

УТВЕРЖДАЮ

Проректор МГУ д.ф.-м.н., профессор



А.А. Федянин

2020 г.

ОТЗЫВ

ведущей организации – федерального государственного бюджетного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова» на диссертационную работу Герасимовой Елены Анатольевны «Морфология и разнообразие центрохелидных солнечников водоёмов и водотоков степной и лесостепной зоны Заволжско-Уральского региона», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.04 – зоология

Актуальность темы. Диссертационная работа Герасимовой Е.А. посвящена изучению морфологии, видового и генетического разнообразия центрохелидных солнечников в водоемах и водотоках Заволжско-Уральского региона с различной соленостью. Данные исследований, проводимых на протяжении последних лет, указывают на то, что 90% представителей центрохелидных солнечников не изучены, и потенциально новые таксоны ждут своего описания. Каждое обстоятельное исследование или экологический скрининг выявляет новые таксоны или нуклеотидные последовательности солнечников. Неравномерность изучения зоогеографии данной группы протистов на территории России указывает на необходимость их дальнейшего изучения.

Научная новизна. В диссертационной работе представлены первые сведения по фаунистическому составу солнечников в пресных, солоноватых и гипергалинных водоёмах и водотоках Республики Башкортостан, Волгоградской и Челябинской областей, дополнены сведения о фауне солнечников Оренбургской области.

Автором описаны представители нового рода и четырех новых видов центрохелидных солнечников *Pinjata ruminata* sp. nov., *Acanthocystis lyra* sp. nov., *A. siemensmae* sp. nov. и *A. amura* sp. nov. Выявлены новые особенности морфологии радиальных чешуек для двух видов. Описаны находки двух видов солнечников, выявленных в естественных местообитаниях и три вида солнечников, новых для фауны России. В ходе работы одиннадцать видов солнечников были впервые выделены из солоноватых континентальных водоёмов России, восьми видам присвоен статус эвригалинных. Автором

были впервые предложены и успешно применены методы атомно-силовой микроскопии и ДНК метабаркодинга, позволившие описать морфологию, генетическое разнообразие и выявить представителей новых филогенетических клад и малоизученных линий солнечников. Автором разработана компьютерная программа «Программа для идентификации центрохелидных солнечников» позволяющая проводить видовую идентификацию и получено свидетельство ФИПС №2012661027 от 05.12.2012 г.

Теоретическая и практическая значимость. Результаты диссертационного исследования расширяют представления о видовом разнообразии, морфологии, экологии и филогении центрохелидных солнечников в континентальных водоёмах и водотоках с различной соленостью. Полученные данные имеют фундаментальное значение для оценки закономерностей распространения протистов в водах с различной соленостью, а также могут быть использованы в учебных курсах по протистологии, протозоологии и зоологии беспозвоночных. Результаты научно-исследовательской работы были внедрены в учебный процесс дисциплины «Протозоология» химико-биологического факультета Оренбургского государственного университета, акт внедрения № 150 от 04.03.2015. 5

Практическая значимость связана с возможностью использования электронных микрографий солнечников, описаний новых видов, уточненных диагнозов и компьютерной программы «Программа для идентификации центрохелидных солнечников» в качестве определителя. Разработанный подход и праймеры для ДНК метабаркодинга солнечников могут быть использованы для изучения генетического и таксономического разнообразия центрохелид в образцах окружающей среды. Атомно-силовая микроскопия рекомендована для изучения покровных элементов центрохелидных солнечников в качестве метода, альтернативного методам электронной микроскопии.

Структура и объем диссертации. Диссертационная работа объемом 165 страниц состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, трех глав результатов собственных исследований, заключения, выводов, списка сокращений и условных обозначений и списка литературы, включающего 143 источника, из которых 119 на иностранном языке. Материалы диссертации иллюстрированы 7 таблицами и 35 рисунками.

