

**Отзыв
официального оппонента**

на диссертацию Тихоненкова Дениса Викторовича: «Гетеротрофные жгутиконосцы: новые ветви филогенетического дерева эукариот и факторы формирования разнообразия и структуры сообществ в разных средах», представленной на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.02.04 – зоология.

Актуальность темы. Тема актуальна и чрезвычайно сложна, поскольку многоклеточные животные возникли более 600 миллионов лет назад и чтобы восстановить последовательность событий и понять ключевые эволюционные переходы от одноклеточных предков, необходимо в деталях исследовать одноклеточных жгутиковых протистов, представляющих собой *современные аналоги предков* эукариотических супергрупп. Гетеротрофные флагелляты образуют сложные сообщества из видов, сильно различающихся по трофическим предпочтениям, пищевым стратегиям, размерам и другим характеристикам. При этом, многие вопросы аутоэкологии, биоразнообразия и организации сообществ гетеротрофных жгутиконосцев до сих пор не выяснены.

Научная новизна и теоретическое значение работы. Обнаружены две неизвестных ранее науке филогенетических линии и три вида одноклеточных из группы Holozoa, предковых по отношению к многоклеточным животным (*Syssomonas multiformis*, *Pigoraptor vietnamica*, *P. chileana*). Филогеномный анализ выявил внутри ветви Holozoa новую кладу, названную Pluriformea. На морфологическом и геномном уровнях детально изучены новые для науки эукариотические организмы, занимающие предковое филогенетическое положение среди суперкластеров эукариот. С помощью молекулярно - генетического и ультраструктурно - морфологического подходов к изучению филогении получены принципиально новые данные о этапах эволюции ряда супергрупп одноклеточных, митохондриальной эволюции и направленности развития уникальных клеточных и геномных изменений, вероятно приведших к становлению многоклеточности, и преобразованиям организации клетки в зависимости от автотрофного, хищного или паразитического образа жизни.

Впервые обобщен обширный материал по составу и структуре сообществ гетеротрофных жгутиконосцев из морских, пресноводных, амфибиальных и почвенных местообитаний. Показаны тенденции распределения гетеротрофных жгутиконосцев в разных средах, а также сформулированы представления о факторах среды, определяющих дифференциацию сообществ гетеротрофных жгутиконосцев в наземных и водных экосистемах.

Личный вклад автора. Тихоненковым Д.В. разработана программа

работ, проведено большинство полевых исследований, изучение видового состава и идентификация видов, выделены многие живые культуры, исследована их морфология, проведены молекулярно-биологические работы, включая амплификацию и секвенирование эволюционно-консервативных генов, установление филогенетического положения новых видов, а также вся аналитическая, теоретическая и обобщающая части исследования.

Ультраструктурные исследования, мультигенные филогеномные построения, сборка и аннотация митохондриальных геномов, а также некоторые статистические анализы, характеризующие структуру сообществ и распределение видов, проведены диссертантом совместно с коллегами.

Практическая значимость работы. Результаты работы касающиеся вопросов клеточного поведения, роста, развития и дифференцировки клеток, выявленные в том числе у одноклеточных эукариот, предковых форм многоклеточных, потенциально могут найти приложение в медицине (при лечении раковых заболеваний), а также дополнить молекулярные и биохимические данные, служащие основой для разработки терапевтических препаратов. Данные о питании, трофических взаимодействиях групп хищных одноклеточных эукариот могут использоваться для разработки способов борьбы с «биологическим загрязнением», санитарной и токсикологической безопасности водоемов, улучшения методов биомониторинга и биоиндикации природных экосистем. Результаты работы могут быть использованы для общеобразовательных курсов по протистологии, эволюционной биологии и зоологии беспозвоночных в ВУЗах.

Структура и объем работы

Диссертация состоит из двух томов. Первый том работы (465 страниц) включает: введение в проблему, *обзор литературы*, методы исследования, изложение полученных результатов и их обсуждение (**раздел 1** главы 1.1-1.5) и **раздел 2** (п/раздел 2.1 – Морские экосистемы (главы 2.1.1-2.1.3), и п/раздел 2.2 – Пресноводные и наземные экосистемы (главы 2.2.1-2.2.4), заключение, выводы и список цитируемой литературы содержащий 864 источника, среди которых 712 иностранных. Во Второй том (объем 192 страницы) автор вынес весь иллюстративный материал (24 таблицы и 167 рисунков).

Публикации. Материалы, представленные в диссертации, докладывались и обсуждались на множестве международных конгрессов, всероссийских конференциях и симпозиумах (2005-2017 гг.). По теме диссертации диссертантом опубликовано 106 работ, в том числе 1 монография, 2 главы в коллективных монографиях, 54 работы в центральных рецензируемых журналах, включая 50 изданий из перечня ВАК РФ и 49 изданий, индексируемых в Web of Science и Scopus.

