

ОТЗЫВ

председателя диссертационного совета на диссертацию СКАЛОН Елизаветы Кирилловны на тему «**Молекулярно-генетический и морфологический анализ природы плазмодия ортонектид (Orthonectida)**», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.17. Паразитология

Диссертация Елизаветы Кирилловны Скалон, представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук, посвящена изучению ортонектид - группы многоклеточных животных, изучение которой до сих пор ставит больше вопросов, чем позволяет получить ответов. Это касается и таксономического положения ортонектид, и их происхождения, и перехода к паразитизму, и особенностей жизненного цикла, и взаимодействия с хозяевами. Удивительно, но сейчас, на исходе первой четверти 21 века, в условиях широкого рутинного применения молекулярных подходов в реконструкции филогений – ортонектиды и с этой точки зрения оказываются особенными. Последние работы показывают, что их принадлежность к аннелидам (к которой мы уже начали привыкать в прошедшее десятилетие), возможно и не подтвердится. Ортонектиды в который раз на протяжении своей истории изучения выглядят загадочной, не имеющей очевидных родственных таксонов группой. И это только взгляд на филогенетические отношения. В течение многих лет ортонектиды упорно хранят тайны реализации жизненного цикла: вероятно, в настоящее время всего несколько людей в мире видели личинок ортонектид. Да и в целом работ, посвященных этой группе, исключительно мало. Все это, безусловно, придает актуальность диссертационному исследованию Е.К. Скалон, в то же время облегчая задачу получения данных, которые бы характеризовались научной новизной.

Основной вопрос, которому посвящена работа – анализ «природы плазмодия» ортонектид. Эта сверхзадача обозначена в название работы. Выяснить «природу плазмодия» - означает принять одну из двух существующих полярных точек зрения на то, чем является наблюдаемая в хозяине паразитическая плазмодиальная форма. Является ли плазмодий «телом» паразита или это модифицированная паразитом часть гипертрофированных клеток хозяина. Обратим внимание на то, что автор не ставит задачу выяснить природу плазмодия (хотя определенная точка зрения на это появляется в заключительной части работы), но «проанализировать» природу плазмодия. Название работы ориентирует не на решение проблемы, а на анализ. Такая осторожность, вероятно, простительна и даже обоснована в вопросах, которые касаются этой загадочной группы организмов.

Работа построена на основе анализа одной паразитарной системы – немертин *Lineus ruber*, зараженные ортонектидами *Intoshia linei*. Это также можно считать вполне обоснованным. Стратегия автора заключается в попытке более пристально посмотреть на объект исследования (плазмодий ортонектид) при помощи разнообразных методических подходов. Это требует обработки большого объема однородного материала. Принципом работы становится более глубокое изучение одной системы, а не широкий охват разных; последнее неизменно вело бы к более поверхностному взгляду на детали взаимодействия плазмодиальной стадии с хозяевами.

Диссертационное исследование базируется на обширном материале. Здесь необходимо отметить, что само по себе получение материала представляет значительные трудности: это строго сезонная работа на побережье Баренцева моря; для получения зараженных особей необходимо исследование большого количества немертин в связи с низкой экстенсивностью инвазии; необходимо транспортировать живой материал в

лабораторию, где, собственно, и возможна подготовка к проведению экспериментальной части.

Методы исследования, использованные в работе, вполне адекватны поставленным задачам. Более того, их набор позволяет заключить, что автор получил для анализа данные, характеризующиеся существенной научной новизной. В работе использована совокупность методов оптической микроскопии, иммуногистохимии, электронной микроскопии, в том числе нечасто пока применяющийся метод block-face серийной сканирующей электронной микроскопии, а также молекулярные методы анализа дифференциальной экспрессии генов плазмодияльной стадии. Необходимо сразу подчеркнуть, что в диссертации представлены микрофотографии высокого качества, а транскриптомный анализ и аннотация потенциальных уникальных для стадии плазмодия белков выполнены на хорошем методическом уровне.

Забегая вперед, скажу, что в целом представлена работа высокого уровня. Это касается и упомянутой уже методической составляющей, и обсуждения, и трактовки полученных результатов. Полученные данные опубликованы в высокорейтинговых международных изданиях. При этом в двух работах из трех соискатель является первым автором публикаций, что отражает вклад автора в работу (конкретнее о вкладе автора в составе научной группы на всех этапах исследования говорится в разделе 1.7. диссертации).

При этом мне кажется, что в отзыве стоит отметить и те моменты, которые показались достойными критической оценки, а также вопросы для содержательной научной дискуссии.

Первое замечание относится к стилю изложения. Многочисленные стилистические неточности отмечены мною в русскоязычном варианте рукописи; хотелось бы, чтобы автор более строго относился к созданию текстов.

Краткий раздел «Актуальность» посвящен распространению паразитизма вообще и ортонектидам как группе малоисследованных паразитических организмов. В отношении общепаразитологических проблем автор ссылается на (действительно качественные) работы Прайса, Поулина и Виндзора. Жаль, что вне внимания оказываются представители паразитологической школы нашего университета, к которой принадлежит в том числе и автор представленной работы; и В.А. Догель, и позже А.А. Добровольский много внимания в своих работах уделяли и становлению, и распространению паразитизма в природе.

