

Отзыв
официального оппонента на диссертационную работу
Калининой Евгении Анатольевны на тему
«ЭКОЛОГО-ПОПУЛЯЦИОННЫЕ И ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ
ПРИРОДНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ *GLYPTOTENDIPES GLAUCUS* MG. (DIPTERA,
CHIRONOMIDAE) ИЗ МАЛЫХ ВОДОЕМОВ КАЛИНИНГРАДСКОЙ ОБЛАСТИ»,
представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук
по специальности 1.5.15 Экология

Диссертационная работа Евгении Анатольевны Калининой представляет собой результат многолетних (2016-2025 гг.) исследований хирономид Калининградской области. Хирономиды (комары-звонцы или комары-дергуны) относятся к семейству Chironomidae (Diptera) подотряда длинноусых Nematocera. Представители семейства обитают во всех биогеографических регионах, включая материковую Антарктиду, и насчитывают в мировой фауне более 6000 (по некоторым данным даже 10000) описанных видов. Среди них преобладают обитатели пресноводных биотопов, но имеются также наземные и морские виды. Семейство делится на 11 подсемейств, из которых наиболее многочисленными и широко распространенными являются Orthoclaadiinae, Tanypodinae and Chironominae. Хирономиды отличаются выраженной экологической пластичностью, многие виды демонстрируют широкий диапазон устойчивости к разнообразным условиям окружающей среды, таким как низкие температуры и высокая соленость, гипоксия и высыхание. Замечательная особенность хирономид, разделяемая ими с некоторыми другими двукрылыми насекомыми, заключается в том, что в их слюнных железах (а также в других органах и тканях) находятся гигантские политенные хромосомы. Длина этих интерфазных хромосом во много раз превышает длину митотических хромосом; они имеют характерную поперечную исчерченность, выявляемую на цитологическом уровне: темные диски, состоящие из конденсированного хроматина, и светлые междиски, состоящие из деконденсированного хроматина. Политенные хромосомы используют как модель для изучения интерфазных хромосом как таковых в исследованиях, посвященных молекулярно-генетическим процессам регуляции активности генов и механизмам репликации ДНК в разных типах хроматина и др. Особая область использования политенных хромосом – идентификация видов на основе последовательностей хромосомных дисков и использование рисунка дисков как маркера в сравнительно-цитогенетических исследованиях при выяснении филогенетических отношений и эволюции геномов, и, наконец, в биоиндикационных исследованиях при оценке экологического состояния водоемов разного типа. Именно этим проблемам посвящена диссертационная работа Евгении Анатольевны, которую я должна оценить в своем отзыве.

Согласно п. 23 Положения о присуждении ученых степеней необходимо, чтобы оппонент дал оценку диссертации с точки зрения актуальности избранной темы, обоснованности выносимых на защиту положений и научных выводов, самостоятельности выполнения исследований, достоверности полученных результатов и их новизны. Все, сказанное мною выше, не должно оставлять сомнения в **АКТУАЛЬНОСТИ** исследований Е.А. Калининой, ибо она следует из самого названия диссертации и поставленных диссертантом задач. **ЦЕЛЬ И ОСНОВНЫЕ ЗАДАЧИ** исследования четко сформулированы, обоснованы и ясны. Основных задач пять, все они решаются на высоко

адекватном для их разработки объекте – это *Glyptotendipes glaucus* Mg., широко распространенный фитофильный вид, который является одним из модельных объектов цитогенетических, молекулярно-генетических и экологических исследований.