Работа выполнялась при поддержке грантов Российского Научного Фонда (проект № 14-14-00515), Российского фонда фундаментальных

исследований (проекты № 17-04- 00899-а, 14-04-00554-а, 15-34-20065-мол_а_вед, 15-29-02518- офи_м, 11-04-00084-а, 12-04-33067-мол_а_вед, 07-04-00185-а, №10-04-91155- ГФЕН_а, 11-04-00077-а, 14-04-00500-а, 15-04-02245-а, 14-50-00029-а, 17-04-00565- а) и гранта президента РФ для молодых ученых - кандидатов наук (проект МК- 7436.2015.4).

Во **Введении** обоснована актуальность темы. Четко сформулирована цель и задачи исследования, а также защищаемые положения.

Литературный обзор (стр. 15-38) в диссертации и автореферате структурно вообще никак не выделен и представлен подтемами разных направлений, под общим названием **«Современные представления о филогении и экологии сообществ гетеротрофных жгутиконосцев»**

Он характеризует современную систему взглядов на филогению различных таксонов жгутиконосцев и подчеркивает, что еще 30 лет назад общепринятым было разделение эукариот на царства животных, растений, грибов и протистов. Но оказалось, что животные, растения и грибы, как потомки каких-то одноклеточных предков, представляют собой лишь маленькие веточки на филогенетическом дереве одноклеточных. Чтобы выявить дальних родственников, признаков ультраструктуры оказалось недостаточно, тогда как использование молекулярных признаков рРНК и генов, кодирующих эволюционно консервативные белки, позволяло такие родственные связи выявлять. Сейчас используется мультигенная филогения, вовлекающая все геномные данные в эволюционные построения. Изучаются геномы клеточных органелл (пластид и митохондрий) различных групп протистов в контексте теории симбиогенеза, осуществляется поиск пластидных генов у гетеротрофных форм, сравнение генома одноклеточных и многоклеточных с целью выяснения изменений генома, обусловивших переход к многоклеточности.

В обзоре рассматривается монофилия таксона SAR (страменопилы + альвеолаты + ризарии) и ранее широко распространенные гипотезы «Chromista» и «Chromalveolata». Обсуждается «Родоплексная» гипотеза и происхождение пластид различных эукариот. Анализируются проблемы филогенетических построений, полученных по молекулярным и морфологическим данным и родственные связи альвеолят. Анализируется разнообразие, распределение и структура сообществ свободноживущих гетеротрофных жгутиконосцев как эколого-морфологической группы протистов. Обсуждается, какие именно факторы являются определяющими при формировании тех или иных сообществ в разных местообитаниях и каковы главные тенденции перестроек их структурной организации при изменении среды обитания.

Подчеркивается, что исследование организации сообществ и тенденций распределения невозможно без объективной таксономии на видовом уровне, что в настоящее время выделение видов идет и по молекулярно-

биологическим данным, и что внутри сходных морфовидов может присутствовать значительная степень генетической разнородности.

В завершение обзора упомянуты альтернативные взгляды исследователей относительно проблемы глобального распределения протистов..

Материал и методы исследований. Всего ходе работы автором было отобрано более 1000 проб из различных экосистем и биотопов (морские, солоноватоводные, пресноводные, болотные, почвенные) различных географических зон (от Арктики до Антарктики) и накоплен уникальный банк природных проб. В итоге был получен огромный фактический материал по качественному и количественному составу, видовой, трофической и размерной структуре, распределению гетеротрофных жгутиконосцев в разнообразных биотопах и различных масштабах пространства (от сантиметров до тысяч километров) и времени (от суток до нескольких лет). При обработке проб, автор анализировал «активное» видовое разнообразие сообществ и «скрытое» разнообразие, т.е. полную совокупность видов, населяющих тот или иной биотоп, включающую и обычные, и малочисленные, редко обнаруживаемые виды. Организмы, которые не удалось идентифицировать, а также известные науке, но малоизученные (отсутствуют ультраструктурные или молекулярные данные) были выделены диссертантом в клональные культуры.

Морфологические особенности клеток гетеротрофных жгутиконосцев исследовали с использованием интерференционно-контрастной и фазово-контрастной световой микроскопии, а также трансмиссионной и сканирующей электронной микроскопии для изучения ультраструктурных признаков.

