

ОТЗЫВ

члена диссертационного совета на диссертацию Мезенцева Елисея Сергеевича на тему: «Разнообразие, систематика и филогения амёб семейства Thecamoebidae (Amoebozoa, Discosea)», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по научной специальности 1.5.12. Зоология

Диссертация Елисея Сергеевича Мезенцева посвящена биоразнообразию и таксономии недостаточно изученной, но важной с теоретической и практической стороны группы микроэукариот. Семейство Thecamoebidae, ключевая группа в филогении Amoebozoa, включают в себя крайне разнообразных представителей: с точки зрения жизненных стратегий – от свободноживущих форм до паразитов человека и животных, с точки зрения местообитаний – от эпибионтов поверхности высохших трав до обитателей горячих источников и морских биотопов, с точки зрения морфологии – в семейство входят ругозные и стриатные формы, виды с разнообразными паттернами распределения ядрышек и структурных компонентов цитоплазмы, разным количеством ядер, крупные амёбы размером больше 3 мм, и мелкие - меньше 50 микрон, и даже виды, формирующие псевдоподии. При этом нет сомнений, что мы имеем дело со строго монофилитической группой, образующей длинную ветвь на филогениях, построенных и на основании гена 18S rDNA и на мультигенных деревьях, что, как и разнообразие форм, может говорить о древности происхождения группы или/и о наличии генетических механизмов, обеспечивающих ускоренный темп эволюции. Необходимость углубленного изучения данной группы очевидна и, таким образом, актуальность выбранной темы и значимость выполненных Елисеем Сергеевичем исследований не вызывает сомнений.

Диссертация в целом хорошо написана, логично построена и поэтому хорошо читается. В файле с правкой рукописи, отосланном диссертанту, отмечены небольшие замеченные мною шероховатости стиля, которые не снижают хорошего впечатления от текста. Они могут быть исправлены в on-line версии по желанию автора. Следует отметить, что английская версия также качественно написана.

Диссертация Мезенцева Елисея Сергеевича изложена на 145 страницах текста; примерно столько же занимает английская версия. Список литературы весьма обширен и включает 183 источника.

Диссертация имеет классическую рубрику и начинается с «Введения», в котором подробно обоснованы актуальность работы, ее теоретическая и практическая значимость и научная новизна. Автором четко сформулированы основные положения, выносимые на защиту, приведен список публикаций автора, который значительно превышает уровень требований, предъявляемых к кандидатской диссертации, а также детально описан личный вклад автора в выполнение работы. Из этого описания понятно, что подавляющую часть работы автор выполнил самостоятельно, соавторство с другими специалистами в ряде публикаций вызвано обоснованной необходимостью использования широкого спектра методов и подходов для современного исследования видов амёбоидных протистов. Отметим, что в тексте диссертации автор опирается только на исследования, выполненные лично им. Далее адекватно сформулированы «Цели и задачи работы», приведен логичный

и структурированный обзор литературы, описаны «Материал и методики», использованные в работе - как классические, так и самые современные. В следующем разделе «Результаты и обсуждение» описаны результаты проведенных исследований, и далее идут главы, посвященные обсуждению и анализу результатов. Работа завершается разделами «Основные полученные результаты» и «Выводы», после которых следуют традиционные разделы «Благодарности» и «Список литературы». Структура работы возражения не вызывает, однако часть информации по молекулярной филогении и структуре рибосомального гена я бы перенесла в обзор литературы, сконцентрировавшись в «Результатах и обсуждении» на обсуждении преимущественно собственных данных. Впрочем, это замечание субъективно и легко может быть оспорено.

