

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу

Подунай Юлии Александровны «Половое воспроизведение, система скрещивания и биогеография представителей рода *Ulnaria* (Kützinger) Compère (Bacillariophyta)», представленной на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.16 – гидробиология

Актуальность исследования Ю.А. Подунай не вызывает сомнения, учитывая особенно слабую изученность полового процесса у диатомовых водорослей. Актуален вопрос изучения систем скрещивания видов, сочетания гомо- и гетероталлического путей воспроизведения у диатомовых водорослей. Доказательства генотипического определения пола у пеннатных диатомовых водорослей получены на сравнительно небольшом количестве видов. Вопросу межвидовой гибридизации у диатомовых водорослей посвящено всего несколько работ. Актуальность работы определяется и немаловажным практическим аспектом, связанным с необходимостью поддержания коллекционных штаммов диатомей в пересадочных коллекциях, а также с промышленным культивированием представителей этой систематической категории, требующем периодического проведения циклов полового размножения микроводорослей.

Научная новизна исследования. У представителей рода *Ulnaria* детально исследован жизненный цикл, определены кардинальные пункты, жизненного цикла, описаны схема и детали полового процесса, описан новый механизм движения гамет. На основе критерия репродуктивной совместимости либо изоляции изучено распространение видов рода *Ulnaria* на Евразийском континенте. Показана схема детерминации и наследования пола у изученных диатомовых водорослей, предполагающая диплогенотипический характер наследования, при котором женские организмы являются гомогаметными, а мужские — гетерогаметными и гетероаллельными в отношении половых факторов.

Общая оценка работы. Представленная на отзыв диссертация изложена на 157 страницах, состоит из введения, 5 глав, заключения, выводов, списка литературы, включающего 257 источников, из них 218 иностранных. Текст содержит 11 таблиц и 32 рисунка.

Во «Введении» обоснована актуальность исследования, сформулированы цель и задачи настоящего исследования. Здесь же показаны научная новизна и практическая значимость; охарактеризованы используемые в работе методы исследования; выделены основные положения, выносимые на защиту; показана степень достоверности результатов; приведен перечень научных конференций, на которых докладывались результаты работы; дана структура и объем диссертации; оценен личный вклад автора. Практическая значимость работы заключается в том, что полученные знания о жизненных циклах и биологии воспроизведения могут быть применены в биотехнологических производствах, связанных с получением различных полезных для человека веществ, синтезируемых диатомовыми водорослями.

В главе 1 «Обзор литературы» автором приводится анализ литературы по теме диссертационного исследования. В этой главе охарактеризована общая биология и современная систематика диатомовых водорослей, систематизированы накопленные к настоящему времени данные о жизненных циклах, системах скрещивания и особенностях полового воспроизведения

пеннатных диатомовых водорослей. Детально охарактеризована история изучения и таксономия представителей рода *Ulnaria*.

В главе 2 «Материалы и методы» показаны места отбора проб, а также подробно изложены использованные в работе методы. Описаны, в частности, процедуры отбора проб и выделения клонов, клоновое культивирование и экспериментальное скрещивание клонов с гетероталлической системой скрещивания. Дано описание рецепта питательной среды, которая успешно применяется для культивирования диатомовых водорослей в течение длительного времени. Для исследования культур использовали различные техники световой и электронной микроскопии. Подробно описана методика молекулярно-генетического анализа. Проведена статистическая обработка полученных данных.

Глава 3 посвящена подробному описанию объектов исследования, их морфологическим особенностям и влиянию на культивирование различных элементов. Все виды проиллюстрированы световыми фотографиями живых клеток, колоний клеток в культуре, и электронными микрофотографиями створок панцирей. Автором подробно описана морфология и широкая внутривидовая изменчивость морфологических признаков представителей рода *Ulnaria*. Выявлены видоспецифические размеры изучаемых видов и кардинальные пункты жизненного цикла. Изучение жизненного цикла, его критических точек, дало возможность проанализировать распределение размеров клеток в природных популяциях и получить информацию о динамике и эффективной доле популяции в конкретный момент времени. Проведенные эксперименты по оценке влияния на рост культуры диатомовых различных концентраций силиката натрия и витамина В12 позволили автору отработать протокол содержания изучаемых водорослей и подобрать для них оптимальные условия для проведения экспериментов по скрещиванию.

