

Диссертационный совет
Д 002.223.03
при Федеральном государственном
бюджетном учреждении науки
Зоологический институт
Российской академии наук

Отзыв на автореферат
диссертации **Удалова Ильи Андреевича**
**«Голые лобозные амёбы *Korotnevella Goodkov, 1988 (Amoebozoa,*
*Paramoebidae): систематика, биоразнообразие и ДНК-баркодинг»***,
представленной на соискание учёной степени кандидата биологических наук по
специальности 03.02.04 зоология

Предлагаемая к защите диссертация посвящена малоизученным и сложным вопросам систематики лобозных амёб. Особенности биологии и относительно ограниченное число морфологических признаков во многом предопределили сложность построения их классификации в рамках морфологической концепции вида. Как исключение можно было бы рассматривать виды сем. Paramoebidae, которые обладают наиболее заметными и характерными особенностями клеточных покровов (наличие чешуек). Однако исследования, выполненные на основе филогенетической концепции вида, с использованием молекулярно-генетических методов, в ряде случаев дали результаты, которые плохо согласовывались с уже известными морфовидами.

Последние исследования, проведенные автором диссертации, ясно показывают, что построение и осмысление сценариев эволюции клеточных покровов Paramoebidae невозможно без использования комплексного подхода с использованием морфологических и молекулярно-генетических методов.

В связи с этим кандидатская диссертация И.А. Удалова, посвящённая вопросам систематики, филогении и ДНК-баркодинга лобозных амёб рода *Korotnevella* крайне актуальна. Во-первых, назрела необходимость решения вопроса о соотношении морфологических признаков и филогенетических связей в пределах морфовидов этих амёб. Во-вторых, построение их классификации и изучение филогении осложняется значительным генетическим разнообразием отдельных морфовидов. Этот аспект непосредственно связан с изучением генетической структуры морфовидов и вопросами разработки ДНК-баркодов для амёбойдных протистов в целом. Исследования, проводимые с помощью метагеномного анализа субстратов, выявили огромное число неизвестных таксонов протистов (MOTUs), которые пока с трудом поддаются традиционной таксономической интерпретации. Из-за неполноты баз данных последовательностей крайне актуальным является получение референсных сиквентов маркерных генов образцов морфовидов и создание электронных библиотек последовательностей по отдельным группам организмов. В этой связи проверка И.А. Удаловым возможности использования маркерного гена COX1 для целей баркодинга, и получение референсных последовательностей представляется мне также крайне актуальной.

Новизна полученных автором результатов также не вызывает сомнения. И.А. Удалов впервые провёл ревизию родов *Korotnevella* и *Pseudoparamoeba*, используя морфологический анализ клеточных покровных структур с использованием световой, просвечивающей и сканирующей электронной микроскопии. Им описано 12 новых для науки морфовидов, из них для 6 впервые получены последовательности маркерных генов. В диссертации впервые на основании глубокого и всестороннего осмысления и интерпретации оригинальных данных даётся обоснование видоспецифичности признаков чешуек отдельных видов коротневел. Автором впервые выявлены уникальные для лобозных амёб чешуйки на поверхности цист и проведена модификация классификации этих структур. И.А. Удаловым впервые установлено, что ген COX1 может служить эффективным ДНК-баркодом для выявления морфовидов *Korotnevella*. Автор, используя анализ изменчивости сиквенсов маркерных генов между различными морфовидами и в пределах штаммов, смог провести тщательный филогенетический анализ, результатом которого стали филогенетические деревья. Это позволило прояснить филогенетическую структуру не только самого рода *Korotnevella*, но и показать его место в системе филогенетических связей лобозных амёб. Следует подчеркнуть, что эта часть диссертации крайне перспективна для дальнейших исследований, так как автором вопрос о монофилии рода *Korotnevella* оставлен открытым до получения новых сиквенсов для большего числа видов.

