации геномов, выявления генов, подверженных отбору, полногеномного сравнения популяций и метагеномного анализа.

Замечания. Следует отметить, что для данной главы наблюдается некоторое несоответствие числа и названий разделов, представленных в диссертации и автореферате. Кроме того, если для *L. niger* в обоих случаях информация изложена достаточно полно (в частности, методы, касающиеся пробоподготовки, анализа и обработки материала при сборке генома *L. niger* очень четко прописаны), то с *Lasius flavus* дело обстоит иначе. Так и осталось загадкой, где же были собраны представители данного вида, из скольких гнезд, а также как проводилась сборка генома. По всей видимости, процедура была аналогична тому, что указано для *L. niger*, однако в диссертации об этом не упоминается. В то же время, судя по представленным данным, функциональная аннотация генома *L. flavus* все-таки не проводилась, либо этот материал не вошел в диссертацию, в то время как в автореферате это заявлено как в подзаголовке главы 2, так и подразделе «Личный вклад автора».

Непонятно, почему *L. flavus* обойден вниманием автора, при этом информация о проведенной сборке генома этого муравья по праву вынесена в раздел «Научная новизна». Было бы разумнее добавить в список задач сборку генома данного вида и более детально подойти к анализу различий между двумя исследованными видами муравьев, часто встречающимися в сходных биотопах, но существенно отличающимися по своей биологии. Это позволило бы не только получить дополнительную информацию, но и более обстоятельно подойти к анализу функциональной аннотации генома муравьев.

В главе «Результаты» достаточно подробно изложены параметры сборки геномов двух исследованных видов – *L. niger* и *L. flavus*. Приведены результаты сравнительного анализа *L. niger* с другими, ранее исследованными видами муравьев. Проанализирована представленность в геноме генных онтологий, число повторяющихся элементов генома и генов ретровирусов и ретротранспозонов. Особое внимание уделено результатам, связанным с генами цитохромов P450, которые у *L. niger* оказались сильно дублированы. Всего в геноме *L. niger* выявлено 72 гена из 11 семейств CYP и 15 случаев tandemных дубликаций CYP. По сравнению с другими видами муравьев у *L. niger* число генов семейства CYP9 увеличено. С помощью молекулярного докинга и скрининга впервые показано, что белки CYP9E муравьев могут вступать во взаимодействие с инсектицидами, фито- и микотоксинами. Установлено, что число генов обонятельных рецепторов, выявленных для

данного вида, меньше, чем у других муравьев. Приведены результаты полногеномного популяционного сравнительного анализа муравьев города и области, который обнаружил значимые отличия. В ходе метагеномного анализа выявлено 44 рода бактерий из 40 семейств, из которых наиболее представлены 4 рода (*Acetobacter*, *Burkholderia*, *Hydrogenovibrio* и *Spiroplasma*), идентифицировано 56 родов грибов из 51 семейства. Из вирусов, обнаруженных в ходе исследования, наиболее распространенным является вирус желтой мозаики цуккини. Среди остальных выделяются: вирус осповакцины, грануловирус *Choristoneura occidentalis*, вирус хлоротической пятнистости перца и вирус Шамонды.

Замечания. Присутствие в метагеноме муравьев папилломовируса человека вызывает некоторое недоумение. К сожалению, автор никак не комментирует эту информацию. При этом возникает закономерный вопрос об условиях и качестве проведенной пробоподготовки (возможно, и самого анализа), а именно возможности занесения посторонних компонентов в ходе этого процесса.

