

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 005.008.01,
СОЗДАННОГО НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО
БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ «НАЦИОНАЛЬНЫЙ НАУЧНЫЙ
ЦЕНТР МОРСКОЙ БИОЛОГИИ» ДАЛЬНЕВОСТОЧНОГО ОТДЕЛЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК, ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ
УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 3 апреля 2018 г. № 1

О присуждении Майор Татьяне Юрьевне, гражданке России, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Исследование молекулярной эволюции байкальских циклопов (Copepoda: Cyclopoida) на основе ядерных и митохондриальных генов» по специальности 03.02.07 – генетика принята к защите 19 декабря 2017 г. (протокол заседания № 9) диссертационным советом Д 005.008.01, созданным на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Национальный научный центр морской биологии» Дальневосточного отделения Российской академии наук, 690041, г. Владивосток, ул. Пальчевского, д. 17, приказ Минобрнауки России 105/нк от 11.04.2012 г.

Соискатель Майор Татьяна Юрьевна, 1985 года рождения. В 2008 году соискатель окончила с отличием Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Иркутский государственный университет» по специальности «биология». В 2015 году соискатель окончила очную аспирантуру при Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Лимнологический институт Сибирского отделения Российской академии наук, работает в должности ведущего инженера в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Лимнологический институт Сибирского отделения Российской академии наук.

Диссертация выполнена в лаборатории ихтиологии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Лимнологический институт Сибирского отделения Российской академии наук.

Научный руководитель – кандидат биологических наук, доцент Кирильчик Сергей Васильевич, Федеральное государственное бюджетное

учреждение науки Лимнологический институт Сибирского отделения Российской академии наук, старший научный сотрудник лаборатории ихтиологии.

Официальные оппоненты:

Колбасов Григорий Александрович, доктор биологических наук, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», ведущий научный сотрудник Беломорской биологической станции им. Н.А. Перцова

Туранов Сергей Викторович, кандидат биологических наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Национальный научный центр морской биологии» Дальневосточного отделения Российской академии наук, научный сотрудник лаборатории молекулярной систематики

дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова Российской академии наук (ИПЭЭ РАН), г. Москва, в своем положительном заключении, подписанном Беккер Евгенией Игоревной, кандидатом биологических наук, научным сотрудником лаборатории экологии водных сообществ и инвазий, указала, что по своей актуальности, научной новизне, научно-практической значимости и использованным современным методам диссертационная работа соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание степени кандидата наук, и критериям, установленным в пунктах 9–11 «Положения о присуждении научных степеней», утвержденным постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 г., а автор заслуживает присуждения искомой степени.

Соискатель имеет 10 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации опубликовано 7 работ, из них в рецензируемых научных изданиях опубликовано 3 работы. В диссертации отсутствуют недостоверные сведения об опубликованных работах. Работы по теме диссертации общим объемом 4,3 п.л. посвящены изучению родственных связей байкальских циклопов на основе молекулярных данных по двум маркерам – фрагментам генов цитохромоксидазы I митохондриального генома и 18S рибосомной РНК

ядерного генома, а также описанию нового метода оценки относительного размера геномов у циклопов. В 5 работах Майор Т.Ю. 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. **Майор Т.Ю.**, Шевелева Н.Г., Суханова Л.В., Тимошкин О.А., Кирильчик С.В. Молекулярно-филогенетический анализ циклопов (Copepoda: Cyclopoida) из озера Байкал и его водосборного бассейна // Генетика. 2010. Т. 46, № 11. С. 1556–1564.

2. Тетерина В.И., Галимова Ю.А., Шевелева Н.Г., Суханова Л.В., **Майор Т.Ю.**, Зайцева А.Н., Кирильчик С.В. Простой и эффективный метод оценки размера диминуции хроматина у циклопов с использованием ПЦР в режиме реального времени // Генетика. 2016. Т. 52, № 11. С. 1327–1331.

3. **Майор Т.Ю.**, Галимова Ю.А., Шевелева Н.Г., Суханова Л.В., Кирильчик С.В. Молекулярно-филогенетический анализ представителей родов *Diasyclops* и *Acanthosyclops* (Copepoda: Cyclopoida) из озера Байкал // Генетика. 2017. Т. 53, № 2. С. 233–239.