Характеристика работы. Во введении обоснована актуальность исследования, сформулированы цель и задачи, научная новизна, практическая и теоретическая значимость работы, представлены положения, выносимые на защиту, личный вклад автора, а также связь работы с научными программами, проектами и темами.

В первой главе диссертации представлен обзор литературы, в котором рассмотрены общая характеристика солнечников, строение клетки и особенности морфологии элементов наружного скелета, имеющих видоспецифичное строение, описаны физиологические особенности питания,

движения, размножения и жизненных циклов центрохелидных солнечников. Подробно рассмотрены особенности экологии, биогеографии и фауны солнечников. Описаны основные этапы формирования филогенетической системы, а также критерии систематики и таксономии группы.

Во второй главе описаны материалы и методы исследования, положенные в основу диссертационного исследования. В главе приводится подробная характеристика 44 точек отбора проб (22 соленых и 22 пресных из 29 водоемов), их соленость и географические координаты. Описываются методы получения накопительных и клональных культур. Описываются традиционные и новые методы микроскопических исследований, используемые в работе для изучения элементов наружного скелета солнечников, включающие световую, сканирующую электронную и атомно-силовую микроскопию. Описывается молекулярно-генетические методы исследования солнечников, включая секвенирование по Сэнгеру и новый подход, основанный на высокопроизводительном секвенировании ампликонов тотальной ДНК на платформе MiSeq (Illumina). Описаны основные методы биоинформатической обработки данных секвенирования и реконструкции филогенетических деревьев.

В третьей главе изложен первый блок результатов собственных исследований, отражающий данные фаунистических исследований, в результате которых описаны морфология, таксономия и распространение 21 вида и 5 форм *Heterophrys*-подобных солнечников. Автором описаны три новых для протистофауны России вида солнечников, два вида впервые выявлены в естественных местообитаниях на территории России, также дополнены морфологические диагнозы для двух, ранее известных видов центрохелид. В главе приводятся литературные данные по зоогеографии изученных видов в России и мире, на основании которых 11 видам присвоен статус эвригалинных. В главе проведен анализ видового богатства солнечников в биотопах с различной минерализацией, в результате оценки показано, что видовое богатство солнечников в континентальных солоноватых и гипергалинных водоёмах и водотоках Заволжско-Уральского региона не уступает видовому богатству солнечников в пресных водоёмах и водотоках региона. Анализируя распространение солнечников по классам солоноватых водоёмов и водотоков, установлено снижение видового богатства при повышении солености в ряду классов: олигогалинные (12 видов), мезогалинные (4 вида), полигалинные (4 вида), гипергалинные (1 вид), что согласуется с литературными данными, полученными при изучении других групп протистов. В настоящем исследовании автор не выявил приуроченности изученных видов солнечников к водоёмам определенного гидрологического типа или солености, за исключением трех видов, обнаруженных только в пресных биотопах.

В четвертой главе приводится описание новых таксонов центрохелидных солнечников, включая представителей нового рода и четырех новых видов солнечников. Все описанные таксоны характеризуются явными морфологическими отличиями от близкородственных таксонов, а ряд

таксонов имеет выраженные отличия в последовательности 18S рДНК. Находки новых таксонов центрохелид, описанные в данной главе обуславливают актуальность исследования и свидетельствуют о том, что фауна континентальных водоёмов имеет большой потенциал для описания новых, неизвестных науке таксонов.

