

«УТВЕРЖДАЮ»

Проректор – начальник управления научной политики
и организации научных исследований
Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова



Руки
профессор
А.А. Федягин

ОТЗЫВ

на диссертацию и автореферат Удалова Ильи Андреевича
"Голые лобозные амебы рода *Korotnevella* Goodkov, 1988
(*Amoebozoa, Paramoebidae*):

систематика, биоразнообразие и ДНК-баркодинг",
представленную на соискание ученой степени кандидата
биологических наук по специальности 03.02.04 – зоология

«Голые» амебы являются достаточно разнообразной, но, пожалуй, одной из наименее изученных групп протистов. Одной из основных проблем систематики этих организмов является ограниченное количество признаков, которые могут быть использованы для их описания и идентификации. В состав клеточного покрова амеб рода *Korotnevella* входят чешуйки, форма и размер которых считаются видоспецифичными. Благодаря этому коротневеллы являются одними из немногих амёб, имеющих четкий признак, позволяющий различать морфологические виды. Поэтому актуальность данной работы определяется тем, что позволяет существенно продвинуться в понимании закономерностей эволюции высокодифференцированных покровных структур амеб на примере семейства *Paramoebidae*. Решение конкретных задач позволило автору понять основные этапы возникновения и видоизменения чешуек амеб рода *Korotnevella* и оценить возможность использования строения чешуек для идентификации видов

коротневелл. В работе впервые проведена оценка возможности использования генов 18S рРНК и COX1 в качестве ДНК-баркодов для идентификации видов коротневелл и получены первые представления о генетической структуре морфологического вида в пределах этого рода амеб.

Во **Введении** обоснована цель работы, ее актуальность, сформулированы задачи исследования, показаны научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы. Все положения сформулированы четко.

Замечаний по разделу нет.

В **Главе 1**, представляющей собой литературный обзор, кратко рассмотрены основные понятия, которые используются при описании морфологии амеб рода *Korotnevella*, как на светомикроскопическом уровне, так и при описании строения чешуек. Подробно освещена история изучения представителей рода *Korotnevella*, а также близких родов семейства Paramoebidae (*Paramoeba*, *Neoparamoeba* и *Pseudoparamoeba*) с конца XIX века и по настоящее время. Рассмотрены описания видов и таксономические решения, сделанные теми или иными авторами в отношении видов и родов семейства Paramoebidae. В конце главы кратко дан текущий таксономический состав семейства Paramoebidae с указанием типового рода и типовых видов родов.

Замечаний по главе нет.

В **Главе 2 «Материал и методики»** приведены характеристики региона исследований, описаны примененные автором методы световой и электронной микроскопии и молекуларно-генетические методы. В диссертации для оценки достоверности результатов и корректности выводов были привлечены необходимые статистические процедуры.

Замечаний по главе нет.

В Главе 3 Описаны результаты проведенных исследований. В частности, приведены подробные описания изученных штаммов амеб, относящихся к 13 видам, 12 из которых являются новыми для науки. Описаны цисты коротневелл. Причем описан новый для амеб тип оболочки цист. Приведены результаты молекулярно-филогенетического анализа представителей семейства Paramoebidae по гену 18S рРНК, который показал, что сиквенсы всех видов рода *Korotnevella* формируют обособленную кладу, но с низкой бутстрэп-поддержкой. При этом «группа 1», виды с корзинковидными чешуйками, парафилетическая. Внутри нее находится монофилетическая группа, виды которой имеют чешуйки в форме сомбреро («группа 3»). Монофилетическую группу образует лишь часть видов «группы 1», имеющая сетчатые структуры в составе корзинковидных чешуек.

Приведены также результаты молекулярно-филогенетического анализа представителей семейства Paramoebidae по гену COX1. Сиквенсы гена COX1 формируют отдельные кластеры на филогенетическом дереве, соответствующие морфологическим видам родов *Korotnevella* и *Pseudoparamoeba*. Минимальное значение дивергенции сиквенсов гена COX1 между морфологическими видами — 8%, максимальное значение — 23%.

Следует отметить не совсем обычное структурирование диссертации больше напоминающей статью с разделением описания результатов и обсуждения. Вместе с тем, материал, представленный в такой форме, воспринимается четко и легко, что позволяет приветствовать такую форму и рекомендовать ее в других кандидатских работах.

Замечаний по главе нет.

В Главе 4 представлено обсуждение полученных результатов. Полученные конкретные результаты «вложены» в существующий общий контекст развития протистологии.

Автором предложен возможный сценарий эволюции строения чешуек в пределах рода *Korotnevella* и схема возникновения и эволюции чешуек в пределах семейства *Paramoebidae*. На основании морфологических и молекулярных данных описан новый вид – *Pseudoparamoeba microlepis*. Амебы этого вида имеют чешуйкоподобные структуры нового типа, ранее неизвестные среди голых амеб. Соответственно расширен диагноз рода *Pseudoparamoeba*.

В пределах двух морфологических видов, *Korotnevella stella* и *K. heteracantha*, выявлено по четыре молекулярных операциональных таксономических единиц (МОТУ). Две из четырех МОТУ вида *K. stella* были изолированы из нескольких различных местообитаний, в то время как все МОТУ *K. heteracantha* оказались эндемичными для каждого из изученных местообитаний.

Важным выводом работы является доказательство того, что биоразнообразие рода *Korotnevella* значительно выше известного в настоящий момент. Об этом говорит не только то, что три четверти изученных в работе штаммов оказались новыми для науки видами; но также и то, что один из штаммов, первоначально идентифицированный как *Korotnevella stella*, в действительности, видимо, является отдельным видом. Автор справедливо предполагает, что в дальнейшем, по мере накопления новых данных, количество таких находок возрастет. Если же рассматривать МОТУ, не имеющие видимых морфологических отличий, в качестве отдельных криптических видов, то биоразнообразие рода еще выше.