ПОЛОЖЕНИЯ, ВЫНОСИМЫЕ НА ЗАЩИТУ (их 3) и сделанные **ВЫВОДЫ** (их 5) обоснованы большим объемом изученного материала, тщательно обработанного с использованием адекватных методов морфологического и цитогенетического анализа. **Выводы** полностью отражают достижения диссертантки и демонстрируют новизну и теоретическую и практическую значимость полученных данных. Например, показано (**вывод 3**), что в водоемах Калининградской области в популяциях *G. glaucus* происходит отбор и постепенное закрепление определенных инверсионных последовательностей и (**вывод 5**), что геном этого вида способен адаптивно модифицироваться в меняющихся условиях внешней среды. **ДОСТОВЕРНОСТЬ** результатов в первую очередь зависит от объема собранного и изученного материала и от адекватности используемых методов и подходов. В этом отношении у меня нет никаких сомнений. Приведенные в работе таблицы и рисунки подтверждают значительный объем изученного материала и высокое качество морфологических и цитологических исследований. Диссертационная работа содержит очевидные признаки **НОВИЗНЫ**, что подтверждается как в методической, так и в результативной частях работы. Чтобы проиллюстрировать сказанное, отмечу использование оригинального (разработанного самой диссертанткой) индекса вариабельности инверсионного полиморфизма для оценки уровня изменчивости политенных хромосом *G. glaucus* или, например, выявление в кариофонде этого вида ранее неизвестных последовательностей дисков. В перспективе, данные, полученные Е.А. Калининой для *G. glaucus*, могут иметь **ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ**, ибо они добавляют важную информацию о потенциальных возможностях использования этого вида в качестве модельного объекта для биологического мониторинга при определении степени загрязнения водных объектов по показателям уровня инверсионного полиморфизма. Уровень **САМОСТОЯТЕЛЬНОСТИ** проведенных исследований и **ЛИЧНЫЙ ВКЛАД** Е.А. Калининой также очевидны, о чем можно судить на основании ее роли в опубликованных статьях: в двух статьях (из 3-х), опубликованных в рецензируемых научных изданиях, рекомендуемых ВАК РФ, и в четырех статьях (из 19), опубликованных в других изданиях, она является первым автором. В целом, по материалам диссертации опубликовано 22 научные работы. Основные результаты представлены диссертанткой на многочисленных конференциях, в том числе на нескольких международных или с «международным участием».

Я не буду подробно анализировать диссертацию по главам, ограничусь кратким обзором их содержания и оценкой основных результатов.

Работа представлена на 166 странице компьютерного текста, из них 154 стр. основного текста и 12 стр. Приложений. Основной текст разделен на 6 частей: Введение, 3 главы, Заключение, Выводы, Литература.

Введение составлено традиционно, с соблюдением всех требований ВАК, в нем говорится об актуальности, целях и задачах проведенных исследований, научной новизне, теоретической и практической значимости, перечисляются положения, выносимые на защиту, и конференции, на которых докладывались материалы диссертационной работы, дается оценка личного вклада диссертанта в проведенные исследования и приводятся пять выводов. Все перечисленное заслуживает высокой оценки, о чем я уже говорила выше.

Глава I. Обзор литературы включает три раздела (каждый с подразделами): (1) Общая характеристика биологии и экологии личинок хирономид; (2) Общая структурно-функциональная организация политенных хромосом хирономид ...; (3) Тяжелые металлы как загрязнители водных объектов. В главе имеется полезная Таблица 1, составленная по литературным источникам, в которой перечислены водоемы, где когда-либо были обнаружены и изучены личинки *G. glaucus* (это 9 регионов России и 6 стран Европы), приводятся ссылки на первоисточники и кратко сообщается о перспективах и возможностях изучения хирономид, в том числе *G. glaucus*, в Калининградской области. Регион исследования уникален, он представляет собой полуэксклав России, граничащий со странами Европы, на юге – с Польшей, на севере и востоке – с Литвой. Как справедливо пишет диссертантка, такое географическое положение Калининградской области (цитирую), «может служить хорошим «экологическим маяком» для исследования границ ареала *G. glaucus*, а, следовательно, и размера потенциального адаптивного пространства исследуемого вида».

Глава II Объекты и методы исследования. Здесь описываются использованные в работе методики. Среди них – т.н. «индекс доминирования Палия-Ковнацки» (Kownacki, 1971), позволяющий выявлять виды с разной степенью доминирования в биоценозе водоема, атомно-абсорбционный метод, с помощью которого определялось содержание металлов в пробах донных отложений, и методика приготовления хромосомных препаратов из слюнных желёз личинок. В одном из разделов главы приводятся характеристики исследованных водоемов. Это очень важный раздел, здесь сообщается о размере водоема, источнике его наполнения водой и источниках антропогенного давления на водоем. Раздел иллюстрирован двумя картами-схемами, на которых показано расположение изученных водоемов на территории г. Калининграда и области, соответственно.