Для прояснения филогенетического положения новых изолятов секвенировали гены SSU rRNA. Амплификацию в большинстве случаев проводили с использованием наборов универсальных эукариотных праймеров. Транскриптомы и геномная ДНК важных в филогенетическом отношении организмов были изучены методами секвенирования нового поколения (Illumina), в том числе с применением метода single-cell транскриптомики. Реконструкция деревьев, в т.ч. для мультигенных конкатенатов, осуществлена методом максимального правдоподобия, реализованным в современных программах.

Для интегральной характеристики сообществ использованы такие показатели как: численность (экз./см³) и биомасса (в мкг/см³ или мкг С/см³) организмов; общее количество видов на станции; среднее количество видов в одной пробе; максимальное ожидаемое количество видов на станции S_{CHAO} , рассчитанное с использованием непараметрического метода Chao2 (Clarke, Warwick, 2001); “ожидаемое количество видов в минимальной пробе” $ES(n)$ (Clarke, Warwick, 2001).

Степень полноты выявленного видового состава оценивали по кривой зависимости между количеством взятых проб и числом обнаруженных видов

(так называемой "кривой сборщика") (Chao, Shen, 2004). При описании видового богатства, видового разнообразия и выравнивания распределения обилий видов в сообществах использовали индексы Маргалефа, Шеннона, Пиелу (Pielou, 1966).

Классификацию сообществ по видовой структуре (R-анализ) проводили с использованием кластерного анализа на основе матриц индексов сходства Мориситы, Раупа-Крика, Симпсона, Хаккера-Дайса, Брея-Кертиса, Сьеренсена. Для выявления общих тенденций распределения гетеротрофных флагеллят (Q-анализ) проводили ординацию видов методом главных компонент (Джонгман и др., 1999). Для связи значения факторных нагрузок с измеренными показателями факторов среды рассчитывали коэффициенты корреляции Спирмена. Также, проводили ординацию проб методом канонического анализа соответствия.

Чтобы определить значимость различных факторов среды при формировании структуры сообществ гетеротрофных жгутиконосцев, использовали алгоритм BIOENV, реализованный в пакете программ PRIMER (Clarke, Warwick, 2001).

Базовый зоологический материал диссертации Тихоненкова Д.В. в разделе 1 – Гетеротрофные жгутиконосцы – представители новых или слабо изученных филогенетических ветвей эукариот (гл. 1.1-1.5)

В разделе 1 описаны 2 новых типа, 1 класс, 2 отряда, 3 семейства, 6 родов и 11 видов жгутиковых протистов, а также исследованные диссертантом на морфологическом и геномном уровнях новые таксоны одноклеточных, являющиеся важными, ранее неизвестными науке, эволюционными ветвями древа жизни.

Чрезвычайно важной находкой Тихоненкова Д.В. стало обнаружение в донных отложениях пресноводных экосистем южного Вьетнама и Чили двух ранее науке филогенетических линии и трех новых одноклеточных (новые рода *Syssomonas* и *Pigoraptor*), из группы Holozoa со схожей морфологией и образом жизни, являющихся не близкими родственниками, а предковыми по отношению к многоклеточным животным. Было проведено исследование их внешней морфологии, ультраструктуры, образа жизни и установлено, что все эти организмы имеют сложный образ жизни и характеризуются разнообразием быстро обратимых жизненных состояний (жгутиконосцы, амебы, амебофлагелляты, цисты). Все три вида оказались хищниками-эукариотрофами, поедающих жертву сходного с ними размера, что необычно (если не уникально) для одноклеточных Holozoa. При этом все они имеют способность к образованию агрегаций, формирование которых связано с питанием крупной эукариотической жертвой (например, *Syssomonas* при питании только бактериями погибают или инцистируются). Соответственно, для реализации такого «совместного» питания им явно нужна какая-то клеточная сигнализация. Агрегации могут быть образованы не только активными (в т.ч. питающимися клетками), но и цистами, которые могут

склеиваться друг с другом и с зернами крахмала в культуре. Питание крупной эукариотической жертвой, иногда превышающей размер хищника, ведет к гипертрофному росту клетки с последующей фазой палинтомического деления (у *Syssomonas*). Установлено, что у *Syssomonas*, вероятно, есть и половой процесс, который реализуется за счет слияния клеток в плазмодиальную структуру (синцитий) с последующим отпочковыванием дочерних особей.

Филогеномный анализ выявил родственность *Pigoraptor vietnamica* и *Pigoraptor chileana* филастериевым, а *Syssomonas multiformis* вместе с загадочным организмом *Corallochytrium limacisporum* сформировали **внутри Holozoa новую кладу**, названную диссертантом **Pluriformea** (название обозначает разнообразие жизненных форм). При секвенировании у них были идентифицированы Т-боксные транскрипционные факторы с необычной для Holozoa доменной архитектурой, показывающей, что транскрипционная регуляция контролируется двухкомпонентной сигнальной системой. При этом двухкомпонентная сигнализация была обнаружена не только у новых видов, но и среди всех линий одноклеточных Holozoa, показывая, что потеря двухкомпонентной сигнализации соответствует времени возникновения многоклеточных животных.