В главе 4 в деталях описан половой процесс изученных видов, показаны различия мужского и женского гаметогенеза. Впервые установлено, что

сближение гамет для сингамии у представителей рода *Ulnaria* осуществляется за счет особого типа движения мужских гамет с помощью временных цитоплазматических выростов. Изучена система скрещивания и жизненный цикл видов рода *Ulnaria*. Показано, что система скрещивания *Ulnaria ulna* и *U. danica* включает в себя гетеро- и гомоталлический способы воспроизведения, тогда как у *U. acus* случаев гомоталлизма не отмечено. Автором отмечено, что при гетероталлическом воспроизведении у всех изученных представителей рода *Ulnaria* половой процесс проходит по единой схеме. Показана схема детерминации пола у *U. ulna* и *U. danica*, предполагающая диплогенотипический характер наследования, при котором мужские организмы являются гетерогаметными, а женские – гомогаметными в отношении половых факторов.

В главе 5 впервые с использованием принципов и положений репродуктивной биологии изучено распространение видов рода *Ulnaria* на Евразийском континенте. Установлена репродуктивная совместимость изученных популяций *U. acus* и повсеместное распространение этого вида на территории Евразии. Показана репродуктивная изоляция и граница между двумя видами *Ulnaria ulna* и *U. danica*, а на границе существования этих видов – зона межвидовой гибридизации. Автором получены и проанализированы генетические последовательности фрагмента гена *rbcL*, что позволило установить филогенетические отношения между изученными клонами рода *Ulnaria*. Отмечено, что в отношении рода *Ulnaria* филогенетическое разделение видов по гену *rbcL* соответствует показанной репродуктивной изоляции между ними и еще раз подтверждает выделение изученных видов по морфологическим критериям. В данной главе автор также приводит обсуждение проблемы вида у диатомовых, криптических/псевдокриптических видов и видообразования.

В заключении соискателем обобщаются полученные результаты.

Диссертантом сформулировано восемь выводов, полностью соответствующих поставленным целям и задачам, а также результатам работы.

Замечания по диссертации

Литературный обзор (глава 1) представляется слишком кратким для такой работы (менее 20 страниц). Возможно, в этом разделе следовало бы подробнее очертить связь фундаментальных знаний о диатомовых водорослях, их размножении и практическом применении данных организмов в биотехнологии. При обсуждении результатов упоминаются т.н. феромоны, стимулирующие гаметогенез. Однако в литературном обзоре ничего не сказано про эти вещества, а также про их химическую природу.

Выносимое на защиту положение № 5 сформулировано слишком категорично, поскольку далеко не вся территория Евразии была охвачена исследованием (хотя широта географического охвата мест отбора проб всё же впечатляет).

Пункты «psbA», «ITS» и «18S» присутствуют в списке сокращений, но не расшифрованы, тогда как обозначения стандартных единиц измерения (таких как «с», секунды) почему-то в этом списке даны.

Необходимо, однако, подчеркнуть, что сделанные замечания носят рекомендательный характер и не снижают высокой ценности и фундаментальной значимости работы. В целом, диссертация Ю.А. Подунай написана грамотным литературным языком, что облегчает восприятие ключевых результатов. Выводы диссертации вполне достоверны и обоснованы. Содержание автореферата полностью соответствует основным идеям и выводам диссертации. Научная и практическая значимость выводов диссертации несомненна.

Диссертация "Половое воспроизведение, система скрещивания и биогеография представителей рода *Ulnaria* (Kützinger) Compère (Bacillariophyta)" соответствует требованиям к кандидатским диссертациям, изложенным в пп. 9–14 Положения «О Порядке присуждения ученых степеней»,

утвержденным постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 г. (с изменениями от 11.09.2021 г.), а автор работы, Подунай Юлия Александровна, заслуживает присуждения учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.16 - гидробиология.

Доктор биологических наук, профессор
кафедры биоинженерии биологического
факультета Московского государственного
университета имени М.В. Ломоносова

Соловченко Алексей
Евгеньевич



«11» мая 2022 г.

Подпись А.Е. Соловченко удостоверяю:

*Декан биол. ф-та МГУ,
аккаунт МП Керниченко*



Контактные данные официального оппонента

Почтовый адрес: 119234, Российская Федерация, Москва, Ленинские горы, д. 1, с. 12. Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», биологический факультет.

Телефон/факс: +7(495)939-25-87; +7(495)939-43-09

Адрес электронной почты: solovchenko@mail.bio.msu.ru