На диссертацию и автореферат поступило 8 положительных отзывов.

Заведующий лабораторией экспериментальной экологии Института биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН д.б.н. Вербицкий В.Б. высказал мнение о том, что указанное автором в автореферате разногласие полученных ею данных о наличии диминуции у *Megacyclops viridis* с данными других исследователей требует дальнейшей верификации метода на других видах циклопов. Старший научный сотрудник отдела экологии животных Института биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН к.б.н. Фефилова Е.Б. и старший лаборант-исследователь отдела экологии животных Института биологии Коми научного центра УрО РАН Кочанова Е.С. заметили, что: 1) показатель эндемизма для Cyclopoida Байкала несколько завышен, поскольку не принято во внимание высокое число эндемиков среди байкальских гарпактицид (Harpacticoida); 2) для выделения ДНК было бы лучше использовать не яйца циклопов, а целых животных (или их части), что позволило бы учитывать пол особей; 3) в автореферате встречаются опечатки (например, «GeneBank» вместо «GenBank»). Научный сотрудник кафедры

гидробиологии биологического факультета МГУ к.б.н. Новичкова А.А. отметила, что: 1) не совсем удачно сформулированы первое и второе положения, выносимые на защиту, которые отражают полученные результаты, а не постулируют гипотезу исследования в виде отдельных тезисов, как это должно быть; 2) формулировка нескольких положений дословно совпадает с формулировкой выводов работы, что не совсем корректно; 3) выводы недостаточно ёмко сформулированы, например, вывод 1 не отражает никакого результата исследования, а лишь указывает на факт выполнения конкретной задачи. Старший научный сотрудник лаборатории экологии сообществ позвоночных животных Института систематики животных Сибирского отделения РАН к.б.н. Зуйкова Е.И. указала, что 1) предложение автореферата «Все анализируемые байкальские виды являются эндемиками озера, за исключением *A. americanus* и *C. kolensis*» не корректно, нужно было указать род и вид; 2) нужно было более подробно описать методы реконструкции филогенетических деревьев – указать число репликаций, выбранные модели; 3) в работе встречаются опечатки («GeneBank» вместо «GenBank»). Зуйкова Е.И. спрашивает: «В чем причина несогласованности между молекулярной филогенией и традиционной систематикой циклопов?». Научный сотрудник Зоологического института РАН к.б.н. Сухих Н.М. отметила, что в тексте встречаются опечатки и в некоторых случаях оформление автореферата вызывает вопросы: 1) рис. 7 сложно читается – плохо видно, какие из последовательностей выделены жирным шрифтом, а какие – нет; 2) на рис. 7 жирным шрифтом обозначены собственные последовательности автора, а на других, наоборот – заимствованные из базы данных.

Отзывы без замечаний подписали: профессор кафедры зоологии беспозвоночных и гидробиологии Иркутского государственного университета д.б.н. Тахтеев В.В., ведущий научный сотрудник кафедры гидробиологии биологического факультета МГУ к.б.н. Чертопруд Е.С. и старший научный сотрудник лаборатории аналитической биоорганической химии Лимнологического института Сибирского отделения РАН к.б.н. Бутина Т.В.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается тем, что официальные оппоненты являются высокопрофессиональными специалистами в области молекулярной