В пятой главе описаны новые методы для изучения морфологии и генетического разнообразия солнечников, основанных на атомно-силовой микроскопии, математическом моделировании и высокопроизводительном секвенировании. Автором впервые были применены данные методы для изучения морфологии и определения таксономии изученных изолятов, а также оценки генетического разнообразия. Методом атомно-силовой микроскопии проведено исследование клеточной поверхности и идентификация трех видов центрохелидных солнечников и показано, что метод атомно-силовой микроскопии адекватен для морфологических исследований центрохелид, а его использование позволяет получать информативные данные об ультраструктуре чешуек и покровных клеточных элементах клеток. Следует отметить, что автор в процессе работы столкнулся и с недостатками метода, к которым были отнесены более длительное время сканирования и получение менее контрастных изображений, по сравнению с методами электронной микроскопии. Автором отмечено, что данный вид микроскопии может применяться для изучения других групп протистов, имеющих наружный скелет, но в связи с отмеченными недостатками, в качестве метода, альтернативного СЭМ. В главе описана программа, предложенная для определения таксономического положения солнечников. Данная программа является важным дополнением для исследователей данной группы протистов, поскольку упрощает обработку данных и упрощает определение таксономического положения изучаемых видов солнечников. В данной главе описан и третий новый подход, предложенный для изучения генетических профилей и разнообразия солнечников в природных образцах. Метод основан на высокопроизводительном секвенировании целевых фрагментов 18S рДНК солнечников с таксон-специфичными праймерами, разработанными автором и проверенными на группе природных образцов и накопительных культур. Данный метод позволил автору получить множество частичных последовательностей 18S рДНК из образцов воды и оценить их генетическое разнообразие, а также обнаружить новые генотипы центрохелид. На основе полученных данных автор смог оценить отношение обнаруженных видов солнечников к различным диапазонам солености и выявить как стеногалинные, так и эвригалинные линии центрохелид.

В обсуждении автор оценивает степень новизны полученных результатов и проводит их сравнение с литературными данными последних лет.

По результатам диссертации автор сформулировал семь выводов, которые соответствуют цели и поставленным задачам, являются логичными и аргументированными.

Апробация. Результаты диссертации опубликованы в 22 научных работах, из них 9 научных статей в рецензируемых журналах из списка, рекомендованного ВАК, в том числе 7 статей в журналах Web of Science и Scopus; получено 1 свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ. Материалы диссертации были доложены и обсуждены на региональных, российских и международных конференциях. Результаты диссертации отмечены дипломом I степени за лучший постерный доклад среди молодых ученых в рамках XII Съезда Гидробиологического общества при РАН и дипломами I степени на международных конкурсах биоизображений «BioImage» (МГУ имени М.В.Ломоносова).

Заключение. Диссертация Герасимовой Е.А. является завершенным исследованием, расширяющим представления о видовом разнообразии, морфологии, экологии и филогении центрохелидных солнечников в континентальных водоёмах с различной соленостью. Работа проиллюстрирована достаточным количеством рисунков и таблиц, оформлена в соответствии с требованиями ВАК и соответствует паспорту специальности 03.02.04 - зоология.

Результаты, полученные автором, расширяют представления о видовом разнообразии, морфологии, экологии и филогении центрохелидных солнечников в континентальных водоёмах. Полученные данные имеют фундаментальное значение для оценки закономерностей распространения протистов в водах с различной соленостью и могут быть использованы в учебных курсах по протистологии, протозоологии и зоологии беспозвоночных.

Автореферат в полной мере отражает основное содержание диссертации. По своей актуальности, новизне и значимости работа полностью соответствует требованиям положения «О порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а автор, Герасимова Елена

Анатолевна достоин присуждения звания кандидата биологических наук по специальности 03.02.04 – зоология.

Отзыв составлен доктором биологических наук, профессором Юрием Александровичем Мазеем, проректором МГУ, профессором кафедры общей экологии и гидробиологии биологического факультета МГУ и утвержден на заседании кафедры общей экологии и гидробиологии биологического факультета МГУ, протокол № 3 от «15» апреля 2020 г.

