

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 005.008.01
НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО
УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ МОРЯ им. А.В.
ЖИРМУНСКОГО ДАЛЬНЕВОСТОЧНОГО ОТДЕЛЕНИЯ РОССИЙСКОЙ
АКАДЕМИИ НАУК ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ
СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от «27»мая 2016 г. № 4

О присуждении Ефимовой Ксении Владимировне, гражданке России, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Молекулярная идентификация и особенности генетического разнообразия цианобактерий и одноклеточных водорослей акватории Японского моря» по специальности 03.02.07 – генетика принята к защите 21 марта 2016 г., протокол № 3, диссертационным советом Д 005.008.01 на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт биологии моря им. А.В. Жирмунского Дальневосточного отделения Российской академии наук, 690041, г. Владивосток, ул. Пальчевского, д. 17, приказ Минобрнауки России 105/нк от 11.04.2012 г.

Соискатель Ефимова Ксения Владимировна, 1988 года рождения. В 2012 году соискатель окончила Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Дальневосточный федеральный университет» по специальности «биология». В 2015 году соискатель окончила очную аспирантуру при Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институт биологии моря им. А.В. Жирмунского Дальневосточного отделения Российской академии наук, работает в должности младшего научного сотрудника в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институт биологии моря им. А.В. Жирмунского Дальневосточного отделения Российской академии наук.

Диссертация выполнена в лаборатории генетики Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт биологии моря им. А.В. Жирмунского Дальневосточного отделения Российской академии наук.

Научный руководитель – доктор биологических наук, профессор Брыков Владимир Алексеевич, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии моря им. А.В. Жирмунского Дальневосточного отделения Российской академии наук, лаборатория генетики, заведующий лабораторией.

Официальные оппоненты:

1. Кокшарова Ольга Алексеевна, доктор биологических наук, Научно-исследовательский институт физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского МГУ, ведущий научный сотрудник отдела биоэнергетики
2. Корень Ольга Геннадьевна, кандидат биологических наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Биолого-почвенный институт Дальневосточного отделения Российской академии наук, ученый секретарь, ведущий научный сотрудник лаборатории биотехнологии

дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Лимнологический институт Сибирского отделения Российской академии наук (ЛИН СО РАН), г. Иркутск, в своем положительном заключении, подписанном Анненковой Наталией Вадимовной, кандидатом биологических наук, старшим научным сотрудником лаборатории биологии водных беспозвоночных, Белых Ольгой Ивановной, доцентом, кандидатом биологических наук, ведущим научным сотрудником лаборатории водной микробиологии и Тимошкиным Олегом Анатольевичем, доктором биологических наук, заведующим лабораторией биологии водных беспозвоночных, указала, что по своей актуальности, теоретическим и практическим результатам, использованным методам и научной новизне диссертационная работа отвечает требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание степени кандидата наук, и критериям, установленным п. 9. «Положения о присуждении научных степеней», утвержденным постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 г., а автор заслуживает присуждения искомой степени.

Соискатель имеет 7 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации **7**, работ, опубликованных в рецензируемых научных изданиях, **3**.

Общий объем опубликованных работ **7,7** п.л., работ по теме диссертации – **7,7** п.л. Работы посвящены идентификации и изучению генетического разнообразия морских одноклеточных водорослей из Японского моря. В 5 из 7 работ Ефимова К.В. является первым автором, что свидетельствует о большом личном вкладе соискателя. В статьях и в материалах конференций опубликованы основные результаты исследований.

Наиболее значимые работы по теме диссертации:

1. **Ефимова К.В.**, Крещеновская М.А., Айздайчер Н.А., Орлова Т.Ю. Генетическое и ультраструктурное исследование трёх клонов *Porphyridium purpureum* (Bory de Saint-Vincent, 1797) Drew et Ross, 1965 (Rhodophyta) из коллекции морских микроводорослей Института биологии моря им. А.В. Жирмунского ДВО РАН // Биология моря. 2014. Т. 40, № 5. С. 373–383.

2. Kameneva P.A., **Efimova K.V.**, Rybin V.G., Orlova T.Yu. Detection of dinophysistoxin-1 in clonal culture of marine dinoflagellate *Prorocentrum foraminosum* (Faust M.A., 1993) from the Sea of Japan // Toxins. 2015. Vol. 7, № 10. P. 3947–3959.

3. Orlova T.Yu., Kameneva P.A., Stonik I.V., Morozova T.V., **Efimova K.V.**, Moore L., Eberhart B.-T.L., Wells M.L., Trainer V.L. Diarrhetic shellfish toxins in Primorsky Krai, Russia // Journal of Shellfish Research. 2015. Vol. 34, № 3. P. 1151–1160.

