

## ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию Ганюковой Анны Игоревны  
“Симбионт-содержащие трипаносоматиды: жизненные циклы, разнообразие  
симбиотических ассоциаций, филогения”, представленную к защите  
на соискание ученой степени кандидата биологических наук  
по специальности 1.5.17. – Паразитология (биологические науки)

Кандидатская диссертация Ганюковой Анны Игоревны посвящена фаунистическим, морфологическим и молекулярно-филогенетическим исследованиям симбионт-содержащих трипаносоматид бореальной зоны Евразии, а также экспериментальному изучению их жизненных циклов. Исторически сложилось так, что исследования биоразнообразия семейства *Trypanosomatidae* ведутся преимущественно в регионах тропической и экваториальной зон, откуда описана большая часть видов трипаносоматид. Современные фаунистические исследования основываются преимущественно на данных метабаркодинга, что приводит к возникновению огромных пробелов в вопросах биологии, морфологии, паразито-хозяйинных отношений трипаносоматид, в особенности симбионт-содержащих видов. Число современных исследований, посвященных изучению жизненных циклов трипаносоматид, вообще пренебрежимо мало. Расширяющие адаптивный потенциал паразитов симбиотические ассоциации с прокариотами – по-видимому, важный драйвер для находящейся на эволюционном подъеме группы трипаносоматид. Таким образом, выбранная тема диссертации весьма актуальна.

Диссертация Ганюковой А.И. представлена на 114 страницах текста (включая Приложение). Структура диссертации типична для квалификационных работ данного уровня и включает все необходимые разделы. Во «Введении» (стр. 4-10) диссертантом подробно обоснованы

актуальность работы, степень разработанности темы исследования, ее теоретическая и практическая значимость и научная новизна. Эти подразделы никаких сомнений не вызывают, научная новизна работы очевидна, равно как и ее актуальность. Основываясь на актуальности и слабой разработанности темы, автор формулирует цели и задачи работы, описывает предлагаемые методологию и методы исследования. Автором сформулированы основные положения, выносимые на защиту, их пять и, забегая вперед, замечу, что все они хорошо обоснованы. Приведенный автором список публикаций по теме диссертации, содержит все основные материалы, включенные в диссертационную работу. Список содержит пять статей, опубликованных в авторитетных международных и отечественных изданиях (четыре из них индексируются в Scopus, включая два издания, индексируемых также в Web of Science), что значительно превышает уровень требований, предъявляемых к кандидатским диссертациям. Материалы диссертации широко апробированы как на российских, так и на международных конференциях. Раздел «Цели и задачи работы» (стр. 5-6) отличается ясностью и конкретностью формулировок и наряду с «Положениями, выносимыми на защиту» (стр. 8-9) позволяет оценить масштабность и значимость всей работы. В качестве основных целей работы автор поставила поиск симбионт-содержащих видов среди представителей семейства Трипаносоматиде северных широт умеренной зоны Евразии и расшифровку жизненных циклов симбионт-содержащих трипаносоматид.

Сразу отмечу, что цели работы автором были достигнуты, и собранный ею большой объем данных, выполненные морфологические и молекулярные исследования, обнаруженные новые изоляты симбионт-содержащих трипаносоматид, экспериментальное изучение особенностей их жизненных циклов составляют хороший фундамент для анализа роли симбиотических ассоциаций в диверсификации и эволюции трипаносоматид. В целом это – подробное (и во многом уникальное) исследование симбионт-содержащих трипаносоматид бореальной зоны Российской Федерации.

Глава 1 диссертации «Обзор литературных данных» (стр. 11-42) дает исчерпывающую информацию по истории и современному состоянию исследований семейства Trypanosomatidae вообще и симбионт-содержащих представителей семейства, в частности. Специальное внимание уделено проблеме становления симбиотических отношений в пределах трипаносоматид, особенностям метаболизма и организации геномов симбионтов, а также взаимодействию членов симбиотических ассоциаций. Обзор хорошо структурирован, написан четко, лаконично и при этом представляет собой исчерпывающую компиляцию и обобщение литературных данных. Эта глава оставляет прекрасное впечатление и может рассматриваться как готовый материал к отдельной публикации. Единственный недостаток, который вынуждена отметить, – отсутствие заключения, сделанного в конце обзора, которое обобщает все представленные литературные данные и подводит к необходимости реализации поставленных в работе целей и задач.