филогенетики и геносистематики, а ведущая организация – научным учреждением, в число основных направлений фундаментальных и прикладных научных исследований которого входит изучение биологического разнообразия, в том числе морфологии, систематики, зоогеографии, экологии и эволюции ракообразных.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований получены первые молекулярно-генетические данные для эндемичных видов циклопов (Copepoda: Cyclopoida) из озера Байкал. Определены нуклеотидные последовательности фрагментов митохондриального гена цитохромоксидазы I (*COI*) и ядерного гена 18S-субъединицы рибосомной РНК (18S рРНК) для 22 видов и 2 подвидов циклопов. На основании анализа полученных соискателем и привлеченных из международной базы данных GenBank (NCBI) нуклеотидных последовательностей двух генетических маркеров – *COI* и 18S рРНК – реконструированы филогенетические связи между 6 родами из 2 подсемейств (*Cyclopinae* и *Eucyclopinae*), а также между 12 видами и 1 подвидом из родов *Acanthocyclops* и *Diacyclops* – самых многочисленных и отличающихся высоким уровнем эндемизма родов. Выявлено несоответствие между молекулярно-филогенетическими данными и традиционной систематикой группы эндемичных байкальских циклопов *Diacyclops versutus*, *D. galbinus*, *D. improcerus*, *Acanthocyclops profundus tomilovi*, *A. profundus profundus*. Подтверждена полифилетичность рода *Acanthocyclops*. Показано, что эндемичные байкальские представители рода *Diacyclops* образуют монофилетическую группу. Методом «молекулярной датировки» определен возраст эндемичных видов из комплекса *Acanthocyclops/Diacyclops* – 20 млн лет, что соответствует протобайкальскому этапу геологической истории региона (30,0–3,5 млн лет назад). Разработан метод оценки относительного размера геномов у циклопов с применением полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ПЦР-РВ), что позволило выявить наличие диминуции хроматина у космополитического вида циклопов *Megacyclops viridis*. Обнаружена несогласованность между изменением размера диминуции хроматина и филогенией циклопов.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что полученные молекулярно-генетические данные вносят существенный вклад в фундаментальную базу для дальнейших исследований в области систематики и филогении копепод (Copepoda) – одного из самых многочисленных подклассов ракообразных, населяющих различные пресноводные и морские биотопы. Данные о филогенетических взаимоотношениях байкальских циклопов дополняют сведения об истории и эволюции уникальной фауны Байкала. Метод оценки относительного размера генома с использованием ПЦР-РВ, разработанный соискателем, важен для исследований биологической роли феномена диминуции хроматина.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что в базу данных GenBank (NCBI) депонировано 45 нуклеотидных последовательностей ядерного гена, кодирующего рибосомную РНК у 13 видов и 1 подвида циклопов, из которых 5 видов и 1 подвид – эндемики озера Байкал, и 56 последовательностей гена митохондриальной ДНК, кодирующего цитохромоксидазу I у 15 видов и 1 подвида циклопов, из которых 9 видов и 1 подвид – эндемики озера. В числе этих видов – 12 представителей комплекса *Acanthocyclops/Diacyclops*, идентификация которых затруднена вследствие высокой морфологической изменчивости.

Оценка достоверности результатов исследования выявила, что соискателем использованы современные молекулярно-генетические подходы, адекватные поставленным задачам: молекулярное клонирование, ПЦР, ПЦР-РВ, определение нуклеотидных последовательностей ДНК на генетических анализаторах, а также многочисленные программы и алгоритмы для реконструкции филогенетических деревьев. Достоверность результатов не вызывает сомнений благодаря значительному объему биологического материала (45 нуклеотидных последовательностей 18S рРНК от 33 особей 13 видов и 1 подвида циклопов, 56 последовательностей COI от 56 особей 15 видов и 1 подвида), разностороннему анализу и обобщению собственных данных и данных из GenBank (NCBI). Применение предложенного соискателем метода оценки относительного размера диминуции хроматина с помощью ПЦР-РВ показало, что полученные результаты соответствуют имеющимся в

литературе данным для вида *Cyclops kolensis*, что свидетельствует о корректности нового метода. В работе использовано сертифицированное современное оборудование: амплификатор в режиме реального времени Rotor-Gene Q (Qiagen, Германия), генетический анализатор ABI 3130XL (Applied Biosystems, США), однокапиллярный анализатор ДНК ABI310A (Applied Biosystems, США) и восьмиккапиллярный анализатор ДНК CEQ8800 (Beckman Coulter, США).

Личный вклад соискателя состоит в непосредственном участии в экспедиционных и экспериментальных работах, в анализе и интерпретации полученных результатов, в представлении и обсуждении полученных результатов на международных и российских конференциях, в подготовке публикаций по теме диссертации.

На заседании 3 апреля 2018 г. диссертационный совет принял решение присудить Майор Татьяне Юрьевне 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 **22** 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

Адрианов
Андрей
Владимирович
Ващенко
Марина
Александровна

3 апреля 2018 г.