В качестве основной цели работы (стр. 14) автор ставит изучение разнообразия, систематики и филогении амёб семейства *Thecamoebidae*, а также подготовку материалов для последующего проведения ревизии и монографического описания этого семейства амёб. Сразу отмечу, что цель работы автором была достигнута, и собранный им огромный объем данных, выполненные описания новых видов, обнаруженные новые особенности морфологии и биологии текамебид составляют хороший фундамент для ревизии этого семейства амёб. Судя по обзору литературы, я могу предположить, что диссертационная работа Мезенцева — это самое подробное исследование амёб отряда *Thecamoebida*, начиная с 1977 года, и, следовательно - наиболее качественное и полноценное на сегодняшний день. Как важный положительный аспект работы отмечу также, что три из четырех выносимых на защиту положений являются гипотезами, и в ходе выполнения исследования автору удастся их проверить и доказать.

Раздел «Обзор литературы» состоит из четырех секций, посвященных, соответственно, истории изучения и систематики отряда *Thecamoebida*, детальному обзору его систематического состава (по видам), морфологии клетки текамебид и небольшому обзору известных на данный момент особенностей их биологии и экологии. Этот обзор произвел на меня крайне благоприятное впечатление. Он отражает глубокий интерес автора к группе и истории ее изучения, содержит тщательный анализ литературных данных, включая даже весьма экзотические и труднодоступные источники, и представляет собой исчерпывающую компиляцию по теме диссертации. Подробное и точное цитирование, а также воспроизведенные оригинальные иллюстрации из старых работ не оставляет сомнений в том, что автор работал с оригинальными источниками. Автором на основе собственных и литературных данных подготовлены вклейки, иллюстрирующие морфологическое разнообразие текамебид. Раздел, посвященный морфологии и организации клетки представителей семейства *Thecamoebidae*, также содержит хорошие иллюстрации, выполненные автором. Мне кажется чрезвычайно похвальным такое бережное отношение молодого исследователя ко всем накопленным данным и старым литературным источникам, характеризующее, на мой взгляд, Елисея как настоящего зоолога и ученого, в отличие от многих современных авторов, цитирующих (и читающих) лишь обзоры и работы ближайшего пятилетия.

Раздел «Материал и методики» достаточно краток, но содержит всю необходимую информацию о примененных в ходе выполнения исследования методах и местах изоляции амёб, культивирования штаммов, светомикроскопических и молекулярных методах. Отметим щепетильность (на мой взгляд избыточную) автора, который, вероятно, в рамках

концепции о диссертации как представлении исключительно собственных оригинальных результатов, не упоминает в этом разделе методы электронной микроскопии. Мне, как и другим специалистам по ультраструктуре одноклеточные эукариот, было бы интересно познакомиться с методическими особенностями подготовки клеток амёб из различных местообитаний к электронно-микроскопическим исследованиям. Из опубликованных работ очевидно, что ультраструктурные исследования были неотъемлемой частью работы автора, и даже если он не выполнял непосредственно техническую часть, то несомненно участвовал в интерпретации и оценке полученных результатов.

Раздел «Результаты и обсуждение» содержит ряд секций, посвященных видам текамебид, изолированным и описанным автором. Каждая такая секция представляет материал одной статьи автора в краткой форме с хорошими, высококачественными иллюстрациями. Эта работа выполнена технически грамотно, описания корректны, иллюстративный материал по видам превосходного качества. Однако описательной частью автор не ограничился, далее следует ряд секций, посвященных «сквозному» анализу полученных данных. Автор подробно рассматривает проблему использования морфологии ядра в качестве систематического признака у текамебид и наглядно показывает, что с обнаружением видов-двойников полагаться на исключительно морфологические характеристики не надежно.

Мне, не специалисту по амёбам, вообще не понятно как можно в качестве хоть как-то надежного признака рассматривать распределение ядрышкового материала, которое зависит от стадии жизненного цикла, внешних факторов и физиологического состояния клетки. В этой связи у меня вопрос: доказано ли цитохимическими или другими методами что полиморфные ядерные структуры, называемые «ядрышками» в амёбной литературе, таковыми являются? Исчезают ли они при митозе? Присутствуют ли там тандемные кластеры рДНК? Выявляется ли РНК полимеразы и другие маркеры ядрышкового организатора? Второй вопрос, который возникает в связи с большим количеством просмотренных клеток амёб и великолепным качеством светооптического анализа: не встречались ли автору внутриядерные структуры, напоминающие внутриядерных симбионтов, в частности, микроспоридиоподобных розеллид/криптомикот родов *Nucleophaga* и *Paramicrosporidium*, подобных упомянутым в диссертации *N. amoeba* и *N. terricola*, описанных Мичелом и Корсаро из двух видов *Thecamoeba*?