Глава 2 «Материалы и методы» (стр. 43-48) включает весь спектр использованных диссертантом методов и подходов, в том числе фаунистические сборы, скрининг лабораторных культур и архивных препаратов, изучение морфологии с привлечением световой и электронной микроскопии, современные молекулярно-филогенетические методы и оригинальные (подчас новаторские) методики экспериментального заражения двукрылых трипаносоматидами. Знакомство с этим разделом позволяет заключить, что Ганюкова А.И. – сложившийся, высоко квалифицированный специалист, владеющий впечатляющим набором как классических, так и весьма современных методов, необходимых для современных описаний новых видов и для изучения жизненных циклов трипаносоматид. Анна Игоревна способна осуществлять комплексные исследования и самостоятельно решать масштабные задачи.

В главе 3 «Результаты и обсуждение» (стр. 49-88) последовательно приведены результаты оригинальных исследований, сопровождающиеся их

подробным обсуждением и анализом, включающим и формулировку интересных эволюционных гипотез. Эта работа выполнена очень грамотно, описания корректны, иллюстративный материал превосходного качества. В ходе исследований было обнаружено четыре изолята симбионт-содержащих трипаносоматид, причем впервые обнаружены симбионт-содержащие виды в родах *Phytomonas* и *Vickermania*. Опубликовано описание нового вида – *Phytomonas borealis*, первого симбионт-содержащего представителя подсемейства Phytomonadinae. В кишечнике мухи *Calliopyum elisae* (Diptera: Lauxaniidae), пойманной на северо-западе России, обнаружен новый вид рода *Angomonas*.

Восхищает поисковый характер работы и большой объем изученного материала – выполнено почти полторы тысячи вскрытий, проанализировано 236 изолятов трипаносоматид, полученных из природных заражений насекомых в ходе полевых исследований. Обращает на себя внимание широкая география сборов по всей стране: от Пскова до Камчатки. Для обнаруженных изолятов Анной Игоревной реализован весь спектр морфологических и молекулярных исследований, необходимых для описания новых изолятов и видов. Она смогла подобрать условия для культивирования сложнокультивируемых изолятов. Очень импонирует интегральный подход автора. Не могу не отметить высокое качество полученных и представленных в работе свето- и электронно-микроскопических изображений.

Я высоко оценила тщательное описание и рассмотрение Анной Игоревной неудачных попыток обнаружения эндоцитобионтов у *Wallacemonas*, имеющих комплекс синапоморфий, характерных для симбионт-содержащих трипаносоматид подсемейства Strigomonadinae, и предложенные автором два варианта эволюционных сценариев, объясняющих как и почему такая ситуация могла возникнуть.

В результате проведения масштабного исследования А.И. Ганюкова показала, что видовое богатство трипаносоматид севера умеренной зоны

Евразии значительно шире, чем представлялось ранее. При этом наглядно продемонстрировано, что симбиоз с прокариотными организмами не исключение из правил, а один из значимых эволюционных трендов семейства *Tripanosomatidae*. Анна Игоревна приходит к важному выводу о том, что симбиотические ассоциации с прокариотными организмами, по всей видимости, могут возникать независимо у представителей разных групп трипаносоматид. Интересен в этой связи обнаруженный Анной Игоревной пример недавно сформировавшейся симбиотической ассоциации у *Phytomonas borealis*, в случае которой наблюдается непостоянное число симбионтов в клетке хозяина и наличие симбионт-содержащих и апосимбионтных популяций.

