

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию Майор Татьяны Юрьевны «ИССЛЕДОВАНИЕ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ЭВОЛЮЦИИ БАЙКАЛЬСКИХ ЦИКЛОПОВ (СОРЕРОДА: СУСЛОРОИДА) НА ОСНОВЕ ЯДЕРНЫХ И МИОХОНДРИАЛЬНЫХ ГЕНОВ», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – генетика.

Кандидатская диссертация Татьяны Юрьевны Майор посвящена исследованию филогении и эволюции байкальских копепоид отряда Cyclopoida с использованием молекулярно-генетических методов. Не секрет, что пути возникновения и эволюции фауны Байкала, включающей целый ряд эндемичных форм, являются одним из интереснейших и актуальных направлений биологии. Привлечение молекулярно-генетических методов, которые сильно развились за последние два десятилетия, даёт ощутимый прогресс в этих исследованиях.

Циклопы, исследованные в данной работе, принадлежат к одному из центральных и многочисленных подклассов ракообразных – Сорепода, населяющих различные пресноводные и морские биотопы. Циклопы составляют важнейший компонент пресноводных биоценозов и являются одним из основных пищевых компонентов молоди рыб. Кроме того, некоторые из них могут быть промежуточными хозяевами паразитов человека. На сегодняшний день для Байкала известны 46 видов и подвидов циклопов, большинство из которых (64%) представлены эндемиками.

Большинство научных работ посвящены морфологическому описанию новых видов или подвидов циклопов, в некоторых статьях приводится анализ их экологии. В то же время, эта группа характеризуется высокой морфологической пластичностью, поэтому, наряду с чёткими морфовидами циклопов, существуют формы, морфология которых не позволяет с уверенностью определить их как различные виды или подвиды. Также группа богата криптическими видовыми комплексами, для которых отсутствуют чёткие морфологические критерии.

Большинство байкальских копепоид относится к родам *Diacyclops* и *Acanthocyclops*. Эти роды включают морфологически близкородственные виды, многие из которых в результате научных исканий «мигрируют» между этими двумя родами в зависимости от таксономических предпочтений исследователей. Определённой сложностью определения принадлежности циклопов являются древность и многочисленность этих родов, как следствие включающих разнообразные морфологические формы. Так, *Diacyclops* насчитывает более 100 валидных видов и является самым многочисленным родом

циклопов, представляя, таким образом, своеобразную «таксономическую помойку» или «братскую могилу». Неудивительно, что целый ряд учёных считает эти роды не монофилетическими таксонами.

Накопившиеся проблемы в реконструкции эволюции байкальских циклопов и воссоздание их реальных родственных связей на современном этапе могут быть решены методами молекулярно-генетического анализа, в котором, как раз, хорошо разбирается Татьяна Юрьевна. Так что, на мой взгляд, для диссертации была выбрана актуальная и интересная тема, а именно «изучение особенностей эволюции и филогении видов циклопов, населяющих озеро Байкал; анализ соответствий современной систематики и молекулярной филогении эндемичных байкальских видов родов *Acanthocyclops/Diacyclops*». В ходе выполнения работы Татьяна Юрьевна постаралась разрешить следующие задачи: 1. Определить нуклеотидные последовательности ДНК для митохондриального гена COI и ядерного гена 18S рибосомной РНК – генетических маркёров, наиболее часто используемых в подобных работах. 2. На основе анализа полученных сиквенсов провести оценку межвидового и межродового полиморфизма байкальских циклопов и реконструировать филогенетические связи между ними. 3. Провести оценку геологического возраста байкальских циклопов с помощью метода молекулярных часов. 4. Кроме того, для копепод, как и для ряда других беспозвоночных, характерна диминуция хроматина в соматических клетках. Соответственно диссертант собиралась разработать и оптимизировать метод определения диминуций с помощью ПЦР, а также оценить, имеют ли диминуции какую-либо связь с эволюцией копепод?

Представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук работа Т.Ю. Майор изложена на 107 страницах машинописного текста и состоит из введения, трёх глав, заключения, выводов, библиографического списка, содержащего 201 источник, и двух приложений. Работа проиллюстрирована 16 рисунками и 8 таблицами. По теме диссертации опубликованы 7 работ, в том числе 3 статьи в рецензируемых журналах из перечня ВАК РФ и входящих в систему цитирования Web of Science, и 4 тезисов. Таким образом, результаты исследований достаточно полно освещены в научной прессе. Материалы исследований представлены на целом ряде международных и российских научных конференций.

В результате работы впервые были получены молекулярно-генетические данные для циклопов из оз. Байкал, проведена предварительная реконструкция филогенетических взаимоотношений между представителями 6 родов из двух подсемейств Cyclopiinae и Eucyclopiinae, проведен филогенетический анализ и оценка возраста для 12 видов из сложного в таксономическом определении комплекса *Acanthocyclops/Diacyclops*. Также

выявлена проблема в таксономическом определении байкальских циклопов, предложен молекулярно-генетический метод относительной оценки изменений размера генома у циклопов с использованием ПЦР. Автором впервые обнаружена диминуция хроматина у некоторых байкальских циклопов и показана эволюционная несогласованность изменения размера диминуций хроматина и филогении циклопов. Все полученные результаты являются новыми для науки. Особо хочется отметить, что диссертацию приятно читать, потому что она написана на чистом русском языке с соблюдением всех грамматических правил, без ошибок.

Таким образом, диссертация представляет собой объёмный труд и неудивительно, что при её прочтении у меня возникли не только похвала и одобрение, но и некоторые вопросы и замечания. Обычно при оппонировании диссертаций я привожу только серьёзные замечания, а второстепенные указываю только в тексте, но в данном случае, так как замечаний мало, мне пришлось указать все. Вот они:

1. В автореферате в главе «Материалы и методы» приводится рисунок с обозначением мест сбора изученных циклопов в оз. Байкал (Рис. 1). Этот рисунок отсутствует в тексте диссертации, но было бы правильным включить его в диссертацию тоже.

2. Вообще я отметил некоторую скупость в рисунках. Конечно, диссертация более «генетическая», чем «зоологическая» (хотя в последнее время обе эти отрасли биологии часто используются совместно в исследованиях). Мне кажется очевидным и необходимым привести в диссертации рисунки (либо фотографии) исследуемых циклопов с указанием тех морфологических признаков, которые используются в современной таксономии этих групп. Это не было сделано.

3. В различных местах диссертации автор приводит мысль о том, что копеподы являются наиболее многочисленной группой беспозвоночных. Например, во Введении: «Веслоногие ракообразные, к которым относятся циклопы, представляют собой самую многочисленную группу среди многоклеточных животных...» или в Главе 1: «Отряд включает 11500 видов, входящих в 200 семейств, хотя эти данные могут составлять всего 15% от фактического количества видов (Huys, Boxshall, 1991). Таким образом, веслоногие ракообразные представляют собой самую многочисленную группу среди многоклеточных животных, включая крайне многочисленных насекомых и нематод (Humes, 1994)». С этим трудно согласиться. Бесспорно, копеподы – одна из многочисленных групп ракообразных (по разным данным, от 10 до 20 тысяч видов). Не будем говорить о насекомых, которые, к слову сказать, относятся к ракообразным, в том числе и благодаря молекулярно-генетическим исследованиям, и реально представляют самый многочисленный таксон

многоклеточных животных (включают более 1 миллиона описанных видов). Но высшие ракообразные подкласса Eumalacostraca включают более 40 тысяч видов (где только отряд Decapoda – около 20 тыс. видов, не считая амфипод и изопод, численность которых сопоставима с таковой копепод).

