

## ОТЗЫВ

на автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук

Жуковой Алины Александровны

«ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ ТРЕМАТОД РОДА *LEUCOCHLORIDIUM*»

Работа Алины Александровны посвящена изучению особенностей генетического полиморфизма и филогенетических связей дигенетических сосальщиков рода *Leucochloridium*, инфицирующих разные виды птиц семейства Passeridae (Воробьиные). Актуальность данной темы очевидна в виду способности спороцист этих трематод формировать на теле первого промежуточного хозяина характерные выросты, имитирующие личинок насекомых формой, окраской и движением, что легло в основу систематики этого рода трематод. Правомочность такой системы впервые была проверена Алиной Александровной в представляемой работе с помощью молекулярно-генетических методов. Применяв принципиально разные молекулярные маркеры, включая мультилокусные маркеры ядерной ДНК - RAPD с одной стороны и индивидуальные нуклеотидные последовательности рибосомной ДНК - с другой, Алина Александровна успешно продемонстрировала возможность использования молекулярных методов для идентификации видов трематод рода *Leucochloridium*, выделенных на основе морфологии отростков спороцист. Следует особо отметить строгий селективный подход Алины Александровны к использованию метода RAPD, который, в силу особенностей используемых праймеров, обладает экстремально высокой чувствительностью к контаминации чужеродной ДНК и низкой воспроизводимостью результатов. Не менее важным методологическим достижением Алины Александровны является разработка праймеров и получение наиболее полной нуклеотидной последовательности кластера рибосомной ДНК, включающего гены 18S, 28S, 5.8S рРНК и некодирующие участки внутренних транскрибируемых спейсеров, что, на мой взгляд, в выводах отмечено весьма посредственно. Третий вывод следовало сформулировать, например, таким образом: "Впервые получена наиболее полная последовательность нуклеотидов кластера генов рРНК для видов рода *Leucochloridium* и т.д. ...". Методологическая часть научно-исследовательской работы не менее важна, чем описание и интерпретация результатов, поэтому в будущем не следует умалять собственных методологических достижений. Лишними в автореферате, на мой взгляд, выглядят картинки электрофореза ПЦР - продуктов рДНК спороцист. Данные иллюстрации в представленном виде не несут по сути никакой важной информации за исключением успешности амплификации фрагментов рДНК с разработанными праймерами. Анализ полиморфизмов нуклеотидных последовательностей и реконструкция филогенетических деревьев по этим данным уже



говорят о том, что амплификация и секвенирование фрагментов рДНК прошли успешно, а вместо картинок электрофореза вполне можно было вставить информативный текст или еще одно филогенетическое древо. Результаты оценки полиморфизма нуклеотидных последовательностей рДНК представлены довольно подробно и убедительно доказывают обоснованность выводов. Данные по реконструкции вторичных структур последовательностей ITS2 значительно подкрепляют полученные результаты. Вызывает некоторое недоумение отсутствие анализа полиморфизма мультилокусных RAPD маркеров. Несмотря на то, что в работе использован всего один праймер, полученные с его помощью данные вполне пригодны для оценки полиморфизма значительной части ядерной ДНК и результаты могли бы выглядеть более весомо и полноценно. Филогенетические связи трематод *Leucochloridium* реконструированы с помощью нескольких алгоритмов на основе нуклеотидных последовательностей рДНК. На рисунке 6 представлено филогенетическое древо, основанное на нуклеотидных последовательностях фрагмента ITS1-5.8S-ITS2 рДНК, где виды рода *Leucochloridium* образуют компактный достоверный кластер, что является основанием для помещения исследуемых трематод в один и тот же род. Однако это не является основанием для помещения трематод именно в род *Leucochloridium*, поскольку на древе не представлены образцы трематод этого рода, рДНК которых, как указано в автореферате, была секвенирована ранее другими авторами. Тем не менее в результатах отмечено, что были реконструированы филогенетические деревья по данным секвенирования генов 18S и 28S рРНК, подтверждающие принадлежность исследуемых трематод к роду *Leucochloridium*. Эти деревья скорее всего представлены в тексте диссертации, однако, как было отмечено выше, их можно было включить в автореферат вместо картинок электрофореза. Кроме того, на древе никак не отражено использование нескольких алгоритмов филогенетических реконструкций. Как правило, при сходных топологиях, на филогенетическом древе для каждого узла указывают несколько значений статистической поддержки, полученной при использовании того или иного алгоритма. Этого вполне достаточно для оценки эффективности разных алгоритмов реконструкции филогенетических связей.

В целом работа Жуковой Алины Александровны производит исключительно приятное впечатление, что значительно подкрепляется близостью научных интересов Алины Александровны и автора представляемого отзыва. Выявленные недочеты и замечания нисколько не умаляют актуальности, фундаментального значения, огромной теоретической и практической ценности диссертационной работы Алины Александровны. Выводы полностью соответствуют поставленным задачам, подтверждены

экспериментальным материалом и не вызывают сомнений. Алина Александровна безусловно заслуживает искомой степени кандидата биологических наук, наилучших пожеланий и успехов в дальнейшей работе.

Ведущий научный сотрудник,  
Кандидат биологических наук  
лаборатории паразитологии  
Федеральное государственное бюджетное  
учреждение науки "Федеральный научный центр  
биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии"  
ДВО РАН



Атопкин Дмитрий Матвеевич

690022, г. Владивосток, проспект 100-летия Владивостока, 159

Тел.: +7-914-705-28-05, E-mail: [pan2006\\_82@mail.ru](mailto:pan2006_82@mail.ru)

Подпись Атопкина Д.М. заверяю  
Начальник отдела кадров  
ФНЦ Биоразнообразия ДВО РАН  
8 февраля 2017



Шушунова Елена Александровна

