

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 002.223.01 НА
БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО
УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ ЗООЛОГИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК ПО ДИССЕРТАЦИИ НА
СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

Аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 14 февраля 2017 г. № 1

О присуждении Жуковой Алине Александровне, гражданке РФ, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Генетический полиморфизм трематод рода *Leucochloridium*», по специальностям 03.02.11 – паразитология, 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология (биологические науки), принята к защите 22 ноября 2016 г., протокол № 7 диссертационным советом Д 002.223.01 на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Зоологический институт Российской академии наук, 199034, г. Санкт-Петербург, Университетская наб., д. 1, № 105/нк от 11 апреля 2012г.

Соискатель Жукова Алина Александровна 1986 года рождения, в 2009 году окончила Федеральное государственное образовательное учреждение высшего образования «Российский государственный университет имени А. И. Герцена» по специальности «Биология», в 2011 году окончила магистратуру Федерального государственного образовательного учреждения высшего образования «Российский государственный университет имени А. И. Герцена» по направлению «Естественнонаучное образование». В 2014 году окончила аспирантуру Федерального государственного образовательного учреждения высшего образования «Российский государственный университет имени А. И. Герцена», во время обучения в аспирантуре сдала кандидатские экзамены по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология (2013 г.), по истории и философии науки (2012 г.) и

иностранному языку (2012 г.). Для подготовки и сдачи кандидатского экзамена по специальности 03.02.11 – паразитология была прикреплена к Федеральному государственному бюджетному учреждению науки Зоологический институт Российской академии наук в 2016 г. Работает ассистентом кафедры зоологии в Федеральном государственном образовательном учреждении высшего образования «Российский государственный университет имени А. И. Герцена».

Диссертация выполнена на кафедре зоологии Федерального государственного образовательного учреждения высшего образования «Российский государственный университет имени А. И. Герцена».

Научный руководитель – доктор биологических наук Цымбаленко Надежда Васильевна, Федеральное государственное образовательное учреждение высшего образования «Российский государственный университет имени А. И. Герцена», кафедра зоологии, профессор.

Официальные оппоненты:

Слюсарев Георгий Сергеевич, доктор биологических наук, доцент, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Санкт-Петербургский государственный университет», кафедра зоологии беспозвоночных, профессор, Семёнова Серафима Константиновна, кандидат биологических наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии гена Российской академии наук, лаборатория организации генома, старший научный сотрудник, дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт систематики и экологии животных Сибирского отделения Российской академии наук, г. Новосибирск, в своем положительном заключении, подписанном Юрловой Натальей Ильиничной, кандидатом биологических наук, старшим научным сотрудником лаборатории патологии насекомых, указала, что по своему

объему, актуальности поставленных задач, научной новизне поставленных результатов и их практической значимости диссертационная работа Жуковой Алины Александровны по теме: «Генетический полиморфизм трематод рода *Leucochloridium*» полностью соответствует требованиям «Положения о порядке присуждения ученых степеней» ВАК РФ, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 03.02.11 – паразитология; 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология.

Соискатель имеет 18 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации 18 работ, опубликованных в рецензируемых научных изданиях, – 3. Научных статей, опубликованных в журналах, не входящих в перечень ВАК – 1. Все работы общим объёмом 2 печатных листа, из них в рецензируемых научных изданиях – 0.8 п.л. Авторский вклад в опубликованные в соавторстве научные работы составляет не менее 60%.

Наиболее значительные работы по теме диссертации:

1. Ataev, G. L. Multiple infection of amber *Succinea putris* snails with sporocysts of *Leucochloridium* spp. (Trematoda) / G. L. Ataev, **A. A. Zhukova**, A. S. Tokmakova, E. E. Prokhorova // *Parasitology Research*. – Springer: Verlag Berlin Heidelberg. – 2016. – P. 2 - 8. – ISSN 0932-0113.
2. **Zhukova, A. A.** Identification of species *Leucochloridium paradoxum* and *L. perturbatum* (TREMATODA) based on rDNA sequences / A. A. Zhukova, E. E. Prokhorova, A. S. Tokmakova, N. V. Tsymbalenko, G. L. Ataev // *Parazitologiya*. – 2014. – № 48. – P. 386 - 391.
3. **Жукова, А. А.** Генотипирование трематод рода *Leucochloridium*, обитающих на территории Ленинградской области / А. А. Жукова, Е. Е. Прохорова, Н. В. Цымбаленко, А. С. Токмакова, Г. Л. Атаев // *Паразитология*. – СПб.: Наука, 2012. – Том 46, вып. 6. – С. 414 - 419.