Таким образом, диссертантом на своем новом оригинальном материале подтверждено, что гены, кодирующие белки клеточных сигналов и адгезии, а также гены эмбрионального развития многоклеточных, возникли в эволюции до расхождения хоанофлагеллят и Metazoa (до возникновения многоклеточных животных). То есть выяснено, что у одноклеточных эти гены выполняют *другие функции*, вероятно связанные со способностью распознавать клетки своего вида и жертвы, органические молекулы, с формированием многоклеточных агрегаций, что увеличивает приспособляемость организма к окружающей среде. Таким образом, эволюционный переход к многоклеточности мог базироваться не на образовании новых специфических белков, а на *уже имеющихся* у одноклеточных предковых белках, которые приобрели новые функции (преадаптация). Не исключено, что сложный жизненный цикл, а также особенности питания одноклеточных предков животных, в некоторых аспектах похожих на *Syssomonas* и *Pigoraptor*, обусловили возможность возникновения многоклеточных животных в процессе эволюции.

В составе супергруппы эукариот **Alveolata** были обнаружены и изучены уникальные одноклеточные хищники, описанные в работе как два новых таксономических типа эукариот: Colponemidia и Acavomonidia. Изучение этих и родственных им организмов позволило реконструировать ранние эволюционные события, которые дали начало инфузориям, малярийным паразитам и эндосимбионтам кораллов. Полученные новые данные проясняют происхождение макротаксона эукариот **Alveolata**, включающего в себя огромное разнообразие видов (более 10000), важных в экологическом, экономическом и медицинском аспектах. Оказалось, что **тип Acavomonidia** является ближайшим к предкам апикомплексных паразитов (малярийного

плазмодия и других споровиков) и динофлагеллят (включая зооксантелл и токсических микроводорослей красных приливов). Тип *Colponemidia* представляет собой аналог предковой формы всех альвеолятных простейших (споровиков, динофлагеллят и инфузорий). В диссертации обосновывается предположение, что общим предком *всех альвеолятных организмов* являлся некий свободноживущий хищный протист, напоминающий современных *Colponema*, характеризующийся двумя гетеродинамичными жгутиками, трубчатыми кристами митохондрий, задней пищеварительной вакуолью, стрекательными органеллами для активной охоты (токсистицы или трихоцисты), которые локализованы между субмембранными альвеолярными везикулами. При этом ультраструктура центров организации микротрубочек (ЦОМТ) до некоторой степени является общей для экскават, страминопил, апузозоев, амебозоев, коллодиктионид, гаптофитовых, криптофитовых и сходна с конфигурацией микротрубочковых корешков, поддерживающих вентральную пищевую бороздку *Colponema*. На основании этого диссертант предполагает, что указанное общее сходство представителей вышеупомянутых разных супертаксонов не случайно, а отражает строение клетки гипотетического предка *всех эукариот*.

В составе макротаксона *Rhizaria* в работе описан новый род и два новых вида эукариотрофных двужгутиковых протистов *Aquavolon hoantrani* и *A. dientrani*, которые представляют собой первых морфологически идентифицированных и охарактеризованных представителей клады NC10 выделенной Тихоненковым Д.В. в новый отряд *Aquavolonida*. При этом исходя из данных природных сиквенсов диссертант полагает, что *Aquavolonida* представлены большим разнообразием пока ещё не открытых протистов, которые наиболее распространены в пресноводных планктонных местообитаниях и, до настоящего времени, не отмечены в морских водах. *Aquavolonida* характеризуется общностью эволюционного происхождения с тремулидами и пока морфологически неописанной 'Novel Clade 12'. Все вместе они, вероятно, формируют *одну из самых глубоких* линий *Rhizaria*, отдельную от *Cercozoa* (Filosa), *Endomyxa* и *Retaria*. Показано, что *Aquavolonida* состоит по меньшей мере из четырех линий. На основании имеющихся данных диссертант предполагает, что все представители данного отряда вероятно двужгутиковые одноклеточные хищники, обитающие только в пресноводных средах, а протисты *Aquavolonida* возможно иллюстрируют строение последнего общего предка ризарий.

