

### О Т З Ы В

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

Общеизвестно, что паразитические организмы могут не только составлять существенную часть видового разнообразия любой экосистемы, но и принимать участие в процессах видообразования у хозяев. В отношении микроспоридий установлено, что у байкальских амфипод они представлены необычно большим количеством видов. Однако, целый ряд вопросов, связанных с видовой специфичностью микроспоридий и возможным участии этих паразитов в эволюционных процессах у хозяев, вплоть до настоящего времени остается неизученным. В этой связи **актуальность темы** диссертационной работы Ж.В. Петуниной, посвященной изучению внутривидовой генетической структуры амфиподы *Gmelinoides fasciatus* и возможному влиянию микроспоридий на эволюцию этого вида, не вызывает сомнений.

**Научная новизна** представленной к защите диссертации Ж.В. Петуниной определяется, в частности, тем, что в ней впервые детально изучена пространственно-генетическая неоднородность байкальского вида *G.fasciatus* с использованием методов и подходов геносистематики. Впервые показано, что вид представлен четырьмя популяциями (юго-западной, северной, центральной, юго-восточной). Установлена скорость накопления нуклеотидных замен в нуклеотидной последовательности фрагмента митохондриального гена субъединицы I цитохромоксидазы *G.fasciatus*. Автором осуществлена реконструкция демографической истории изученных популяций. Обнаружено большое разнообразие видов микроспоридий в пределах одного исследуемого вида байкальских амфипод. Впервые установлен видовой состав, частота встречаемости микроспоридий во всех четырех популяциях вида-хозяина и наличие коинфицирования в юго-западной популяции *G.fasciatus*. Заслуживает внимания факт обнаружения популяционно-специфических паразитов.

Работа Ж.В. Петуниной имеет несомненную **практическую ценность**, поскольку полученные результаты могут использоваться для моделирования макро- и микроэволюционных процессов формирования репродуктивной изоляции и видового разнообразия. Полученные автором результаты могут быть использованы для выявления естественных резервуаров микроспоридий в озере Байкал.

**Характеристика диссертации.** Работа Жанны Владимировны Петуниной представляет собой законченное исследование, отвечающее по оформлению требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям. Она изложена на 156 машинописных страницах и состоит из введения, обзора литературы, главы с описанием материалов и методов, главы «Результаты и обсуждение», заключения, выводов и списка цитируемой литературы, включающем 416 источников, 311 из которых на иностранных языках. Работа иллюстрирована 19 рисунками и 11 таблицами.

**Материалы автореферата и 13 печатных работ по теме диссертации** достаточно полно отражают содержание диссертационной работы. Работа Ж.В. Петуниной прошла апробацию на всероссийских и международных конференциях и симпозиумах.

**Во введении**, написанном по общепринятой форме, автор обосновывает актуальность исследования, направленного на выявление взаимосвязи между разнообразием видов микроспоридий и внутривидовым разнообразием хозяина, *Gmelinoides fasciatus*, в озере Байкал. Сформулированы основные задачи, которые необходимо было решить для достижения основной цели работы. В этом же разделе в кратком виде приводятся сведения, характеризующие диссертационную работу в целом.

В первой части главы «**Литературный обзор**» автором охарактеризованы амфиподы древних озер и озера Байкал, в том числе, дана детальная характеристика исследуемого вида *Gmelinoides fasciatus*. Рассмотрены вопросы эволюции амфипод в озере Байкал. Во второй части проанализированы существующие представления о популяционных процессах и факторах, влияющих на генетическое разнообразие популяций, и дано описание теоретических подходов и моделей, необходимых для реконструкции демографических процессов в популяциях. Отдельная часть литературного обзора посвящена рассмотрению механизмов аллопатрического, парапатрического и симпатрического видообразования. Приводятся имеющиеся в научной литературе сведения о способности паразитов выступать в качестве одного из факторов симпатрического или парапатрического видообразования. Заключительная часть этой главы посвящена микроспоридиям, паразитирующим на исследуемом автором виде байкальских амфипод *Gmelinoides fasciatus*. Наряду с общей характеристикой микроспоридий достаточно подробно рассмотрены вопросы их филогении и биологических механизмов инфицирования организма хозяина.