доктор биологических наук,
профессор кафедры общей экологии и гидробиологии
биологического факультета МГУ
проректор
Юрий Александрович Мазей



119991, Москва, Ленинские горы, д.1,
Московский государственный
университет имени М.В.Ломоносова
тел: 495-9392603
e-mail: yurimazei@mail.ru

Подпись Ю.А. Мазея заверяю:

проректор – начальник Управления кадров,
кадровой политики
и дополнительного образования
профессор



П.В. Вржещ

В диссертационный совет Д 002.036.02
при Институте биологии внутренних вод
им. И.Д. Папанина РАН

СВЕДЕНИЯ О ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

по диссертации Герасимовой Елены Анатольевны

«Морфология и разнообразие центрохелидных солнечников водоёмов и водотоков степной и лесостепной зоны Заволжско-Уральского региона»,
представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук
по специальности 03.02.04 – зоология.

Полное наименование организации в соответствии с Уставом	Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»
Сокращенное наименование организации в соответствии с Уставом	МГУ
Руководитель организации	Садовничий Виктор Антонович, академик РАН, доктор физико-математических наук, ректор
Почтовый индекс, адрес организации	119991, г. Москва, Ленинские горы, д. 1
Телефон	+ 7 (495) 939-10-00
Адрес электронной почты	info@rector.msu.ru
Веб-сайт	https://www.msu.ru/
Сведения о составителях отзыва	Мазей Юрий Александрович, доктор биологических наук, профессор, проректор — начальник Управления международных отношений МГУ, профессор кафедры общей экологии и гидробиологии биологического факультета МГУ Тел.: + 7 (495) 939-40-26 Адрес эл. почты: yurimazei@mail.ru
Список публикаций сотрудников ведущей организации по теме диссертации соискателя в рецензируемых научных изданиях за последние 5 лет (не более 15):	
1. Mazei Yu., Chernyshov V., Bukhhalo S., Mazei N., Creevy A., Payne R. Exploring the ecology of testate amoebae in peatlands of Western Siberia // Acta Protozoologica. 2017. Vol. 56. №1. P. 59–70. (doi: 10.4467/16890027AP.17.005.6969)	
2. Qin Y., Payne R., Gu. Y., Mazei Yu., Xie Sh. Short-term response of testate	