Предложение ввести понятие «групп видов» для кластеров видов – двойников я считаю очень разумным. Это безусловно существенный вклад автора в систему знаний о текамебидах. Такой подход позволяет более корректно работать с изолятами и интерпретировать результаты исследований, в которых не проводилось определение видов текамеб на молекулярном уровне. Отдельные разделы посвящены молекулярной филогении амёб семейства *Thecamoebidae*, первому обнаружению видов-двойников в роде *Stenamoeba*, а также обнаружению амёб стриатного морфотипа за пределами семейства *Thecamoebidae*, что по мнению автора делает необходимым внести изменения в систему морфотипов голых амёб. Часть работы, посвященная интерпретации 18S-rDNA филогений – чрезвычайно интересна и актуальна для всех исследователей, имеющих дело с молекулярной филогенией и диагностикой одноклеточных эукариот, таксономия которых находится в «подвешенном состоянии» (т.е. всех групп без исключения). Имея в виду упомянутые автором переменные участки рДНК, не пытался ли Елисей Сергеевич или его коллеги использовать их как короткие баркоды и конструировать специфичные праймеры

непосредственно к этим участкам, например, для разделения видов-двойников? Второй вопрос, по которому мне интересно было бы услышать соображения автора, это как подойти к проблеме потере типовых видов при крайней маловероятности их повторного обнаружения. В частности, какой вид рода *Thecamoeba* следует теперь считать типовым, если вид, ранее считавшейся таковым, перешел в разряд «видов сомнительной валидности»? Как автор представляет себе «неотипификацию» в таком случае (термин взят из диссертации Мезенцева Е.С.)? Понятно, что эта проблема универсальна для зоологии беспозвоночных в целом. Исключительно важной и уникальной представляется мне также проведенная Елисеем Сергеевичем работа по реизоляции амёб рода *Thecochaos*, ранее известному только по постоянным препаратам начала прошлого века (!). Эта работа проведена на высочайшем методическом уровне, в результате исследования чётко показано, что род *Thecochaos* относится к отряду Thecamoebida. Это – первый многоядерный вид в пределах текамебид, да и в составе класса Discosea в целом. Работа заслуженно опубликована в журнале первого квартала.

Основные полученные результаты сформулированы четко и корректно, выводы соответствуют результатам и коррелируют с задачами работы. Цель работы автором достигнута, поставленные при ее выполнении задачи – успешно решены. Таким образом, я полагаю, что диссертация Мезенцева Елисея Сергеевича на тему: «Разнообразие, систематика и филогения амёб семейства Thecamoebidae (Amoebozoa, Discosea)» соответствует основным требованиям, установленным Приказом от 19.11.2021 № 11181/1 «О порядке присуждения ученых степеней в Санкт-Петербургском государственном университете», соискатель Мезенцев Елисей Сергеевич заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по научной специальности 1.5.12. Зоология. Нарушения пунктов 9 и 11 указанного Порядка в диссертации не установлены.

Член диссертационного совета

Доктор биологических наук
Биолог-исследователь/ электронный микроскопист
Лаборатория молекулярной генетики/
Общеинститутский центр пользования современными методами микроскопии
Институт болезней слуха и других коммуникационных расстройств
Национальный институт здоровья, Бетесда, Мэриленд, США

PhD, Dr. Sci
Research Biologist/ Electron Microscopist, contractor
Laboratory of Molecular Genetics/Advanced Microscopy Core
National Institute of Deafness and other Communication Disorders,
National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA



Соколова Юлия Яновна

01.02.2023