В главе «**Материалы и методы**» приведено подробное описание мест и методов сбора биологического материала, выделения ДНК с последующими процедурами амплификации и секвенирования анализируемых фрагментов генов. Специальные разделы главы содержат описание методов оценки генетического разнообразия, филогеографического анализа и реконструкции демографических историй популяций *Gmelinoides fasciatus*. Важную роль в получении представленных в диссертации научных результатов сыграло умелое использование автором современных методов биоинформатики.

Глава «**Результаты и обсуждение**», являющаяся основной частью работы, состоит из 6 разделов. Одним из наиболее важных результатов работы Ж.В. Петуниной является выявление популяционной структуры *Gmelinoides fasciatus* озера Байкал. Автору удалось установить, что уровень обмена генами между обнаруженными отдельными группами этого вида амфипод является достаточно низким. Этот результат в совокупности с результатами оценки полиморфизма нуклеотидных последовательностей фрагмента гена субъединицы I цитохромоксидазы митохондрий с помощью нескольких тестов позволил сделать обоснованное заключение о существовании 4-х популяций *G. fasciatus* в Байкале: юго-западной, юго-восточной, северной и центральной.

Обращает на себя внимание тот факт, что юго-западная популяция *G. fasciatus* имела самый низкий показатель генетического разнообразия. Величина этого показателя для юго-западной популяции была существенно меньше таковой для остальных популяций, что свидетельствует в пользу представлений о прохождении этой популяции через стадию «бутылочного горлышка». Предполагаемое падение численности этой популяции автор связывает с катаклизмом на Байкале в виде сброса и формирования современного ландшафта западного берега озера. Предположено, что в связи с катаклизмом произошло разрушение местообитаний *G. fasciatus* и его массовое вымирание. Нельзя исключать, однако, что вымирание могло быть вызвано и другими причинами, например, эпизоотиями.

Автором впервые осуществлена реконструкция демографической истории выявленных в ходе исследования популяций *G. fasciatus*. В то время как юго-западная популяция демонстрирует умеренный рост численности особей, результаты реконструкции для остальных популяций указывают на их относительно постоянную численность. В соответствии с полученными автором данными рост численности юго-западной популяции начался примерно 25-50 тысяч лет назад в период, характеризующийся потеплением климата, относительно высоким уровнем воды в озере и увеличением количества диатомовых водорослей. Наблюдаемое увеличение численности юго-западной популяции автор связывает с восстановлением после прохождения стадии «бутылочного горлышка». В целом, обнаруженное у юго-западной популяции увеличение численности и стабильная численность остальных популяций *G. fasciatus* указывает на то, что экологические факторы не препятствовали успешной эволюции популяций этого вида в озере Байкал. По заключению автора, заселение озера Байкал представителями вида *G. fasciatus* началось с восточного берега озера, а юго-восточная популяция, по-видимому, является предковой для остальных популяций этого вида. Внебайкальские представители вида *G. fasciatus* из озера Арахлей и Финского залива показали принадлежность к юго-восточной популяции вида.

Заслуживает особого внимания предпринятая Ж.В. Петуниной в своей работе попытка ответить на трудный вопрос, что послужило причиной разделения экологически очень пластичного вида на популяции со слабым

потоком генов при непрерывности ареала обитания и отсутствии явных географических барьеров. По мнению автора, одним из наиболее вероятных механизмов формирования популяций амфиподы *G. fasciatus* может быть их дифференциальная зараженность микроспоридиями. При этом в результате различий в видовом составе и частоте встречаемости паразитирующих на *G. fasciatus* микроспоридий возникает экологическая репродуктивная изоляция, ведущая к формированию отдельных популяций внутри вида.

Как следует из полученных Ж.В. Петуниной данных, в юго-западной популяции представлены все обнаруженные виды микроспоридий. Тот факт, что из 4-х популяций *G. fasciatus* только юго-западная демонстрирует наличие всех видов паразитирующих на них микроспоридий, можно объяснить высокой подверженностью инфицированию амфипод во время прохождения ими стадии «бутылочного горлышка» или массового вымирания популяции. Автор полагает, что некоторые из зараженных особей могли дать начало массовому инфицированию, а также стать толчком для образования новых видов этого паразита. Случаи двойного заражения были обнаружены только у представителей юго-западной популяции. Присутствие нескольких видов паразитов в одном хозяине позволяет говорить о наличии вертикального способа передачи микроспоридий в Байкале. Установлено, что юго-восточная популяция менее всего заражена исследуемыми внутриклеточными паразитами.