Глава III Результаты исследования и их обсуждение состоит из 4-х частей: (1) Ареал *G. glaucus* в странах Евразии, а также в Великобритании; (2) Оценка экологической значимости *G. glaucus* в природных таксоценозах хирономид; (3) Общая характеристика кариотипов *G. glaucus* природных популяций из водоемов Калининградской области; (4) Сравнительный анализ данных инверсионного полиморфизма природных популяций *G. glaucus*. Глава содержит много новой, важной и интересной информации не только об основном объекте исследования, но и о хирономидах Калининградской области в целом. Например, как следует из написанного, в семи водоемах, которые диссертантка обследовала в период с 2012 по 2015 гг, ею выявлено 23 вида хирономид из двух подсемейств – Chironominae (8 родов, 18 видов из трибы Chironomini и 1 вид, *Cladotanytarsus mancus*, из трибы Tanitarsini) и Orthoclaadiinae (4 вида *Cricotopus*). Ожидаемо (рец.) преобладали представители родов *Chironomus* и *Glyptotendipes*. Большое впечатление произвел на меня раздел «Особенности структурно-функциональной организации политенных хромосом *G. glaucus* из водоемов Калининградской области». Раздел дает полноценное представление о степени и результатах изучения этого модельного вида в каждом из обследованных водоемов (варианты последовательностей хромосомных дисков, их число и частоты встречаемости, уровень хромосомного полиморфизма и его связь с качественно-количественным содержанием тяжелых металлов в воде; в последнем случае проводился химический анализ донных отложений водоемов). В этом разделе имеется большое количество иллюстраций, что облегчает восприятие обильной информации через визуальные образы и является несомненным достоинством диссертации в целом.

Список литературы включает 265 наименований, 67 источников на иностранных языках (но см. ниже). В работе имеются 36 рисунков, 29 таблиц. В конце диссертации приводятся пять **Приложений (А-Д)**, в них вынесены: (А) Акт (2024 г.) о внедрении результатов работы в образовательную деятельность, подтверждающий использование результатов диссертации Е.А. Калининой в учебном процессе высшей школы живых систем образовательного кластера «Институт медицины и наук о жизни»; (Б) Карта распространения *G. glaucus* в странах Евразии и в Великобритании (по литературным источникам); (В) Таблица, демонстрирующая последовательные стадии развития имагинальных дисков личинок хирономид (на примере *Chironomus thummi*) (но см. ниже); (Г) Таблица, показывающая как ранжируются (распределяются) изученные виды хирономид по значению индекса доминирования Палия-Ковнацки в 7-ми природных таксоценозах Калининградской области; и (Д) список хромосомных последовательностей у *Glyptotendipes glaucus*. Приложение (Г) включает графики, составленные по результатам анализа природных таксоценозов хирономид из 7-ми водоемов Калининградской области, включая шесть прудов г. Калининграда, и озеро Чайка на Куршской косе, и обобщает результаты, представленные в разделе 3.2.1. диссертации. Графики убедительно демонстрируют, что в исследованных таксоценозах лидирует вид *Glyptotendipes glaucus*, что свидетельствует об его экологической толерантности по отношению к грунтам и аэробным условиям водоемов в зарослях макрофитов и сопутствующих их организмов.

ОЦЕНКА КАЧЕСТВА ОФОРМЛЕНИЯ РАБОТЫ. Диссертация написана хорошим языком, богато иллюстрирована, включает 36 высоко информативных рисунков, фотографий и графиков. Широко использован способ табличного представления материала – имеется 29 таблиц.

ЗАМЕЧАНИЯ (приводятся по главам)

Глава 1 Обзор литературы

(1) В разделе 1.2. «Общая структурно-функциональная организация политенных хромосом хирономид как представителей семейства двукрылых» должно быть – **хирономид как представителей отряда Diptera.**

(2) В подписях под рисунками 8, 9, 10 написано, что «обозначения отделов [сделаны] по Г.Н. Мисейко и Б.Х. Минсариновой», но отсутствуют ссылки на оригинальные источники.

(3) Имеются неудачные выражения, например, «перестройки **первичных (?)** хромосом или «хромосомные **полиморфизмы**».

Глава 2 Объекты и методы исследования

(4) В Таблице 2 «Места сбора личинок и количество исследованных особей хирономид» отсутствует такая важная информация как географические координаты водоемов, даты сбора личинок, количество изученных (а не только собранных) личинок. Хотя частично эти данные можно найти в других местах диссертации, они были нужны здесь.