- amoebae to wildfire // *Applied Soil Ecology*. 2017. Vol. 116. P. 64-69.
3. Mazei Yu., Tsyganov A., Esaulov A., Tychkov A., Payne R. What is the optimum sample size for the study of peatland testate amoeba assemblages? // *European Journal of Protistology*. 2017. Vol. 61. P. 85-91. (doi.org/10.1016/j.ejop.2017.09.004).
 4. Connor S.E., Colombaroli D., Confortini F., Gobet E., Ilyashuk B., Ilyashuk E., van Leeuwen J., Lamentowicz M., van der Knaap W.O., Malysheva E., Marchetto A., Margalitatze N., Mazei Yu., Mitchell E.A.D., Payne R.J., Ammann B. Long-term population dynamics – theory and reality in a peatland ecosystem // *Journal of Ecology*. 2018. Vol. 106. №1. P. 333–346. (doi: 10.1111/1365-2745.12865).
 5. Tran H.Q., Mazei Y.A., 2018. Testate amoebae from South Vietnam waterbodies with the description of new species *Diffflugia vietnamica* sp. nov. // *Acta Protozoologica*. Vol. 57. No. 4. P. 215–229. (DOI: 10.4467/16890027AP.18.016.10092)
 6. Mazei Yu., Lebedeva N., Taskaeva A., Ivanovsky A., Chernyshov V., Tsyganov A., Payne R. The human factor in microbial biogeography: The revealing case of testate amoebae in the soils of Pyramiden, Svalbard // *Pedobiologia*. 2018. Vol. 67. P. 10–15. (doi: 10.1016/j.pedobi.2018.02.002)
 7. Mazei Y.A., Tsyganov A.N., Chernyshov V.A., Ivanovsky A.A., Payne R.J., 2018. First records of testate amoebae from the Novaya Zemlya archipelago (Russian Arctic) // *Polar Biology*. Vol. 41. No. 6. P. 1133–1142. (DOI: 10.1007/s00300-018-2273-x)
 8. Mazei Yu., Lebedeva N., Taskaeva A., Ivanovsky A., Chernyshov V., Tsyganov A., Payne R. Influence of seabirds on soil testate amoebae in the Arctic // *Polar Science*. 2018. Vol. 16. P. 78-85 (doi: 10.1016/j.polar.2018.03.001)
 9. Azovsky A.I., Mazei Y.A., 2018. Diversity and distribution of free-living ciliates from high-Arctic Kara Sea sediments // *Protist*. Vol. 169. No. 2. P. 141–157. (DOI: 10.1016/j.protis.2018.01.001)
 10. Krashevskaya V., Malysheva E., Klarner B., Mazei Yu., Maraun M., Widayastuti R., Schöe S. Micro-decomposer communities and decomposition processes in tropical lowlands as affected by land-use and litter type // *Oecologia*. 2018. Vol. 187. P. 255-266. (doi: 10.1007/s00442-018-4103-9).
 11. Tsyganov A.N., Malysheva E.A., Zharov A.A., Sapelko T.V., Mazei Y.A., 2019. Distribution of benthic testate amoeba assemblages along a water depth gradient in freshwater lakes of the Meshchera Lowlands, Russia, and utility of the microfossils for inferring past lake water level // *Journal of Paleolimnology*. Vol. 62. No. 2. P. 137–150. (DOI: 10.1007/s10933-019-00080-6)
 12. Singer D., Metz S., Unrein F., Shimano S., Mazei Y., Mitchell E.A., Lara E., 2019. Contrasted Micro-Eukaryotic Diversity Associated with Sphagnum Mosses in Tropical, Subtropical and Temperate Climatic Zones // *Microbial ecology*. Vol. 78. No. 3. 714–724. (DOI: 10.1007/s00248-019-01325-7)
 13. Bobrov A., Mazei Y., Buyvolova A., Yacher L., 2019. Testate Amoebae of Peru: filling the gap in Neotropics // *Revista de Biología Tropical*. Vol. 67. No.

3. P. 478–489. (DOI: 10.15517/rbt.v67i2.32909)
14. Tsyganov A., Kupriyanov D., Babeshko K., Borisova T., Chernyshov V., Volkova E., Chekova D., Mazei Yu., Novenko E. Autogenic and allogenic factors affecting development of a floating Sphagnum dominated peat mat in a karst pond basin // *Holocene*. 2019. Vol. 29. P. 120–129 (DOI: 10.1177/0959683618804631).
15. Swindles G.T., Morris P.J., Mullan D.J., Payne R.J., Roland T.P., Amesbury M.J., Lamentowicz M., Turner E.T., Gallego-Sala A., Sim T., Barr I.D., Blaauw M., Blundell A., Chambers F.M., Charman D.J., Feurdean A., Galloway J.M., Gałka M., Green S., Kajukalo K., Karofeld E., Korhola A., Lamentowicz Ł., Langdon P., Marcisz K., Mauquoy D., Mazei Yu.A., McKeown M., Mitchell E.A.D., Novenko E., Plunkett G., Roe H.M., Schoning K., Sillasoo Ü., Tsyganov A.N., van der Linden M., Väliranta M., Warner B. Widespread drying of European peatlands in recent centuries // *Nature Geoscience*. 2019. Vol. 12. P. 922–928. (doi: 10.1038/s41561-019-0462-z).

Ведущая организация подтверждает, что соискатель Герасимова Елена Анатольевна не является сотрудником МГУ и не имеет научных работ по теме диссертации, подготовленных на базе МГУ, или в соавторстве с сотрудниками МГУ.

Проректор — начальник Управления международных отношений МГУ, доктор биологических наук, профессор кафедры общей экологии и гидробиологии биологического факультета МГУ



Ю.А. Мазей