Раздел «Цель и задачи» стилистически воспроизводит «осторожность» автора, отмеченную для названия работы (см. выше) и описывает в виде задач только процесс исследования (сбор..., описание строения..., поиск и аннотация...), а не получение конкретной информации на каждом этапе исследования.

Раздел «Научная новизна» представляет в качестве новизны применение новых (ранее не применявшихся к объекту) методов, а также упоминает о том, что с их помощью получены новые данные. К сожалению, сами данные, действительно характеризующиеся новизной, не указаны.

Аналогичное замечание по формулировке раздела «Основные научные результаты». Автор пишет только о том, что делалось, а за результатами отсылает к оригинальным статьям. Замечательно, что все основные результаты опубликованы,

однако в этом разделе диссертации рецензент ожидает увидеть именно краткую сущностную формулировку основных достижений.

Относительно интересных данных, полученных с помощью анализа РНК возникают вопросы, на которые автор, вероятно, с легкостью ответит. Во-первых - имеется ли в настоящее время полное прочтение генома *Lineus ruber* или, возможно, близких к нему видов? Во-вторых, вопрос по принципу выделения генов, специфически активных на плазмодиальной стадии. Есть ли гарантия, что в их число не попадают транскрипты генов хозяина, экспрессия которых активируется паразитом? Ведь из суммарных транскриптов (хозяин плюс плазмодий плюс сформированные, но не вышедшие еще половые стадии паразита) «вычитаются» транскрипты здорового хозяина, а также половых стадий ортонекид. В этой схеме предполагается, что и хозяин, и половые стадии паразита – как бы константы по экспрессии. Насколько можно быть уверенным в этом допущении?

В компактном «Обсуждении» автор резюмирует полученные результаты с помощью микроскопической техники. Наиболее дискуссионной в смысле интересной и пока что не имеющей внятного объяснения проблемой, на мой взгляд является трактовка двойной мембраны, окружающей паразита в теле хозяина. Важны также полученные результаты, позволяющие впервые говорить о признаках физиологической активности плазмодия. Впечатляют данные о потенциальном взаимодействии (пока что выявляемом чисто топологически) с нервной системой хозяина. Обсуждение функционального потенциала продуктов тех генов, которые, согласно результатам, активны именно на плазмодиальной стадии представляют совершенно новый материал. Набор транскриптов действительно свидетельствует о возможности трактовки экспрессии выделенного набора генов как потенциально обеспечивающего существование паразита в хозяине. Наконец, в разделе 5.3., автор возвращается к вопросу, который вынесен в название работы, обсуждая «природу плазмодия» на основе всей суммы полученных данных. Именно здесь автор однозначно присоединяется к трактовке «сомы» плазмодия как паразитического организма. При этом приводятся два основных аргумента. Первый - морфологические отличия ядер плазмодия (вегетативных) от ядер клеток хозяина и, наоборот, черты сходства их с генеративными ядрами клеток эмбрионов полового поколения. Второй аргумент – это специфический «профиль» экспрессии, выявляемый для генов плазмодия. Собственно, по составу экспрессируемых элементов генома автор и делает вывод о принадлежности этого спектра специализированному паразитическому организму. Раздел «Обсуждение» снабжен весьма удачными и наглядными авторскими схемами, на основании полученных результатов суммирующими представления о плазмодии в контексте его взаимодействия с хозяином, а также представления о развитии плазмодия в теле хозяина.

Краткое «Заключение» является по сути развернутой аннотацией результатов работы. Сформулированные выводы вполне обоснованы результатами работы.


Как видно из приведенных замечаний – все они относятся, так сказать, к технике исполнения рукописи. Что касается самих результатов, их обсуждения и в целом научной значимости работы – нет сомнений, что она представляет собой полноценную кандидатскую диссертацию. Работа построена на обширном материале, собственных, оригинальных данных, наглядно показывает уже достигнутый профессионализм исследователя и в плане владения современными методами исследования, и в плане «погруженности» в научный контекст проблематики. Результаты, изложенные в диссертации, опубликованы в международных периодических изданиях.

Таким образом, содержание диссертации Скалон Елизаветы Кирилловны на тему «Молекулярно-генетический и морфологический анализ природы плазмодия ортонектид (Orthonectida)» соответствует специальности 1.5.17. Паразитология. Диссертация является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение научной задачи, имеющей значение для развития соответствующей отрасли знаний.

Нарушений пунктов 9, 11 Порядка присуждения Санкт-Петербургским государственным университетом ученой степени кандидата наук, ученой степени доктора наук соискателем ученой степени мною не установлено.

Диссертация соответствует критериям, которым должны отвечать диссертации на соискание ученой степени кандидата наук, установленным приказом от 19.11.2021 № 11181/1 «О порядке присуждения ученых степеней в Санкт-Петербургском государственном университете» и рекомендована к защите в СПбГУ, а соискатель Скалон Елизавета Кирилловна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.17. Паразитология.

Председатель диссертационного совета
Доктор биологических наук, доцент,
профессор, заведующий кафедрой Зоологии беспозвоночных



А.И. Гранович
24.08.2024