В пределах супергруппы *Excavata* также сделан ряд находок новых жгутиковых протистов. Так, в сухом песке пустыни в Марокко Тихоненковым Д.В. был обнаружен жгутиконосец, описанный им как *Moramonas marocensis*, представляющий новый род *Moramonas* и новое семейство (*Moramonadidae*) внутри *Jakobida* (*Excavata*). Данный протист образует цисты, остающиеся жизнеспособными по меньшей мере 6 лет. Исследования автора также показали, что митохондриальный геном *M. marocensis* кодирует сходное с другими якобидами число генов, но характеризуется *огромным размером* (более 264 kbp), в 3-4 раза

превышающим митохондриальные геномы других представителей данного таксона. Такое увеличение размера определяется наличием у *Moromonas* длинных некодирующих последовательностей ДНК (*мусорной ДНК*) между генами, что обуславливает раздутость митохондриального генома, как, например, в митохондриях некоторых высших растений.

Среди других экскават, диссертантом была обнаружена и исследована экстремально галотолерантная гетеролобозная амeboфлагеллята, описанная как новый вид *Tulamoeba bucina* и выделено новое семейство **Tulamoebidae**. Установлено, что этот вид выдерживает перепады солености от 35 до 225‰, при том что высокая степень галотолерантности в целом *не характерна* для простейших. Широкомасштабный филогенетический анализ показывает, что большинство галофильных протистов эволюционно неродственны. Таким образом, филогенетическая разобщенность большинства галофильных простейших предполагает, что *независимая колонизация* гиперсоленых водоемов более распространена в природе, чем *видообразование* в пределах данных местообитаний. Однако, результаты данного исследования поддерживают идею, что Tulamoebidae (клада *Tulamoeba-Pleurostomum*) подверглась адаптивной радиации в пределах гиперсолевой окружающей среды.

Среди кинетопластид (**Excavata**), диссертантом были обнаружены и выделены в культуры 3 клона свободноживущих хищных жгутиконосцев, внешне напоминающих представителей 4 родов. Изученные в же культурах свободноживущие хищники оказались наиболее близки к паразитическим и эндосимбиотическим видам *Ichtyobodo* и *Perkinsiella-подобным* организмам. Эти протисты, вместе с несколькими природными сиквенсами и изученными нами свободноживущими клонами, занимают *самое глубокое* положение в основании древа кинетопластид и формируют группу **Prokinetoplastina**, располагающуюся базально по отношению к «метакинетопластидам», включающих как свободноживущих бодонид, так и паразитических *Trypanosoma*. Полученное нами филогеномное древо поддерживает идею о позднем возникновении трипаносоматид среди кинетопластид и парафилетичность трех основных групп Metakinetoplastina. Установлено, что новые прокинетопластиды имеют сплайсированные лидерные РНК в мРНК, как и другие Euglenozoa. Анализ транскриптомов показал, что многие метаболические пути, имеющиеся у свободноживущих организмов, отсутствуют у эндосимбиотической *Perkinsella*. Кроме того, у изученных организмов выявлено наиболее существенное из известных к настоящему времени редактирование митохондриальных РНК среди кинетопластид.

Описан и новый вид бодонид *Neobodo borokensis*, характеризующийся парааксонемальными тяжами в жгутиках, мастигонемами в проксимальной части заднего жгутика, двумя почти параллельными базальными телами, компактным кинетопластом, дисковидными митохондриальными кристами. Филогенетический анализ показал, что многие виды свободноживущих бодонид характеризуются *значительной* генетической разнородностью. Установлено, что даже близкородственные по SSU rRNA изоляты в пределах

этих и других видов бодонид могут представлять различные морские и пресноводные местообитания различных географических зон, что поддерживает идею о том, что морфовиды гетеротрофных флагеллят могут иметь космополитическое и убиквитарное распространение и способны обитать в *широком диапазоне* значений солености среды.

Другой важнейшей находкой является уникальный свободноживущий хищный морской жгутиконосец, обнаруженный диссертантом в пробе с тропических мозговых кораллов и описанный как *Ancoracysta twisti*. Комбинация морфологических и филогеномных данных показывает, что этот вид представляет собой новую, ранее неизвестную науке глубокую линию эукариот (*новый макротаксон*) и характеризуется уникальной морфологией, включая наличие в клетке экстрасом (стрекательных органелл) нового типа - **анкорацист**. Кроме того, оказалось, что по числу генов митохондриальный геном *Ancoracysta* самый крупный из известных науке после неродственных ей якобид и имеет некоторые уникальные особенности, что дает новые факты для построения гипотез о положении *корня* филогенетического древа эукариот (т.е. той самой древней точки на древе, которая соответствует общему предку всех эукариотических супергрупп). Проведенный диссертантом анализ митохондриальных генов *Ancoracysta* и других эукариот показывает, что богатые генами митохондриальные геномы отнюдь *не указывают* на позицию организма вблизи *корня* эукариотического древа, при этом отмечает важность независимого (параллельного) переноса генов из митохондрий в ядро у различных организмов, а также экспоненциальной, линии-специфичной редукции митохондриальных наборов генов во времени. Иными словами, в пределах различных таксонов эукариот шла *параллельная и независимая потеря митохондриальных генов*, но происходила она с разной скоростью в разных группах. Митохондриальные гены были утеряны много раз независимо в различных эволюционных линиях, в противоположность единственной, однократной крупномасштабной потере генов у общего предка.