Замечаний по главе нет.

Выводы работы сформулированы четко и соответствуют поставленным задачам и полученным результатам работы.

Материалы работы были заслушаны в 2015 г. на VII Европейском протистологическом конгрессе (Севилья, Испания), в 2016 г. на Международном протистологическом форуме «PROTIST-2016» (Москва, МГУ), а также на научных семинарах кафедры зоологии беспозвоночных СПбГУ.

По теме диссертации опубликовано 6 работ. Из них 5 в журналах из списка, рекомендованного ВАК, в том числе 4 – в журналах, индексирующихся в базах Web of Science и Scopus – ведущих международных журналах протистологической направленности – European Journal of Protistology и Journal of Eukaryotic Microbiology.

Диссертация состоит из введения, четырех глав («Обзор литературы», «Материал и методики», «Результаты» и «Обсуждение»), краткого изложения основных полученных результатов, выводов, заключения и списка литературы. Общий объем составляет 229 страниц. Работа проиллюстрирована 64 рисунками и 6 таблицами. Список литературы содержит 126 источников, из них 121 на иностранных языках.

Новизна исследования заключается в том, что в работе методами световой и электронной микроскопии изучено 15 штаммов амеб, 14 из которых относятся к роду *Korotnevella* и один – к роду *Pseudoparamoeba*. Описано 12 новых для науки видов. Для шести видов получены сиквенсы гена 18S рРНК, а для 12 – первые сиквенсы 5' фрагмента гена COX1.

Ранее считалось, что роды *Korotnevella* и *Pseudoparamoeba* различаются строением клеточных покровов. Описанный в работе И.А. Удалова новый вид рода *Pseudoparamoeba*, *P. microlepis*, имеет чешуйкоподобные структуры в составе клеточных покровов, на основании чего был расширен диагноз рода *Pseudoparamoeba* с учетом наличия чешуйкоподобных структур у нового вида.

Впервые было показано наличие стадии цисты в жизненном цикле амеб рода *Korotnevella*. При этом в составе оболочки цисты были обнаружены чешуйки, структура которых радикально отличалась от таковой чешуек трофозоитов. Подобные структуры – чешуйки цисты – не были ранее известны для других лобозных амеб и, возможно, являются уникальными для этой группы протистов.

В работе модифицирована классификация чешуек видов рода *Korotnevella*, созданная ранее О'Келли с соавторами (O'Kelly et al., 2001). Данные о морфологии чешуек были наложены на филогенетическое

дерево рода, на основании чего впервые был предложен один из возможных сценариев эволюции клеточных покровов в пределах семейства Paramoebidae. Подтверждена гипотеза о том, что чешуйки являются видоспецифичными и позволяют различать морфологические виды коротневелл.

Впервые было показано, что ген COX1 является хорошим ДНК-баркодом для идентификации морфологических видов рода *Korotnevella*, о чем свидетельствует наличие так называемого «barcoding gap» (разницы между генетическими расстояниями в пределах вида и между видами), значение которого составило 2,88%.

Получены первые данные о генетической структуре видов *Korotnevella stella* и *K. heteracantha*. В пределах этих морфологических видов выявлено по четыре генетических линии – молекулярные операциональные таксономические единицы (МОТУ). У *K. stella* одни и те же МОТУ были изолированы из нескольких местообитаний, в то время как все МОТУ, представляющие вид *K. heteracantha*, являются эндемичными для каждого из изученных местообитаний.

Значимость результатов для практики состоит в том, что полученные результаты работы могут быть использованы для идентификации видов амеб родов *Korotnevella* и *Pseudoparamoeba* в эколого-фаунистических исследованиях, работах природоохранной направленности, а также при подготовке курсов, реализуемых в рамках соответствующих образовательных программ бакалавриата, магистратуры и аспирантуры биологической направленности.

Рекомендации по использованию результатов работы. Материалы диссертации должны быть использованы в преподавании курсов общей и прикладной экологии в вузах, таких как Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Московский педагогический государственный университет, Академия «МНЭПУ», Пензенский государственный университет.

Диссертация соответствует требованиям "Положения о порядке присуждения ученых степеней" ВАК РФ, а ее автор Удалов Илья Андреевич заслуживает присуждения ему искомой ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.04 – зоология. Автореферат и опубликованные работы отражают содержание диссертации.

Отзыв составлен д.б.н., проф. Ю.А. Мазеем, профессором кафедры гидробиологии биологического факультета и утвержден на заседании кафедры гидробиологии биологического факультета Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова, протокол № 1 от 19 сентября 2017 г.

В.В. Ильинский

и.о. зав. кафедрой гидробиологии,

Биологический факультет,

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова

119991, г. Москва, Ленинские горы, 1

тел: 495- 9391148

e-mail: vladilinskiy@gmail.com

Ю.А. Мазей

профессор кафедры гидробиологии,

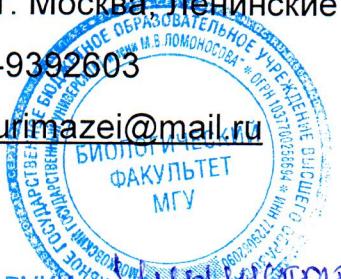
Биологический факультет,

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова

119991, г. Москва, Ленинские горы, 1

тел: 495-9392603

e-mail: yurimazei@mail.ru



ПОДПИСЬ РУКОЙ
ЗАВЕРЯЮ

Документовед биологического факультета МГУ

Ильинский В.В.
Мазей Ю.А.