4. Возвращаясь к отсутствию морфологических рисунков, приведу пример, подтверждающий их необходимость. Так, в Главе 1 (1.3 Таксономические проблемы комплекса «*Diacyclops* / *Acanthocyclops*») читаем: «В обоих родах P5 (это грудная конечность – прим.) состоит из отдельного базиподального членика, который не срастается (иногда срастается в *Diacyclops* согласно Kiefer (1929)) с сомитом, несущего одну внешнюю щетинку и одного свободного дистального членика, несущего один шип и одну щетинку. В роде *Acanthocyclops* шип короткий и приблизительно равен длине дистального членика P5, и занимает субапикальную внутреннюю позицию, тогда как в *Diacyclops* этот шипик длиннее дистального членика P5 и является апикальным или субапикальным (Laurentis, 2004)». Было бы нелишним проиллюстрировать строение P5 в этих таксонах. Это необходимо было сделать, чтобы дать визуальное понятие об основных морфологических признаках, обсуждаемых в тексте.

5. Нужно быть корректнее с цитированием статей и авторства в тексте, особенно когда вид был после отнесён к другому роду и авторство приводится в скобках. Например, Глава 1 (1.8 Диминуция хроматина. Методы оценки размеров геномов у пресноводных ракообразных): «Впервые процесс ДХ (диминуции хроматина, прим.) обнаружен при цитологическом изучении поведения хромосом в ходе митотического деления у паразитической нематоды *Parascaris univalens* (Boveri, 1887). Диминуция хроматина описана для инфузорий, некоторых паразитических нематод, циклопов, хрящевых рыб *Hydrolagus colliei* (Lay, Bennett, 1839)...» Из-за одинаковости цитирования авторства и статей непонятно, что в данном случае имеется в виду: первое обнаружение диминуции или автора вида аскариды? Насколько я знаю – это открытие диминуции хромосом. То же с последующей ссылкой – это авторы хрящевой рыбы-химеры или открыватели диминуции у перечисленных таксонов? Необходимо ссылки на статьи и авторство таксонов делать отличными. Например, не использовать запятую при ссылке на статью.

6. Иногда на рисунках-кладограммах жирным шрифтом выделяются полученные генетические последовательности (рис. 7), а иногда, напротив, последовательности, заимствованные в ГенБанке. Необходимо соблюдать единообразие.

7. Очень жаль, что не удалось получить собственные данные по 18S для рода *Acanthocyclops*. Это недоработка, которая, конечно же, будет устранена впоследствии, я не сомневаюсь. Так, на рисунке 14 «Филогенетическая схема (NJ-древо), построенная на

основе последовательностей фрагмента гена 18S рРНК» присутствуют данные только для одного вида, взятые из ГенБанка. В то же время, привлечение данных для ряда байкальских видов этого рода, который не является монофилетическим и близок к *Diacyclops*, могло бы изменить топологию клад.

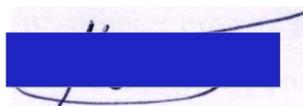
8. Статья (Мац и др., 2011) отсутствует в списке литературы.

На этом запас моих замечаний подходит к концу. Все приведенные замечания не умаляют заслуг диссертанта. Работа Татьяны Юрьевны Майор полностью соответствует требованиям ВАК, предъявляемым к кандидатским диссертациям. Автореферат и опубликованные статьи полностью отражают содержание работы.

Диссертационная работа «ИССЛЕДОВАНИЕ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ЭВОЛЮЦИИ БАЙКАЛЬСКИХ ЦИКЛОПОВ (СОРЕРОДА: CYCLOPOIDA) НА ОСНОВЕ ЯДЕРНЫХ И МИОХОНДРИАЛЬНЫХ ГЕНОВ» соответствует основным квалификационным критериям (пункт 9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842), а ее автор, Майор Татьяна Юрьевна, заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 - генетика.

23 февраля 2018 г.

Доктор биологических наук, доцент, ведущий научный сотрудник Беломорской биологической станции биологического факультета Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова, 119991 Москва, Воробьевы горы, д. 1, стр. 12, тел. +74959394233, e-mail: gakolbasov@gmail.com



Григорий Александрович Колбасов

