

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу **Петуниной Жанны Владимировны** «Сравнительный эколого-генетический анализ микроспоридий и их хозяина – байкальской амфиподы *Gmelinoides fasciatus*», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.08 – экология.

Актуальность темы исследования

Диссертационная работа Петуниной Жанны Владимировны направлена на исследование экологических аспектов видообразования, а также объяснение механизмов, которые создали в относительно ограниченной экосистеме озера Байкал такое колоссальное разнообразие жизни.

На данный момент паразитофауна беспозвоночных Байкала изучена слабее, чем фауна хозяев. Не полностью учитывается потенциальное разнообразие симбионтов и паразитов ряда таксономических групп беспозвоночных гидробионтов. Паразиты составляют существенную долю в видовом разнообразии практически любой экосистемы. Более того, они могут принимать участие в видообразовательных процессах у хозяев. На данный момент в Байкале существует выраженный дефицит таксономического разнообразия паразитов, и еще больший дефицит разнообразия видоспецифических паразитов.

Общая характеристика диссертационной работы

Структура и объем диссертации. Диссертационная работа Ж.В. Петуниной изложена на 156 страницах, содержит 11 таблиц и 19 рисунков. Диссертация включает следующие разделы: введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты и обсуждение, заключение, выводы, список цитируемой литературы (416 источников).

Введение. Во введении автор обосновывает актуальность избранной темы исследования и подходы к ее решению, формулирует цель работы, основные задачи исследования и положение, выносимое на защиту.

Обзор литературы (стр. 16-74). Обзор научных сведений об изучаемом вопросе представлен и структурирован в соответствии с целью исследования и поставленными задачами. В нем изложены современные представления об эволюции амфипод в озере Байкал, а также теоретические данные о популяционных процессах и механизмах видообразования, литературные данные о таковых для древних озер и для Байкала в частности. Рассматриваются различные механизмы видообразования и модели для воссоздания демографических процессов. Далее дается описание микроспоридий, паразитирующих на объекте исследования – байкальской амфипode *Gmelinoides fasciatus*.

Материалы и методы диссертационной работы (стр. 74-87). В главе «Материалы и методы» дана характеристика объектов и методов исследования. Для проведения экспериментов автором были использованы современные молекулярно-генетические методы детекции микроспоридий, а также филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей фрагментов генома как вида-хозяина, так и микроспоридий. Подробно представлен анализ популяционной структуры, генетической изменчивости, расчет индексов F-статистики, реконструкции демографической истории популяций.

Результаты и обсуждение (стр. 87-113). По результатам анализа последовательностей фрагментов гена первой субъединицы цитохром оксидазы *C* дана молекулярно-филогенетическая характеристика, выявлен внутривидовой полиморфизм и проведена реконструкция демографической истории вида *G. fasciatus*. На основе исследования пространственной генетической структуры автор выделяет четыре группы *G. fasciatus*, которые образуют четыре отдельные ветви на простирающемся древе, и считает их

отдельными популяциями. Автор высказывает предположение о том, что популяционная подразделенность вида *G. fasciatus* может быть объяснена экологической репродуктивной изоляцией из-за дифференциальной зараженности микроспоридиями.

Для того чтобы подтвердить или опровергнуть возможную роль микроспоридий в формировании межпопуляционных барьеров у амфиподы *G. fasciatus*, определили, имеет ли место зависимость генетической структуры популяций хозяина и состава сообществ микроспоридий. Для этого была расшифрована нуклеотидная последовательность фрагмента гена малой субъединицы рДНК, проведен филогенетический анализ полученных последовательностей и была выявлена зараженность популяций *G. fasciatus* шестью видами микроспоридий.

В результате были обнаружены значительные отличия между популяциями хозяина по составу паразитов. Исходя из этого, возможной причиной формирования или поддержания относительных репродуктивных барьеров между популяциями *G. fasciatus* являются отличия в видовом составе и частоте встречаемости паразитирующих микроспоридий. Однако это не исключает, что дифференциальное заражение микроспоридиями может быть и вторичным эффектом подразделенности вида-хозяина.

В разделе «**Заключение**» диссертант, кратко обобщая и обсуждая полученные в ходе исследования результаты в сравнении с имеющимися в научной литературе данными по изучаемому вопросу. Автор впервые с помощью методов молекулярного анализа подробно исследовал генетическую прерывистость обитающей по всему периметру озера Байкал амфиподы *G. fasciatus*. Установлено внутривидовое подразделение вида на четыре популяции. Выявлено низкое генетическое разнообразие этой популяции *G. fasciatus* по исследованному фрагменту мтСО1. В результате проведенных исследований выявлена зараженность популяций *G. fasciatus* шестью видами микроспоридий, пять из которых, скорее всего, являются

эндемичными для Байкала. Видовой состав этих паразитов, частота встречаемости и коинфицирование в четырех популяциях резко различаются, что, по мнению автора, может служить причиной формирования репродуктивных барьеров между существующими популяциями *G. fasciatus*.

Завершают работу выводы, которые соответствуют поставленной цели и задачам исследования, аргументированы и объективно отражают полученные экспериментальные данные и доказывают выносимое автором на защиту научное положение.

