

Отзыв
официального оппонента
на диссертацию *Коржавиной Оксаны Антоновны*
на тему «Паразитические копеподы рода *Sphaerippe* (Cyclopoidea:
Lamirridae) – вероятные возбудители
«синдрома множественных фиолетовых пятен» у кораллов»,
представленную на соискание ученой степени
кандидата биологических наук
по специальности 1.15.12 – Зоология

Текст
отзыва

Актуальность и практическая значимость исследования

Диссертация Коржавиной Оксаны Антоновны посвящена исследованию паразитических копепод рода *Sphaerippe* – вероятного возбудителя "синдрома множественных фиолетовых пятен" (СМФП), заболевания, распространённого среди кораллов рода *Gorgonia*, эндемичных для Карибского региона. Исследование механизмов паразитизма копепод, их биоразнообразия и роли в распространении СМФП имеет как фундаментальное, так и прикладное значение. Коралловые рифы являются одними из самых разнообразных и продуктивных экосистем на планете. Они обеспечивают убежище и кормовую базу для тысяч видов морских организмов, играют важную роль в глобальном углеродном цикле и в защите побережий от эрозии; их деградация снижает стабильность прибрежных экосистем. Кроме того, коралловые рифы поддерживают рыболовство, туризм и другие экономические отрасли. Изучение факторов, способствующих возникновению и распространению болезней кораллов, безусловно, является актуальной темой для научных исследований.

Научная новизна работы заключается в том, что автором впервые были получены молекулярные и морфологические данные, свидетельствующие о криптическом видообразовании у копепод рода *Sphaerippe*. Также уточнено филогенетическое положение семейства *Lamirridae* среди веслоногих ракообразных (Copepoda).

Выполненная работа имеет высокую практическую значимость. Данные, полученные Коржавиной Оксаной Антоновной полезны для разработки мер по мониторингу и сохранению коралловых рифов, подготовки специалистов в области биологии беспозвоночных. В ходе

работы создана база данных, содержащая информацию о 233 видах копепод, связанных с восьмилучевыми кораллами. Разработанная методика создания и анализа баз данных применима для изучения различных морских организмов и позволяет выявлять хозяиноспецифичность симбионтов. Методика допущена к преподаванию в виде учебно-методического комплекса для студентов-магистров на кафедре зоологии беспозвоночных.

Общая характеристика работы

Цель исследования – интегративное исследование копепод семейства Lamippidae, потенциальных инфекционных агентов «синдрома множественных фиолетовых пятен». Для достижения этой цели были поставлены следующие задачи:

1. Определение видовых границ рода *Sphaerippe*.
2. Исследование популяционно-генетического разнообразия копепод и их хозяев.
3. Анализ географического распространения *Sphaerippe* и СМФП.
4. Определение филогенетического положения рода *Sphaerippe*.

Работа состоит из введения, четырех глав, заключения, выводов, списка литературы и приложений. Объем работы – 143 страницы, без учета двух приложений, занимающих еще 98 страниц. Список использованной литературы весьма солидный, в него входит 252 источника. В составе работы 34 рисунка, иллюстрирующих морфологию объектов исследования и результаты анализа данных.

Замечания и вопросы к диссертации

- 1) Стр. 10, положения, выносимые на защиту: Название диссертации и все задачи направлены на исследование одного рода *Sphaerippe*, тогда как из пяти положений, выносимых на защиту, три относятся ко всему семейству, в которое входят 11 родов. БОльшая аккуратность в этом вопросе улучшила бы впечатление от работы.
- 2) В нескольких местах по тексту при обсуждении жизненного цикла рода *Sphaerippe* и их возможной связи с «синдром множественных фиолетовых пятен» (далее - СМФП) встречаются логические противоречия (стр.88, 93)

- 3) На странице 42 автор пишет, что для выделения ДНК использовался набор «Encyclo Plus PCR Kit». По своему прямому назначению это готовая смесь для постановки ПЦР амплификации, а не для выделения ДНК. Но судя по дальнейшему описанию процесса выделения ДНК, первое утверждение вероятно является опечаткой.
- 4) В разделе 3.3.2. при указании выбранных для анализа генетических маркеров и обосновании этого выбора также желательно было пояснить, к какому типу генома они относятся – митохондриальному, ядерному? Не все маркеры применяются широко. Например о том, что *msh1* это митохондриальный маркер, в тексте указано лишь на стр. 70.
- 5) Стр. 48. Не совсем понятно, почему после выравнивания всех полученных последовательностей по конкретному гену и обрезке длина полученного выравнивания указана в виде диапазона длин (например, для COI копепоид указано 632-687 п.н.), а не одной конкретной величины? Возможно, имелся в виду диапазон длин полученных последовательностей гена у разных образцов, но до их выравнивания и обрезки.
- 6) Для белок кодирующего гена (COI) проводились ли оценки моделей нуклеотидных замен независимо по каждой позиции (первой, второй и третьей) в аминокислотном кодоне? Из подписи к Рис. 20 в описании результатов следует, что проводились независимые оценки по каждому кодону. В методах этот момент упущен.
- 7) На Рис. 19 на байесовских деревьях для обоих генов не приведены поддержки для конкретных клад, которые обсуждаются в тексте. Есть только поддержки для ветвей более высокого порядка.
- 8) Из результатов байесовской реконструкции по гену COI (рис. 19а) нет оснований утверждать, что клады 1 и 2 (верхние две) имеют более близкое родство, чем с кладой 3 (нижней), т.к. апостериорная вероятность на уровне 0,76 – это очень низкое значение. По сути, здесь филогенетические отношения между тремя кладами не разрешены. При этом сами клады чётко обособлены друг от друга. И судя по дереву, дистанции между кладами 2 и 3 (NW and SW Cuba) должны быть ниже, чем между кладами 1 и 2.