Анализ относительных различий по составу сообществ паразитов позволил автору выявить значительные отличия между популяциями хозяина. Установлено, что высокая степень зараженности популяций связана положительной корреляционной связью с величиной межпопуляционных генетических дистанций. В связи с этим различия в распределении микроспоридий могут, по мнению автора, оказывать влияние на эволюцию репродуктивных барьеров, контролируемых этими видами паразитов. Обнаруженные межпопуляционные различия в зараженности микроспоридиями могут служить причиной формирования репродуктивных барьеров между существующими популяциями и тем самым поддерживать слабый межпопуляционный обмен генами.

В целом, автору удалось впервые продемонстрировать существование значительных межпопуляционных различий по видовому составу и частоте встречаемости паразитирующих на *G. fasciatus* микроспоридий. На данном этапе исследования нельзя исключить, что дифференциальное заражение микроспоридиями может быть вторичным эффектом разделения вида на популяции. Однако межпопуляционные различия по составу паразитов более выражены, нежели генетические различия популяций хозяина. На этом основании автором делается заключение о том, что микроспоридии могут играть определенную роль в формировании изоляции между популяциями *G. fasciatus* и тем самым в процессе видообразования.

**Выводы диссертации** в целом отражают ее содержание. Степень обоснованности выводов и основных положений, выносимых на защиту, не вызывает сомнений.

Несмотря на общее положительное впечатление от работы, в ней обнаруживаются некоторые недостатки:

1. На стр. 79 текста и в других разделах работы говорится о несуществующем в природе «гене малой субъединицы рибосомальной рРНК», хотя имеется в виду ген рибосомной РНК (рРНК) малой субъединицы рибосомы (SSU-rRNA).

2. В списке используемой литературы (стр. 118, 121, 122, 127, 133, 134) автором приводятся неполные библиографические описания цитируемых работ, что затрудняет знакомство с этими источниками.

3. В представленной диссертационной работе основные положения, выносимые на защиту, и выводы по существу совпадают как по числу, так и своему содержанию, что, по мнению оппонента, является недостатком оформления работы. Защищаемых положений в диссертации по определению должно быть существенно меньше, чем выводов, поскольку положения являются научными обобщениями более высокого, нежели выводы, уровня. В связи с этим возникает вопрос, какое одно или два положения автор считает наиболее важными с точки зрения достижения основной цели исследования.

4. В тексте диссертационной работы встречаются неудачные в стилистическом и смысловом отношении выражения и обороты.

В целом, отмеченные выше недостатки и замечания не снижают несомненной научной ценности проделанного Ж.В. Петуниной исследования, которое по своей теме полностью соответствует специальности "экология".

#### **Заключение**

Диссертация Ж.В. Петуниной, представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук, является законченной научно-исследовательской работой, в которой автором получен ряд оригинальных фактов и выводов по проблеме генетических механизмов возникновения внутривидового полиморфизма у байкальской амфиподы *Gmelinoides fasciatus*. По актуальности проблемы, методическому уровню решения, объему проделанной работы, теоретической и практической ценности полученных результатов она соответствует требованиям, установленным «Положением о порядке присуждения ученых степеней», утвержденным постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013, а ее автор, Жанна Владимировна Петунина, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.08 - экология.

Заведующий лабораторией генетической инженерии  
ФГБУН Сибирский институт физиологии и биохимии растений  
Сибирского отделения Российской

академии наук, д.б.н., проф.

/Константинов  
Юрий Михайлович/

664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 132, а/я 317.  
Тел.+7 (3952) 42-67-21  
Факс +7 (3952)51-07-54  
Эл.почта: [yukon@sifibr.irk.ru](mailto:yukon@sifibr.irk.ru)

02.12.2015



Подпись: *Константинов Ю.М.*  
**ЗАВЕРЯЮ**  
Начальник отдела кадров  
*Делькина А.С.*  
02.12.2015г.