Следует отметить, что различные этапы работ выполнялись при поддержке шести грантов РФФИ, гранта Marie Curie Fellowship 2008 г., гранта ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры ...» (2009 – 2013). Основные выводы диссертационной работы подтверждены фактическими данными, результаты представлены в 13 печатных работах, в том числе три в рецензируемых журналах. Апробация работы прошла на представительных Всероссийских и международных конференциях.

Текст автореферата отражает основные результаты и выводы диссертационной работы, в нем показан вклад автора в проведенное исследование, а также степень новизны и практическая значимость результатов исследований.

Достоинства и недостатки по содержанию и оформлению работы

Анализ представленного диссертантом материала свидетельствует об обоснованности и достоверности полученных автором результатов. Фактический материал хорошо иллюстрирован. Экспериментальная часть работы хорошо продумана и спланирована. Заслуживает внимания огромное количество фактического материала, представленного в работе. Образцы амфипод были собраны в течение девяти лет (2001 – 2009 гг) в литоральной зоне по всему периметру Байкала и во время экспедиций на реке Ангара в районе Иркутской и Усть-Илимской ГЭС во время экспедиций 2008 – 2009

гг. Диссертационная работа изложена хорошим научным языком, результаты представлены четко и последовательно, предопределяя следующие этапы работы, и в итоге позволяют заключить, что выносимое на защиту научное положение о взаимосвязи между разнообразием видов микроспоридий и внутривидовым разнообразием хозяина, *G. fasciatus*, в Байкале – обосновано и доказано.

Научная новизна. Впервые подробно исследована пространственно-генетическая неоднородность байкальского вида *G. fasciatus* с помощью молекулярно-генетических методов. Установлено подразделение вида как минимум на четыре популяции. Установлена скорость накопления замен для фрагмента митохондриального гена первой субъединицы цитохром-с-оксидазы *G. fasciatus*. Впервые реконструирована демографическая история исследованных популяций. Установлен видовой состав, частота встречаемости микроспоридий во всех четырех популяциях хозяина, а так же присутствие коинфицирования в юго-западной популяции *G. fasciatus*. Подробное исследование амфиподы *G. fasciatus* показало относительно высокое видовое разнообразие паразитирующих на ней микроспоридий. Число видов паразита превышает таковое хозяина.

Теоретическая и практическая значимость.

Результаты исследования могут быть использованы для моделирования макро- и микроэволюционных процессов формирования репродуктивной изоляции и видового разнообразия. Нуклеотидные последовательности фрагментов гена CO1 мтДНК и гена малой субъединицы рДНК микроспоридий депонированы в GeneBank. Результаты проведенных исследований используются в курсе лекций по генетике на биолого-почвенном факультете Иркутского государственного университета.

Замечания

Как и любая подобная работа, представленная диссертация не лишена некоторых недостатков, а к автору имеются некоторые вопросы и замечания:

1. Из главы «Материалы и методы» следует, что образец гаммаруса гомогенизировался целиком перед выделением ДНК. Исходя из этого, возникает вопрос: на каком основании диссертант может быть уверен, что расшифрованные последовательности микроспоридий, принадлежат именно паразитам *G. fasciatus*, а не попали в организм хозяина с пищей?

2. В главе «Результаты и обсуждение» на стр. 112 написано: «Зависимость между составом и обилием паразитов и генетической структурой популяций хозяина оказалась положительной, значения достоверными (рис. 19)». Далее, в следующем абзаце читаем «Этот результат не исключает, что дифференциальное заражение микроспоридиями может быть и вторичным эффектом подразделенности вида. Однако, корреляции между составами сообществ паразита и генетической дифференцированностью *G. fasciatus* не значительная». Как это можно расценить?

3. Необходимо с большой осторожностью делать вывод о видовой принадлежности организма, расшифровав незначительную часть его генома, как это сделано в выводе 4 о микроспоридии *Dictyocoela duebenum*.

Заключение

Таким образом, диссертационная работа «Сравнительный эколого-генетический анализ микроспоридий и их хозяина – байкальской амфиподы *Gmelinoides fasciatus*» по актуальности и объему проведенного исследования, а также по приоритетности полученных результатов отвечает требованиям к кандидатским диссертациям и соответствует основным квалификационным критериям «Положения о присуждении ученых степеней» (от 24.09.2013 г, № 842), а ее автор Петунина Жанна Владимировна, заслуживает присуждения

степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.08 – экология.

Старший научный сотрудник лаборатории природно-очаговых вирусных инфекций Федерального казенного учреждения здравоохранения Иркутский ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательского противочумного института Сибири и Дальнего Востока, Роспотребнадзора
Кандидат биологических наук по специальности 03.02.02 – Вирусология (биология).

664047, г. Иркутск, ул. Трилиссера, 78;

Телефон: +7(3952)220-135; Факс: +7(3952)220-140;

Email: adelshin@gmail.com

Старший научный сотрудник лаборатории «Проблемы адаптации биосистем» Научно-исследовательского института биологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Иркутский государственный университет»
664003, г. Иркутск, ул. Ленина, д. 3;

Телефон: +7(3952) 24-30-77; Факс: +7(3952) 34-00-07;

Email: adelshin@gmail.com

Адельшин Ренат Викторович

Адельшин

Подпись Р.В. Адельшина заверяю:



Адельшин

*Глас. к ОК и др
И. И. Мамарова*