(5) При упоминании индекса доминирования Палия-Ковнацки надо было ссылаться не на авторов, которые этот индекс использовали, а на первоисточник (Kownacki, 1971), при этом надо было расшифровать «формулу 1 и формулу 2». Несмотря на важность этого индекса, его никак нельзя отнести к широко известным фундаментальным индексам, описывающим базовые понятия и, поэтому не требующим ссылок и расшифровок.

(6) В связи с предыдущим замечанием, отмечу совершенно неоправданное цитирование целых 11 источников, следующих после фразы: «личинки идентифицировали по морфологическим признакам и фиксировали на месте в растворе 96%-го этилового спирта и ледяной уксусной кислоты (3:1). Здесь было достаточно процитировать одну-две публикации.

(7) Приводя латинские названия насекомых или растений, можно было привести также их русские названия, например, семейство Chironomidae (комары-звонцы), *Typha angustifolia* (Рогоз узколистный) и др.

Глава 3. Результаты исследования и их обсуждение

(8) В главе сообщается, что в период 2012-2015 гг. в 7-ми малых водоемах Калининградской области были идентифицированы 23 вида хирономид из подсемейств Chironominae и Ortocladinae. Никакой другой информации не представлено, в частности, не сказано, на основании каких признаков виды были идентифицированы (морфология, хромосомы?). В этой связи, хочется услышать ответ диссертантки на вопрос о том, насколько надежным является видовая идентификация личинок только по признакам морфологии или по структуре политенных хромосом, без выведения до имаго или, например, без ДНК-штрихкодирования (ДНК баркодинг), которое позволяет надежно идентифицировать виды по генетическим маркерам в ДНК.

(9) Список литературы

Как я уже отмечала в начале отзыва, список включает 248 наименований, из них 66 источников на иностранных языках. Однако, во-первых, среди статей имеются не очень нужные (см. выше, пункт 6), а во-вторых, названия русскоязычных статей иногда приводятся на английском языке (номера 206, 250, 251) или приводятся англоязычные версии статей, исходно опубликованных на русском языке (номера 258, 262). В тех статьях, где диссертант является единственным или одним из авторов, ее фамилию следовало выделить жирным шрифтом.

Приложения

(10) Не совсем понятно, зачем нужно было делать Приложение Б «Развитие имагинальных дисков личинок хирономид (на примере *Chironomus thummi*)». В тексте диссертации эти данные нигде не используются и вообще не упоминаются (кроме стр. 44, где коротко говорится о строении гонад самок и самцов); не сказано также, откуда они заимствованы.

Сделанные мною замечания никоим образом, однако, не меняют моей высокой оценки достоинств и значения диссертационной работы в целом.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Подводя итог вышесказанному, считаю, что диссертационная работа Евгении Анатольевны Калининой на тему «Эколого-популяционные и цитогенетические характеристики природных популяций *Glyptotendipes glaucus* Mg. (Diptera, Chironomidae) из малых водоемов Калининградской области» является законченной научно-квалификационной работой в области экологии, отчасти на стыке с энтомологией и генетикой. Работа содержит новые решения актуальных проблем адаптации организмов к меняющимся условиям среды и демонстрирует значение структурных характеристик политенных хромосом для изучения механизмов поддержания равновесия между организмами (на примере хирономид) и средой их обитания. По содержанию, методам и выводам, работа полностью соответствует специальности

1.5.15 Экология, она характеризуется высокой степенью новизны и достоверности полученных данных, обоснованностью научных положений и выводов. Автореферат в полной мере отражает содержание работы и соответствует принятым стандартам. Основное содержание диссертации, включая выводы, заключение и положения, выносимые на защиту, опубликованы в рецензируемых журналах.

В целом, представленное исследование по актуальности, объему полученной информации, новизне данных, широте и значимости сделанных научных обобщений, а также по формальным критериям полностью соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук «Положением о присуждении ученых степеней», утвержденным постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842, а ее автор, Евгения Анатольевна Калинина, заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.15 Экология.

Официальный оппонент

Доктор биологических наук (03.02.05 – энтомология),
профессор, заслуженный деятель науки РФ,
главный научный сотрудник
лаборатории систематики насекомых
ЗИН РАН
03.02.2026

В Кузнецова

Кузнецова Валентина Григорьевна

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Зоологический институт
Российской академии наук (ЗИН РАН)
199034 г. Санкт-Петербург, Университетская наб., д. 1
E-mail: valentina.kuznetsova@zin.ru
Телефон +7-921-7752580