4. **Zhukova, A. A.** Phylogenetic intercommunications of trematodes of *Leucochloridium* genus. Modern Achievements in Population, Evolutionary, and Ecological Genetics: International Symposium, Vladivostok – Vostok Marine Biological Station, September 1-10, 2015: Program & Abstracts. – Vladivostok. – 2015. – P. 85. – Engl. ISBN 978-5-7442-1563-7.
5. **Жукова А. А.** Сравнительный анализ рДНК трематод рода *Leucochloridium* / А. А. Жукова, Е. Е. Прохорова // Материалы V Съезда Паразитологического общества при РАН: Всероссийской конференции с международным участием «Паразитология в изменяющемся мире»; ИСиЭЖ СО РАН. – Новосибирск: Гарамонд. – 2013. – С. 72.
6. **Поспелова (Жукова), А. А.** Определение видовой принадлежности трематод рода *Leucochloridium* с помощью молекулярно-генетических методов / А. А. Поспелова (Жукова), Е. Е. Прохорова, Н. В. Цымбаленко, Г. Л. Атаев // Функциональная морфология, экология и жизненные циклы животных: научные труды кафедры зоологии РГПУ им. А. И. Герцена. – СПб.: ТЕССА. – 2011. – Вып. 11. – С. 51 - 68.

На диссертацию и автореферат поступили отзывы:

1. д.б.н. Ибрагимов Ш. Р. (Научный Центр «Азербайджанская Национальная Энциклопедия»);
2. к.б.н. Лебедева Д. И. (ФГБУН Институт биологии Карельского научного центра РАН);
3. к.б.н. Николаев К. Е. (ФГБУН Зоологический институт РАН);
4. к.б.н. Захаров Г. А. (ФГБУН Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН);
5. к.б.н. Корнийчук Ю. М. и к.б.н. Дмитриева Е. В. (ФГБУН Институт морских биологических исследований им. А. О. Ковалевского РАН);
6. к.б.н. Акимова Л. Н. (ГНПО НПЦ НАН Беларуси по биоресурсам);
7. к.б.н. Рожкован К. В. (ФГБУН Федерального научного центра биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии ДВО РАН);
8. к.б.н.

Атопкин Д. М. (ФГБУН Федерального научного центра биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии ДВО РАН).

Всего поступило 8 отзывов из 7 организаций. Все отзывы положительные. Отзывы подписали 1 доктор и 8 кандидатов наук. Из них 5 отзывов без замечаний и 3 (отзывы к.б.н. Рожкована К. В., к.б.н. Атопкина Д. М., к.б.н. Захарова Г. А.) с замечаниями: «К недостаткам работы можно отнести отсутствие обоснования использования неукоренённых филогенетических деревьев», «В описании материалов и методов, сказано, что секвенирование проводили самостоятельно, при помощи реагентов BigDye® TerminatorKit. Здесь хотелось бы видеть упоминание о том, какую технологию и прибор использовали для секвенирования. Также хотелось бы видеть в автореферате последовательность праймера G8, с которым были получены воспроизводимые различия между электрофоретическими профилями RAPD-амплификатов исследуемых спороцист. Это облегчило бы поиск этой последовательности для других исследователей», «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 умилять собственных методологических достижений. Лишними в автореферате, на мой взгляд, выглядят картинки электрофореза ПЦР - продуктов рДНК спороцист. Кроме того на древе никак не отражено использование нескольких алгоритмов филогенетических реконструкций». Ответы на замечания содержатся в стенограмме заседания совета.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается тем, что оппоненты и авторы отзыва ведущей организации — ведущие российские ученые паразитологи, исследующие проблемы систематики, молекулярной генетики, биологии и морфологии

паразитических организмов, известные своими научными трудами по указанной проблематике в рецензируемых научных изданиях.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

разработана концепция об уникальном механизме предотвращения гиперинвазии моллюска при множественном заражении трематодами рода *Leucochloridium*, основанном на способности спороцист прободать стенку тела моллюска и выходить во внешнюю среду (03.02.11); **разработана** система видовой идентификации трематод рода *Leucochloridium*, основанная на молекулярно-генетических методах (03.03.04); **предложены** филогенетические реконструкции, подтверждающие принадлежность рода *Leucochloridium* к семейству Leucochloridiidae, входящему в состав надсемейства Brachylaimoidea (03.02.11), а также оригинальные специфические праймеры для последовательности нуклеотидов кластера генов рРНК (18S-ITS1-5.8S-ITS2-28S) *L. paradoxum*, *L. perturbatum* и *L. vogtianum* (03.03.04); **доказано** таксономическое положение исследованных видов трематод в составе рода *Leucochloridium* (03.02.11) с помощью нескольких ядерных маркеров, представляющих собой консервативные участки, кодирующие 18S, 28S рРНК и переменные участки, кодирующие ITS1, ITS2 (03.03.04); **введены** уточнённые критерии, основанные на данных о генетическом полиморфизме трематод рода *Leucochloridium* (03.03.04), которые подтверждают валидность морфологических признаков при видовой идентификации этих организмов (03.02.11).

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

впервые **доказана** объективная возможность идентификации видов трематод *Leucochloridium paradoxum*, *L. perturbatum* и *L. vogtianum* по морфологическим признакам: форме и характеру окраски отростков спороцист (03.02.11). Базой доказательства послужил анализ протяжённых нуклеотидных последовательностей кластера рДНК, а также экспресс-

анализ методом RAPD, впервые проведённые для видов рода *Leucochloridium* (03.03.04).