раздел 2 Гетеротрофные жгутиконосцы – факторы формирования разнообразия в разных средах обитания (п/раздел 2.1 – Морские экосистемы (главы 2.1.1-2.1.3), и п/раздел 2.2 – Пресноводные и наземные экосистемы (главы 2.2.1-2.2.4),

Материал раздела 2 резко отличается от зоологического материала раздела 1.

Исследования диссертанта структуры сообществ свободноживущих гетеротрофных жгутиконосцев из различных экосистем и биотопов (морские, солоноватоводные, пресноводные, болотные, почвенные) показали, что их локальные сообщества могут *значительно* различаться. Диссертант осуществил компьютерный анализ возможного влияния весьма ограниченного числа факторов среды на структуру ценозов гетеротрофных

жгутиконосцев и получил следующие результаты:

В эстуарии на Белом море было установлено, что распределение морских бентосных гетеротрофных жгутиконосцев вдоль эстуария *подчиняется* правилу «критической солености». Минимальные значения видового богатства, видового разнообразия, численности и биомассы гетеротрофных флагеллят характерны для опресненной части эстуария и возрастают в мористой и пресноводной зонах. Показано, что сообщества жгутиконосцев, формирующиеся в наименее стабильной солоноватоводной части эстуария, характеризуются отсутствием выраженных доминантов, преобладанием эврифагов и мелкоклеточных форм, которые, обладая более высокими темпами размножения по сравнению с крупными видами, по всей видимости, являются наиболее приспособленными к обитанию в сильно флуктуирующей среде.

В Антарктике, опреснение поверхностного слоя морской воды талыми водами ледников оказывает большое влияние на сообщества гетеротрофных флагеллят пелагиали, поэтому упрощается трофическая, размерная и видовая структура сообществ гетеротрофных жгутиконосцев. В итоге, при низком видовом разнообразии здесь обильно развиваются эврибионтные виды, представленные мелкими мобильными бактерио-детритотрофными формами. Упрощение структуры сообществ гетеротрофных жгутиконосцев может влиять на стабильность планктонной экосистемы.

В морских экосистемах важными факторами структурирования бентосных сообществ гетеротрофных жгутиконосцев, кроме **солености воды**, оказались также *тип грунта и глубина*. Анализ распределения этих жгутиконосцев в соответствии с зональностью илисто-песчаной литорали показал, что наибольшие численность, биомасса и видовое разнообразие отмечаются на верхнем и нижнем горизонтах литорали по сравнению со средней литоралью и переходными зонами. При этом видовой состав и структура сообществ жгутиконосцев определяются не столько положением на горизонте литорали, сколько локальным сочетанием **солености** и **Eh**. Поэтому в пределах приливно-отливной зоны выделяется три группы видов флагеллят: 1) предпочитающих более соленую воду на нижней и верхней границах средней литорали, 2) тяготеющих к восстановленным заиленным грунтам верхней литорали при пониженной солености, 3) выбирающих хорошо аэрированные слабо заиленные пески нижнего горизонта литорали.

Компьютерный анализ выявил также для разных групп протистов «оптимальный набор» природных факторов, влияющих на распределение групп. Так, распределение диатомовых лучше всего объясняется комбинацией факторов солености и типа седиментов, а состав локальных сообществ диофлагеллят - значениями **редокс-потенциала** и **pH**. Вариабельность сообществ бентосных инфузорий лучше всего соответствует изменению **размера частиц донных осадков** и **pH**, а в распределении гетеротрофных жгутиконосцев важную роль играет **степень заиленности** и **кислотность**. Мельчайшие (размером 3-10 мкм) гетеротрофные флагелляты демонстрируют большую *пространственную гетерогенность* по сравнению

с более крупными диатомеями и бентосными инфузориями, причем на матрице гетерогенных биотопов формируются более неоднородные сообщества, чем в условиях гомогенной среды обитания.