В главе «Обсуждение» приведен детальный анализ и обсуждение основных результатов, связанных с адаптацией вида к условиям урбанизированных ландшафтов. Увеличение набора генов СУР9 рассматривается как преадаптация к городским условиям. С помощью молекулярного моделирования автором впервые показано, что белки СУР9Е муравьев могут вступать во взаимодействия не только с инсектицидами, но и с фито- и микотоксинами, что существенно расширяет диапазон потенциальных источников питания. Потеря генов обонятельной системы рассматривается как результат увеличения числа генов системы детоксикации, предполагается что, способность к обезвреживанию различных фито- и микотоксинов существенно снизила потребность в обонятельных рецепторах. Обсуждается возможная связь увеличения числа генов системы репарации ДНК с увеличением числа мобильных элементов в геноме. Приводятся возможные объяснения различий между городскими и природными популяциями *L. niger* по частотам аллелей синтазы жирных кислот, элементам сигнального пути Hippo/Fat и генам иммунной системы, с учетом того, что часть этих различий обусловлена действием естественного отбора. Рассматривается соотношение в метагеноме *L. niger* различных бактерий, их роль и возможные пути передачи. Обсуждаются различия вирусного метагенома городских и природных популяций *L. niger* по числу энтомопатогенных вирусов. Обоснована гипотеза о возможной роли *L. niger* в переносе вирусов животных и растений.

Замечания. В качестве небольшого замечания/пожелания на будущее хотелось бы отметить, что даже на уровне формулирования данной гипотезы не хватает обсуждения возможных механизмов передачи, которые совершенно не очевидны. В частности, когда речь идет о вирусах растений, роль муравьев может сводиться к опосредованному влиянию

через тлей-симбионтов, а не прямой передаче вируса. На мой взгляд, данный вопрос требует более глубокой и детальной проработки, включая изучение имеющейся литературы по биологии всех вовлеченных во взаимодействие объектов, и анализа наиболее вероятных способов передачи и распространения инфекции.

Выводы диссертационного исследования соответствуют его цели и задачам, сформулированным во «Введении», и представляются вполне обоснованными. Текст автореферата отражает основное содержание работы и сопровождается необходимым иллюстративным материалом.

Диссертация снабжена солидным списком литературы (309 источников), большая часть которого представлена работами на иностранных языках (290).

В «Приложении» приведен ряд таблиц и рисунков, содержащих детализированную информацию, использованную автором в основных главах.

Диссертация Евгения Андреевича Конорова в целом производит весьма благоприятное впечатление. Несмотря на некоторую сложность и определенную специфику методов, результаты изложены просто и понятно, а выводы вполне обоснованы. Автор успешно справился со всеми поставленными задачами. В ходе исследования впервые проведена функциональная аннотация генома черного садового муравья и получена сборка генома *L. flavus*. С помощью молекулярного моделирования впервые показано, что цитохромы р450 девятого семейства (CYP9) могут играть важную роль в детоксикации фито- и микотоксинов. Сравнительный анализ городских и природных популяций *L. niger* на геномном и метагеномном уровне позволил сделать вполне обоснованный вывод о важной роли иммунной системы в адаптации муравьев к городским условиям. С помощью метагеномного анализа впервые описан состав вирусов черного садового муравья и выдвинута гипотеза о его возможном участии в переносе вирусов животных и растений. Полученные результаты раскрывают возможные пути адаптации муравьев и других насекомых к городским условиям и могут быть использованы для исследований в области филогенетики муравьев, а также при планировании защитных мероприятий по контролю численности данного вида. Сделанные замечания не снижают общего благоприятного впечатления от работы.

В целом, диссертация Конорова Евгения Андреевича «Изучение адаптации и преадаптации муравьев *Lasius niger* к урбанизированной среде методами молекулярной экологии» на соискание ученой степени кандидата биологических наук по актуальности темы исследования, научной новизне, научно-методическому уровню, достоверности, теоретической и практической значимости полученных результатов полностью соответствует критериям, установленным в пунктах 2.1 и 2.2 «Положения о присуждении

ученых степеней МГУ» и представляет собой научно-квалификационную работу, в которой содержится решение задач, имеющих существенное значение для развития биологии, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.05 – энтомология.

Зав. лабораторией экологии
беспозвоночных животных
Института систематики и
экологии животных СО РАН
д.б.н.



Новгородова Татьяна Александровна

31.08.2018

ФГБУН Институт систематики и экологии животных СО РАН,
Россия, г. Новосибирск, ул. Фрунзе, д. 11,
лаборатория экологии беспозвоночных животных
e-mail: tanovg@yandex.ru
тел. 8 913 725 83 13

Подпись Новгородовой Т.А.
заверяю.