9) Стр. 71-72. Хотелось бы видеть результаты филогенетического анализа кораллов в виде иллюстрации.

10) Возникло ощущение, что на Рис. 23 и 24 представлено одно и то же дерево построенное методом максимального правдоподобия (ML), т.к. в обоих случаях поддержки идентичны и указаны в процентах (1-100), а байесовские апостериорные вероятности указываются долях от единицы, как это приведено в байесовских деревьях, представленных на Рис. 19 и 20.

Все основные поддержки указаны на рисунке 27. На подписях к рисункам с филогенетическими реконструкциями хорошо было бы приводить не только маркеры, но и длину выравнивания, на основании которого строились эти реконструкции.

11) Стр. 87-88 «Одна подгруппа связана с южным побережьем Кубы, другая – с северным. Анализ регионов ITS2 выявил генетическое примешивание образца из южной клады (С-12) к образцам из северной (Рис. 19-20), что указывает на генетический поток между этими двумя OTUs. Наличие гибридизации между OTUs с разных побережий Кубы предполагает отсутствие презиготических морфологических барьеров для размножения».

Совсем не ясно на чем основано утверждение о гибридизации между двумя OTUs? Судя по рисунку и таблице в приложении, для образца С-12 удалось получить только последовательность ядерного маркера ITS2. Нельзя утверждать наверняка, к какой из клад относился бы этот образец на COI дереве, опираясь только на место его сбора. На основании результатов по ITS2 можно лишь предполагать о наличии потока генов между регионами (северной и южной Кубой), а не между OTUs.

Проводились ли повторная амплификация и секвенирование образца С-12 с целью исключения случайной контаминации другим образцом при первой постановке ПЦР?

И стоит более осторожно утверждать, что один образец «подтверждает гипотезу о личиночном расселении, облегчаемом течениями пролива Юкатан, подчеркивая значительное влияние океанографических

факторов на эволюционное направление и географическое распределение этих карибских видов *Sphaerippe*.» И о каком эволюционном направлении автор ведёт речь?

Полагаю, что в этой части обсуждения не совсем корректно подобраны формулировки.

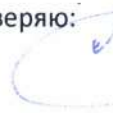
12) В положениях, выносимых на защиту, и в выводах присутствует следующая формулировка. «Заболевание широко распространенного в Карибском регионе горгониевого коралла *Gorgonia ventalina*, известное под названием «синдром множественных фиолетовых пятен», с высокой степенью вероятности вызывается паразитированием копепод, принадлежащих к роду *Sphaerippe*». Из этой формулировки, как и из самой работы, видно, что вопрос о возбудителе СМПФ не решен окончательно. Стоило ли выносить на защиту утверждение, в котором автор не полностью уверен?

12) Некоторые замечания редакторского характера и касающиеся оформления: весьма значимые рисунки 23-24, на которых представлены филогенетические деревья, очень трудно читаются – шрифт настолько мелкий, что в печатном варианте эти иллюстрации были бы практически бесполезны. В тексте встречаются ссылки, которые не отражены в списке литературы.

Заключение

Несмотря на перечисленные замечания, диссертация Коржавиной Оксаны Антоновны представляет собой высококачественную научную работу. Автором выбраны оптимальные методы и маркеры для генетического анализа, исследование построено в соответствии с поставленными задачами. Полученные результаты имеют фундаментальное и прикладное значение, дополняют современные представления о паразитических копеподах и их роли в экосистемах кораллов.

Диссертация отвечает требованиям, предъявляемым Московским государственным университетом имени М.В. Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует специальности 1.5.12 Зоология (по биологическим наукам), а также критериям,

| | |
|--------------------------------|---|
| | <p>определенным п.п. 2.1-2.5 «Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М. В. Ломоносова». Диссертационная работа оформлена согласно требованиям «Положения о совете по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук». Коржавина Оксана Антоновна заслуживает присуждения степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.12 Зоология.</p> |
| Заключение | <p style="text-align: center;">ЗАКЛЮЧЕНИЕ</p> <p>Диссертация отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В.Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует специальности 1.5.12 Зоология (по биологическим наукам), а также критериям, определенным п.п. 2.1-2.5 «Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М. В. Ломоносова». Диссертационная работа оформлена согласно требованиям «Положения о совете по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова».</p> <p>Таким образом, соискатель <i>Коржавина Оксана Антоновна</i> заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.12 Зоология.</p> |
| Данные оф оппонента с подписью | <p>Официальный оппонент: Лунина Анастасия Анатольевна Кандидат биологических наук Старший научный сотрудник ФГБУН Институт океанологии им. П.П.Ширшова РАН 117997, г. Москва, Нахимовский проспект, 36</p> |
| Контактные данные | <p>Контактные данные: Телефон: Электрон</p> |
| Дата отзыва | 06.12.2024 |
| | <p>Специальность, по которой официальным оппонентом защищена диссертация: 03.02.10 – «гидробиология»</p> |
| Заверение подписи | <p>Подпись сотрудника ФГБУН Институт океанологии им. П.П.Ширшова РАН Луниной А.А. удостоверяю:</p>  <p>штамп, подпись,</p> |