В Арктике (Карское море) впервые получены данные по видовому разнообразию и структуре сообществ глубоководных бентосных гетерофлагеллят. Оказалось, что общее видовое богатство флагеллят понижается с глубиной (от 15 до 554 м), при этом специфики видового состава глубоководного населения жгутиконосцев не выявлено. Сообщества флагеллят в пределах двух разных типов биотопов (верхний слой грунта и наилоск с придонной взвесью) при схожей таксономической и трофической структуре различаются лишь по соотношению групп видов с разными пищевыми стратегиями. В наилоске преобладают жгутиконосцы, ведущие прикрепленный либо флотирующий образ жизни, а в грунтах широко представлены быстро ползающие у поверхности субстрата жгутиконосцы, для которых характерны активный поиск и захват пищи.

На границе раздела сред «вода-дно» видовое богатство гетеротрофных жгутиконосцев растет с увеличением численности бактерий.

В пресноводных экосистемах дифференциация сообществ этих жгутиконосцев *не зависела* от географической разобщенности биотопов и определялась типом микробиотопа, в котором формируется тот или иной ценоз. При этом сообщества гетеротрофных флагеллят представляют *крайне гетерогенные* образования во всех исследованных масштабах (от метров до тысяч км). Уровень их гетерогенности изменяется незначительно с изменением масштаба исследования, а распределение видов, по-видимому, обусловлено в первую очередь *локальными факторами*.

Все планктонные сообщества оказались достаточно сходны между собой из-за постоянного наличия в их составе воротничковых жгутиконосцев, а также относительно низким видовым разнообразием церкомонад, доминирующих в бентосе. Бентосные сообщества характеризуются более высоким видовым богатством по сравнению с планктонными, при этом большинство видов встречается как в толще воды, так и в донных осадках.

Внутри бентосных ценозов может происходить разделение сообществ, формирующихся в илистопесчаных и илисто-детритных донных осадках. Локальное видовое богатство речных донных сообществ обычно значительно ниже, чем в озерных осадках и наземных местообитаниях. Пресноводные сообщества флагеллят менее гетерогенны по видовой структуре, нежели ценозы из наземных биотопов.

В заболоченных местообитаниях ценозы гетеротрофных флагеллят крайне разнородны. распределение видов не связано с различиями экосистем по увлажненности, фитоценоотическому покрову, типу экосистемы, гидрохимическим факторам.

В почвах на распределение видов на распределение гетеротрофных флагеллят оказывают влияние *региональные факторы* (такие как, климат, тип почв) и наблюдается широтная зональность в их распределении.

Различия в локальных ценозах определяются перекомбинацией доминантов видового состава и *случайным распределением* редких видов. В экотонном междуречье основными факторами, определяющими структуру локальных сообществ почвообитающих гетеротрофных жгутиконосцев, выступают уровень увлажнения и тип растительности.

Замечания:

- 1) Работа слабо вычитана и содержит опечатки. В тексте часто одновременно присутствуют обозначения одних и тех же обозначений и терминов на русском и английском языках.
- 2) Вынесение всего иллюстративного материала в отдельный том крайне неудобно для восприятия материала. Наиболее важные таблицы и иллюстрации автору следовало бы сохранить в основном томе в отделах, которые они иллюстрируют.
- 3) В разделе *Материал и методы* использованный автором способ классификации видового состава жгутиконосцев на трофические группы не объяснен и вообще не упомянут (см. в Разд.2, стр. 231 и 234).
- 4) Абсолютно непонятен принцип выбора автором основных факторов, характерных для водных (морские, солоноватоводные, пресноводные, болотные) и наземных экосистем (почва), а также разных типов пресноводных водоемов (водохранилище, река, озеро, пруд), и биотопов (пелагиаль, литораль, грунт, наземная почва).
- 5) При прочтении работы общее впечатление, что в ней под общим названием, автор пытается объединить две разные работы, соответствующие разделам 1 и 2. которые связаны лишь рассуждениями о необходимости использовать молекулярно-генетические технологии для идентификации видов и разных таксонов жгутиконосцев.

Данные замечания не снижают общего положительного впечатления от работы.

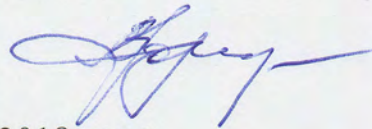
Материалы, представленные в диссертации, докладывались и обсуждались (2005-2017 гг.) на множестве международных конгрессов, всероссийских конференциях и симпозиумах.

По теме диссертации диссертантом опубликовано 106 работ, в том числе 1 монография, 2 главы в коллективных монографиях, 54 работы в центральных рецензируемых журналах, включая 50 изданий из перечня ВАК РФ и 49 изданий, индексируемых в Web of Science и Scopus.