Применительно к проблематике диссертации результативно (эффективно, то есть с получением обладающих новизной результатов) использованы комплекс традиционных методов полевых и лабораторных молекулярно-генетических исследований, а также современные филогенетические методики, основанные как на морфологических, так и на молекулярных данных; **изложены** морфологические и молекулярно-генетические особенности трематод рода *Leucochloridium*, а также особенности их биологии; **раскрыты** молекулярно-генетические критерии определения таксономического положения исследуемых видов трематод рода *Leucochloridium*; **изучены** филогенетические отношения трематод *Leucochloridium perturbatum*, *L. paradoxum* и *L. vogtianum* как внутри рода, так и положение рода *Leucochloridium* на древе семейства; **проведена модернизация** подходов к родовой и видовой диагностике исследуемых видов трематод рода *Leucochloridium* на основе взаимной верификации молекулярно-генетических и морфологических признаков.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:

разработана система, основанная на ПЦР с локус-специфичными праймерами для видовой идентификации трематод рода *Leucochloridium*, которая может быть использована в дальнейшем для представителей трематод других групп; **определены** протяжённые нуклеотидные последовательности участков генов, кодирующих рРНК (18S-ITS1-5.8S-ITS2-28S) трёх видов трематод: *L. perturbatum*, *L. paradoxum* и *L. vogtianum* и аннотированы в GenBank под номерами JN639012, JN639011, KU351661 и KP938186, KP938187; **создан** банк хромосомной ДНК 42 особей исследуемых трематод, а также коллекция специфических праймеров для анализа рДНК трематод рода *Leucochloridium*.

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

экспериментальные работы выполнены на материале, включая сборы автора; результаты получены с помощью оборудования, сертифицированного для лабораторных исследований: микроскопов Leica DM1000, Leica DM5000, Leica EM CPD300, для получения макрофотографии использовался сканирующий электронный микроскоп Zeiss EVO40; для выделения ДНК использовали гомогенизатор-диспергатор T10 basic Ultra-turrax, лабораторную центрифугу Sigma3K30, для проведения и анализа ПЦР использовали спектрофотометр BioSpectrometer-kinetic Eppendorf, аппараты для горизонтального и вертикального гель-электрофорезов Хеликон, трансиллюминатор Biosom, видеосистему геледокументирующую Gel Imager-2, термоциклер Терцик-МС2, секвенирование проводили с помощью генетического анализатора ABI PRISM 310 AppliedBiosystems, для реконструкции филогении использованы методы ближайшего соседа, максимальной экономии и максимального правдоподобия (программа Mega, версия 3.0), выбор оптимальной математической модели для расчета генетических дистанций проводили с помощью программы Modeltest (версия 3.06); **теория** в положениях о филогении видов рода *Leucochloridium* и семейства Leucochloridiidae развивает фактические данные, накопленные в мировой литературе по эволюции дигеней; **идея базируется** на полученных молекулярно-генетических данных, их тщательном обобщении и оценке всех современных сведений по морфологии, систематике и биологии трематод; **использованы** обширные оригинальные материалы, которые были получены в ходе исследовательской работы автора, с проведением сравнения с ранее полученными данными других авторов; **установлено** качественное совпадение результатов автора с современными данными, представленными в независимых источниках по исследованию трематод; **использованы** собственные сборы и наблюдения автора, лабораторные (оптическая микроскопия, экстрагирование ДНК, дизайн праймеров, ПЦР,

гельэлектрофорез, секвенирование, компьютерная и статистическая обработка данных) и полевые методы исследования (сбор материала стандартными методами).

Личный вклад соискателя состоит в: непосредственном и активном участии в сборе и обработке материала, в непосредственном участии соискателя в получении исходных экспериментальных данных, в научном анализе полученных данных и результатов, включая подготовку публикаций, представление докладов на международных и всероссийских конференциях, которые были выполнены диссертантом самостоятельно или при преобладающем участии (не менее 60%). Диссертация Жуковой Алины Александровны представляет собой научно-квалификационную работу, в которой содержится решение научной задачи, имеющей значение для развития паразитологии, клеточной биологии, цитологии и гистологии.

На заседании 14 февраля 2017 г. диссертационный совет принял решение присудить Жуковой А.А. ученую степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 20 человек, из них 10 докторов наук по специальности 03.02.11 – паразитология и 3 доктора наук по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология (биологические науки), участвовавших в заседании, из 21 человека, входящих в состав совета, дополнительно введены на разовую защиту 3 человека, проголосовали: за – 20, против – 0, недействительных бюллетеней – 0.

Председатель

диссертационного совета

Пугачев Олег Николаевич

Ученый секретарь

диссертационного совета

Овчинникова Ольга Георгиевна

16 февраля 2017 г.