4. **Efimova K.V.**, Orlova T.Yu., Brykov V.I.A. Phylogenetic characterization of cryptic species of the marine dinoflagellate, *Ostreopsis* sp. Schmidt, 1902, from Russian coastal waters, the Sea of Japan // Journal of Biodiversity and Environmental Sciences. 2014. Vol. 5, № 4. P. 317–332.

На диссертацию и автореферат поступило 13 положительных отзывов.

Зав. лаб. биосистематики и цитологии ФГБУН Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН д.б.н. Родионов А.В. и ведущий научный сотрудник этой лаборатории д.б.н. Шнеер В.С. указали, что: 1) в автореферате недостаточно полно описаны материал и методы, в результате чего не всегда ясно, где на рисунках деревьев (на которых указаны лишь номера последовательностей в ГенБанке) образцы, проанализированные в данной работе; 2) на большинстве деревьев для узлов указаны поддержки по трем методам, что подразумевает

полную идентичность топологий, однако величины поддержки узла заметно различаются; 3) вывод 4 (о тесной близости цианобактерии из Амурского залива с представителями рода *Leptolyngbya/Phormidium*) и часть вывода 6 о том, что внутригеномный полиморфизм изученного российского образца рода *Ostreopsis* опровергает видовую самостоятельность двух японских образцов, представляются не вполне убедительно доказанными; 4) следовало бы указывать авторов названий исследуемых видов, что предусматривают правила таксономии. Отмечены также некоторые неудачные выражения в тексте. Старший научный сотрудник лаб. паразитологии ФГБУН Биолого-почвенный институт ДВО РАН Рожкован К.В. указал на отсутствие описания выявленной соискателем «высокой внутригеномной гетерогенности последовательностей 28S рДНК и ITS-региона». Старший научный сотрудник лаб. физико-химии почв ФГБУН Институт физико-химических и биологических проблем почвоведения РАН к.б.н. Темралеева А.Д. отметила, что: 1) при анализе только первичной структуры регионов ITS1 и ITS2 возникают сложности в поиске гомологичных позиций и выравнивании спейсеров, тогда как данные о вторичной структуре спейсеров облегчают выравнивание дивергентных последовательностей; 2) для идентификации на уровне видов лучше использовать не консервативные ядерные гены, а более переменные пластидные и митохондриальные гены; 3) отсутствует описание морфологии штамма цианобактерии Суано АВ-2014, которое позволило бы установить его таксономическое положение; 4) есть некорректные формулировки, например «гены рДНК, ген ITS-региона»; 5) стиль оформления рисунков с филогенетическими деревьями неодинаков, в подписях к ним отсутствует информация о длине анализируемых последовательностей и наличии на филограмме последовательности типового вида. Старший научный сотрудник лаб. водной микробиологии ФГБУН Лимнологический институт СО РАН к.б.н. доцент Белькова Н.Л. отметила наличие некоторых стилистических ошибок и неудачных вариантов транслитерации англоязычных терминов.

Отзывы без замечаний подписали: зав. лаб. генетики микроорганизмов ФГБУН Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН д.б.н. профессор Кацы Е.И.; зам. директора, зав. лаб. экспериментальной

гидроэкологии ФГБУН Институт биофизики СО РАН д.б.н. профессор Гладышев М.И. и научный сотрудник этой лаборатории к.б.н. Колмакова О.И.; профессор кафедры химии ФГБУН ВО «Благовещенский педагогический университет» д.б.н. доцент Иваченко Л.Е.; зав. лаб. ботаники Амурского филиала ФГБУН Ботанический сад-институт ДВО РАН д.б.н. доцент Старченко В.М.; профессор кафедры «биология и охотоведение» ФГБОУ ВО «Дальневосточный государственный аграрный университет» д.б.н. профессор Сандакова С.Л.; научный сотрудник лаб. морской биохимии ФГБУН Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН к.б.н. Балабанова Л.А.; доцент ФГБОУ ВО «Дальневосточный государственный аграрный университет» к.б.н. Тимченко Н.А.; зав. отделом молекулярных биотехнологий ФГБНУ Центр экспериментальной эмбриологии репродуктивных биотехнологий к.б.н. Ковальчук С.Н.; врио директора ФГБНУ «КамчатНИРО», и. о. зав. лаб. популяционной генетики промысловых видов рыб к.б.н. Шпигальская Н.Ю. и ведущий научный сотрудник этой лаборатории к.б.н. Пильганчук О.А.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается тем, что официальные оппоненты являются высокопрофессиональными специалистами в области изучения генетического разнообразия различных организмов, в том числе морских и пресноводных макрофитов и микроводорослей, бактерий, а также высших растений, а ведущая организация – научным учреждением, в число основных направлений фундаментальных и прикладных научных исследований которого входит комплексное исследование гидробионтов методами классической и молекулярной биологии, в том числе классификация одноклеточных эукариот на основе морфологии, геномных и/или метагеномных исследований.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований получены новые сведения по структуре генов рибосомной РНК (рРНК) и внутренних транскрибируемых спейсеров морских микроводорослей – 35 штаммов из коллекции ИБМ ДВО РАН, а также отдельных клеток динофлагеллят, гаптофитовых, красных водорослей и цианобактерии, выделенных из проб морской воды российской акватории