Особенно хотелось бы отметить, что И.А. Удаловым, несмотря на значительное разнообразие использование подходов и методов, удалось сопоставить данные по строению чешуек покровов амёб с топологией филогенетических деревьев, построенных на основании последовательностей гена 18s рРНК. Можно смело утверждать, что автор смог доказать и обосновать одно из основных защищаемых положений диссертации о том, что филогению рода *Korotnevella* и родственные связи видов этого рода можно оценить только с учётом молекулярно-филогенетических данных. Во многом это стало возможным благодаря правильно выбранной в диссертации комбинации морфологических и молекулярно-генетических методов.

Особенно хотелось отметить раздел Главы 4, посвященной оценке возможности использования гена COX1 в качестве ДНК-баркода для идентификации видов родов *Korotnevella* и *Pseudoparamoeba*. И.А. Удаловым проделана большая и успешная работа по определению значений внутривидовой, и межвидовой дивергенции сиквенсов данного маркерного гена. Полученный разрыв "barcoding gap" 2.88% между этими двумя показателями указывает на то, что ген COX1 может служить хорошим баркодом для видов рода *Korotnevella*.

Замечания.

В диссертации автор пишет, что работа позволяет провести первую оценку возможностей использования генов 18S рРНК и гена COX1 в качестве ДНК-баркодов для идентификации видов коротневелл и получить первые представления о генетической структуре морфологического вида в пределах этого рода амёб. Однако в диссертации даётся оценка только гена COX1, тогда как ген 18s рРНК использовался для филогенетического анализа. Известно, что молекулярный баркодинг основанный на 18s рРНК широко используется в отношении других простейших (Guillow et al., 2013). Этот ген обычно

мультикопийный (Torres-Machorro et al., 2010). Это значительно облегчает амплификацию ДНК и получение сиквенсов даже из небольшого количества материала. В частности была показана перспективность использования для этих целей маркерной последовательности первой части гена SSU (около 600 пн), свободной от интронов у плазмодиальных миксогастрид (Kamono et al., 2013; Pawlowski et al., 2012). В связи с этим у меня возникает вопрос. Какие преимущества имеет COX1 по сравнению с геном 18s рРНК для баркодинга рода *Korotnevela*?

Автором впервые показано, что в пределах двух морфовидов *Korotnevela* существуют по 4 генетических линии (MOTU). Это в свою очередь ставит вопрос о систематическом статусе этих MOTU. Что это – филогенетические виды или разновидности в пределах одного морфовида, какой таксономический статус могли бы иметь эти MOTU?

Заданные вопросы не относятся к замечаниям, а скорее обусловлены желанием прояснить эти разделы при чтении автореферата.

В заключение, хотелось бы отметить, что, несмотря на значительный объем и разнородность полученных результатов, выводы диссертации сформулированы ясно и лаконично. Автору удалось успешно объединить полученные результаты и обосновать выдвинутые в диссертации положения. Работа, безусловно, вносит очень существенный вклад в систематику, биогеографию и экологию протистов, а также имеет значительную практическую ценность, в частности для молекулярной экологии. Основные данные и результаты работы опубликованы в 6 научных публикациях (из них 5 из перечня ВАК и 4 в журналах, реферируемых в Web of Science).

Уровень выполненной диссертации показывает, что работа соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям (пп. 9-11, 13, 14 «Положения о присуждении учёных степеней», утверждённого Постановлением правительства РФ № 842 от 24 сентября 2013 г.), а её автор заслуживает присуждения учёной степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.04 – зоология.

Юрий Капитонович Новожилов
доктор биологических наук, профессор
Главный научный сотрудник
лаборатории систематики и географии грибов
Федерального государственного бюджетного учреждения науки
Ботанического института им. В.Л. Комарова РАН

197376, г. Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 2,
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Ботанический
институт им. В.Л. Комарова Российской академии наук
+7 (812) 372-54-39

e-mail: binadmin@binran.ru, YNovozhilov@binran.ru

11.09.2017 

Подпись руки

ЗАВЕРЯЮ

ОТДЕЛ КАДРОВ

Ботанического института

им. В.Л. Комарова

Российской академии наук



Ю.К. Новожилов