Считаю, что диссертационная работа Тихоненкова Д.В. является научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований разработаны теоретические положения, совокупность которых соответствует требованиям п.9 «Положения о порядке присуждения

ученых степеней» утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.08.13 г. № 842, Предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора наук, а сам Денис Викторович Тихоненков заслуживает присуждения ему ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.02.04 – зоология.

Официальный оппонент,
 Доктор биологических наук
 Заведующий лабораторией экологии простейших и микроорганизмов
 ФГББУН Институт экологии Волжского бассейна РАН



Жариков Владимир Васильевич

05 ноября 2018 года

445003 Тольятти, Самарская обл.
 Ул.Комзина, 10
 т. 8(8482) 48-90-98
 E-mail: vvzharikov@mail.ru



В.В. Жариков

(С.С. Рыбанов)

ДИРЕКТОРА

Я, Владимир Васильевич Жариков, даю согласие выступить официальным оппонентом по диссертации Тихоненкова Дениса Викторовича на тему «Гетеротрофные жгутиконосцы: новые ветви филогенетического древа эукариот и факторы формирования разнообразия и структуры сообществ в разных средах», представленной на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.02.04 – зоология.

СВЕДЕНИЯ ОБ ОППОНЕНТЕ

1. Ученая степень, ученое звание, отрасль науки и научная специальность, по которой защищена диссертация: доктор биологических наук, биологические науки; специальности - зоология, гидробиология.
2. Место работы (полное наименование организации): Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт экологии волжского бассейна Российской академии наук
3. Сокращенное наименование организации: ИЭВБ РАН
4. Почтовый адрес организаций с указанием индекса: 445003, Россия, Самарская обл., г. Тольятти, ул. Комзина, 10.
5. Адрес официального сайта в сети Интернет: <http://www.ievbras.ru>
6. Название структурного подразделения: лаборатория экологии простейших и микроорганизмов
7. Должность: заведующий лабораторией
8. Телефон с указанием кода города: +7 9272164352
9. Адрес электронной почты: VVZharikov@mail.ru
10. Список основных публикаций по профилю оппонируемой диссертации в рецензируемых научных изданиях за последние 5 лет (не более 15):
11. С.В. Быкова, **В.В. Жариков**, В.А. Андреева, М.Ю. Горбунов, М.В. Уманская. Инфузории озера Кандры-куль (респ. Башкортостан): Состав, пространственное распределение, сезонная динамика и экологическое состояние водоема по данным их сообщества в 2012 г. // Известия СНЦ РАН, 2014 Т.16, №5(5). С.1748-1757.
12. **В.В. Жариков**, М.В. Уманская, С.В. Быкова, Н.Г. Тарасова Е.С. Краснова, М.Ю. Горбунов. Пространственная гетерогенность сообществ одноклеточного планктона на прибрежных участках водохранилищ Камского каскада // Известия СНЦ РАН, 2016. Т. 18. №5. С. 275–283.
13. Горбунов М.Ю., Быкова С.В., **Жариков В.В.**, Уманская М.В. Кластерный анализ сообществ инфузорий планктона малых водоемов Самарской Луки и прилегающего участка Саратовского водохранилища // Известия СНЦ РАН, 2016. Т. 18, №5(2). С. 235-245.
14. Быкова С.В., **Жариков В. В.** Инфузории Воткинского водохранилища // Самарская Лука: проблемы региональной и глобальной экологии, 2016. Т. 25, № 4. С. 167-174.
15. Быкова С.В., **Жариков В.В.** Свободноживущие инфузории водоемов В-К 3 // Труды Волжско-Камского государственного природного биосферного заповедника. Казань: Фолиант, 2016. Вып. 7. С. 72-90.
16. Уманская М. В., Тарасова Н. Г., **Жариков В. В.**, Быкова С. В., Краснова Е. С., Горбунов М. Ю., Буркова Т. Н. Характеристика одноклеточного планктонного

сообщества на прибрежных участках водохранилищ камского каскада // Современные проблемы водохранилищ и их водосборов: тр. VI Междунар. науч.-практ. конф. (г. Пермь 29 мая – 1 июня 2017 г.): в 3 т. Т.2: Качество воды. Геоэкология/ науч. ред. А.Б. Китаев; Перм. гос. нац. исслед. ун-т. Пермь, 2017. С.85-90.

Заведующий лабораторией экологии простейших
и микроорганизмов ФГБУН Институт экологии волжского бассейна РАН,

Жариков Владимир Васильевич
доктор биологических наук

14 мая 2018 года

Михаиловодная
Жарикова В.В.
ЗАВЕРЯЮ *Мамф*
СПЕЦИАЛИСТ ПО КАДРАМ