Японского моря. Идентифицированы риботипы динофлагеллят из 4 родов: *Ostreopsis* sp. (28 культур, 16 клеток этих культур и 9 клеток из морской воды), потенциально токсичных видов *Scrippsiella trochoidea* (2 культуры) и *Dinophysis acuminata* (24 клетки из морской воды) и нового для Тихого океана токсичного вида *Prorocentrum foraminosum* (2 культуры и 8 клеток из морской воды). Идентифицирован новый для дальневосточных морей вид и штамм гаптофитовой микроводоросли *Tisochrysis lutea* (1 культура). Подтверждена видовая принадлежность 3 культур красной микроводоросли *Porphyridium purpureum*. Определены частичные или полноразмерные последовательности ряда генов (28S рРНК, ITS1–5.8S рРНК–ITS2) для *P. purpureum*, *P. foraminosum* и *T. lutea*. Выявлена внутригеномная гетерогенность последовательностей 28S рРНК и ITS1-региона у динофлагеллят рода *Ostreopsis*, анализ которых не подтвердил самостоятельный таксономический статус японских риботипов, обозначенных в литературе как *Ostreopsis* sp.1 и *Ostreopsis* sp.2. На основе анализа специфического участка гена 16S рРНК определены таксономическое положение и связи цианобактериального изолята в составе рода *Leptolyngbya*.

Теоретическая значимость исследования состоит в том, что полученные молекулярно-генетические данные могут быть использованы в качестве маркеров для идентификации про- и эукариотических морских микроводорослей и изучения их филогенетических связей.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что они служат основой для проведения паспортизации и депонирования штаммов морских микроводорослей из уникальной коллекции ИБМ ДВО РАН, а также для разработки методов быстрой диагностики видов – продуцентов токсинов, представляющих потенциальную опасность при вспышках массового размножения («цветениях»).

Оценка достоверности результатов исследования выявила, что в работе использованы современные молекулярно-биологические методы определения нуклеотидных последовательностей, в том числе молекулярное клонирование, а также многочисленные методы обработки информации, современные программы и алгоритмы для реконструкции филогенетических

отношений между образцами, адекватные поставленным задачам. Достоверность результатов не вызывает сомнений благодаря значительному объему (36 клоновых культур, 57 отдельных клеток, 1 цианобактериальный изолят) биологического материала, разностороннему анализу и обобщению собственных данных и данных из генного банка (NCBI GenBank). В работе использовано сертифицированное современное оборудование: ПЦР-амплификаторы Bio-Rad C1000, DNA Engine Tetrad 2 (Bio-Rad, USA), GeneAmp 9700, ABI Veriti, генетические анализаторы GA3130, GA3500 и GA3130xl (Applied Biosystems, USA), спектрофотометр SmartSpec 3000 (Bio-Rad, USA), инвертированный микроскоп BX41 (Olympus, Japan), центрифуги Eppendorf 5417R (USA) и Beckman Allegra X-22R (USA), ламинарный бокс БАВнп-01-«Ламинар-С»-1,2 (Lamsystems, Россия).

Личный вклад соискателя состоит в непосредственном участии на всех этапах процесса: анализе литературных данных по теме исследования, планировании экспериментальной работы, получении, обработке и интерпретации экспериментальных данных, подготовке публикаций по теме диссертации и апробации результатов исследования.

На заседании 27 мая 2016 года диссертационный совет принял решение присудить Ефимовой Ксении Владимировне ученую степень кандидата биологических наук. При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве **16** человек, из них **5** докторов наук по специальности 03.02.07 – генетика, участвовавших в заседании, из **23** человек, входящих в состав совета, дополнительно введены на разовую защиту **0** человек, проголосовали: за **16**, против **0**, недействительных бюллетеней **0**.

Председатель диссертационного
совета, академик РАН

Ученый секретарь
диссертационного совета,
кандидат биологических наук
27 мая 2016 г.



Адрианов
Андрей
Владимирович
Ващенко
Марина
Александровна