Автором проведено детальное ультраструктурное исследование одного из наиболее распространённых симбионт-содержащих видов трипаносоматид *Angomonas deanei*, в ходе которого впервые у представителя подсемейства *Strigomonadinae* показано наличие редуцированного цитостом-цитофарингеального комплекса. Изучен жизненный цикл этого организма и экспериментально подтверждена его широкая гостальная специфичность. Автор приходит к закономерному выводу о том, что глобальное распространение и отсутствие строгой гостальной специфичности лежит в основе успешной эволюционной стратегии этого вида.

Как важный положительный аспект работы отмечу, что обсуждение во всех разделах работы написано вдумчиво и неформально, автор во всех случаях обсуждает возможные эволюционные сценарии появления тех или иных особенностей и формулирует свои гипотезы. Так, в частности, 4 из 6 выводов сформулированы на основании гипотез, аргументы в пользу которых автору удалось получить в ходе выполнения исследования.

Для *Angomonas deanei* MN и *Angomonas* sp. M29-9 автором описано разнообразие морфотипов симбионтов, которое, по мнению автора, отражает последовательные фазы их клеточного цикла. Поскольку в работе не

приводится никаких цитометрических данных, а лишь сведения о качественных результатах DAPI окрашивания, возникает вопрос, на основании каких данных сделан столь уверенный вывод.

Смущает также, что на графиках динамики смертности имаго в условиях иммобилизации (Рис. 3.14) нет доверительных интервалов, вряд ли эти эксперименты проводились без повторностей. Также не указаны и размахи варьирования в таблицах (Таблицы 3.7, 3.8, 3.10, 3.11), демонстрирующих результаты экспериментальных заражений.

Диссертация завершается разделами «Заключение» (стр. 89-90) и «Выводы» (стр. 91), после которых следует традиционные разделы «Список публикаций по теме диссертации» (стр. 92-93), включающий 5 статей и 4 тезисов, и «Список литературы» (стр. 94-110), включающий 189 наименований, из которых 16 на русском языке, и 173 – на иностранных.

Примененные методы и подходы адекватны поставленным задачам; автор демонстрирует хорошее знакомство как с литературой по теме исследования, так и с практическими методами и подходами, необходимыми для выполнения работ такого рода. Основные полученные результаты сформулированы четко и корректно, выводы соответствуют поставленным целям и задачам, полностью отражают результаты исследования, и служат безусловным обоснованием положений, вынесенных на защиту. Оценивая работу в целом, можно сказать, что цели работы автором достигнуты, поставленные задачи – успешно решены. Представленная Анной Игоревной работа – добротное законченное исследование, написанное ученым, четко понимающим суть проблемы, глубоко и хорошо знакомым с объектом и предметом исследований, способным к формализации и обобщению наблюдаемых явления и процессов. Ее актуальность, полнота и высокое качество выполнения несомненны и полностью соответствуют требованиям, предъявляемые к кандидатским диссертациям. Автореферат отражает все основные положения работы и содержание всех глав и разделов диссертации.

На основании всего вышеизложенного могу заключить, что диссертационная работа Ганюковой Анны Игоревны является оригинальным законченным научно-квалификационным исследованием и соответствует всем требованиям «Положения о порядке присуждения ученых степеней» от 24 сентября 2013 г. №842, утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации, предъявляемым к диссертациям, выдвигаемым на соискание ученой степени кандидата наук; ее автор безусловно заслуживает присуждения ему искомой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.17. – Паразитология (биологические науки).

Дата: 03 февраля 2023 г.

Официальный оппонент,

кандидат биологических наук (специальность: 1.5.22 - клеточная биология),  
ведущий научный сотрудник

Федерального государственного бюджетного учреждения науки

Института цитологии Российской академии наук,

194064 г. Санкт-Петербург, Тихорецкий пр., д. 4

Электронная почта: nosema@mail.ru,

Телефон: +7 (921)979 74 73

Насонова Елена Станиславовна



Насонова Е.С.  
03.02.2023 г.  
канцелярией