

## ОТЗЫВ

члена диссертационного комитета

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 научной специальности 1.5.17. Паразитология

### **Актуальность темы исследования**

В своей диссертации Елизавета Скалон исследует биологию *Orthonectida* - загадочной группы эндопаразитических организмов, впервые описанных в 1877 году. Несмотря на их раннее открытие, многие аспекты их биологии, включая филогенетическое положение и связь с другими группами Metazoa, развитие отдельных стадий жизненного цикла, а также молекулярные основы их уникального жизненного цикла, остаются малоизученными. Е. Скалон ставит перед собой задачу восполнить этот пробел в знаниях и сосредоточивает внимание на морфологии и развитии плазмодия - наименее изученной стадии жизненного цикла *Orthonectida*, которая играет ключевую роль в их паразитической адаптации. Глубокое и целостное знание жизненного цикла *Orthonectida* и молекулярных механизмов их взаимодействия с хозяином имеет решающее значение для понимания фундаментальных принципов эволюции паразитизма. Таким образом, диссертация Е. Скалон затрагивает весьма актуальную тему в современной паразитологии. Более того, понимание эволюционных траекторий, которые привели к поразительному разнообразию ныне существующих групп животных, является актуальной темой в эволюционной биологии. Раскрывая вопрос о том, какие модификации развития и молекулярные адаптации привели к уникальному жизненному циклу *Orthonectida*, Е. Скалон также вносит вклад в решение весьма актуальных вопросов эволюционной биологии развития.

### **Цель исследования, задачи и подходы**

Цель работы Е. Скалон - получить целостное представление о природе плазмодия ортонектид с помощью современных молекулярно-генетических и микроскопических методов. Для решения этой задачи она сосредоточилась на одном из видов ортонектид - *Intoshia linei*, паразитирующем на немертинах *Lineus ruber*. Первой технической задачей, которую пришлось решать Е. Скалон, была проблема сбора достаточного количества материала из *L. ruber*, собранных в полевых условиях. Далее, решение этой задачи позволило Е. Скалон впервые описать тонкую структуру плазмодия *I. linei*. Наконец, она провела всесторонний анализ генов *I. linei*, экспрессирующихся исключительно на стадии плазмодия. Для решения поставленных задач Е. Скалон использовала чрезвычайно широкий спектр современных подходов и методик - классическую гистологию и световую микроскопию, иммуногистохимию и конфокальную

микроскопию высокого разрешения, серийную электронную микроскопию, секвенирование транскриптома и дифференциальный анализ экспрессии генов. Все применяемые методы подходят для решения задач, сформулированных Е. Скалон, адаптированы к уникальным особенностям ее модельной системы и тщательно апробированы.

### **Новизна исследования**

Елизавета Скалон вносит существенный вклад в понимание биологии *Orthonectida*, представляя несколько ключевых уникальных наблюдений. Согласно господствовавшей ранее точке зрения, плазмодий *Orthonectid* формируется клетками хозяина в ответ на присутствие единичных клеток паразита. Е. Скалон приводит убедительные доказательства того, что ортонектидный плазмодий на самом деле является настоящим многоядерным организмом, состоящим из клеток паразита, который внедряется в ткани хозяина и развивается во внеклеточном матриксе. Этот вклад работы Е. Скалон чрезвычайно ценен и может поставить точку в многолетних дебатах о происхождении плазмодия, по крайней мере, в случае с *I. linei* / *L. ruber*.

Вторым важным вкладом Е. Скалон является идентификация ортонектидных генов и аннотация соответствующих белков, которые экспрессируются исключительно на стадии плазмодия. Среди них есть эффекторы, которые имеют решающее значение для выживания плазмодия в организме хозяина. Эти уникальные результаты дают первое представление о молекулярных механизмах взаимодействия хозяина и паразита в системе *I. linei* / *L. ruber*. В сочетании с уникальными наблюдениями с помощью электронной микроскопии (например, близость отростков плазмодия к нервному стволу хозяина) они позволяют по-новому взглянуть на механизмы взаимодействия плазмодия с хозяином на клеточном и молекулярном уровне, что вносит вклад в расширение знаний о паразитизме.

Наконец, работа Е. Скалон также открывает перспективы для будущих исследований и методологических разработок, таких как создание культуры *Orthonectida in vitro* и функционально-генетические подходы. В целом, работа, представленная Елизаветой Скалон, актуальна, затрагивает актуальные вопросы с использованием самых современных подходов и устраняет важные пробелы в нашем понимании этой уникальной группы паразитов.

### **Характеристика результатов и анализ выводов**

Диссертация Е. Скалон превосходно написана. Методы, использованные Е. Скалон, безусловно подходят для решения ее задач исследования. Логика повествования и

аргументация ясны, все утверждения четко подкреплены данными. Единственный недостаток работы, представленной Е. Скалон, - отсутствие статистического анализа данных, что просто невозможно при таком малом количестве повторностей. Впрочем, это вполне объяснимо, учитывая сложность получения необходимого количества материала из собранных в полевых условиях червей. В связи с этим анализ геной онтологии представляется малоинформативным, поскольку не показано «фоновое» распределение отдельных категорий GO в геноме. Обилие генов с GO-категориями «метаболизм» и «связывание» не свидетельствует об их специфическом обогащении на стадии плазмодия - они могут быть просто более обильными в геноме *I. linei* в целом.

### **Структура диссертации**

Диссертация, представленная Е. Скалон, очень лаконична и представляет собой краткий синтез ее публикаций. Она дает достаточное представление о новизне и мотивации работы, подходах и методах, личном вкладе автора и списке ее публикаций. Следует подчеркнуть, что обзор литературы краток и представляет в сжатой форме не только основные факты о биологии *Orthonectida*, но, что более важно, подчеркивает пробелы в знаниях в этой области. Материалы и методы описаны достаточно подробно, что не вызывает сомнений в воспроизводимости данных. В разделе «Результаты» представлены краткие комментарии к рисункам, а их обсуждение позволяет рассмотреть их в контексте современных литературных данных. Особо следует отметить, что в разделе «Обсуждение» Е. Скалон подчеркивает спорные мнения и дебаты в данной области и демонстрирует свой вклад в их разрешение.

Особой похвалы заслуживают иллюстрации как в диссертации, так и в публикациях Е. Скалон. Не только микроскопические снимки идеально четкие, без артефактов и четко аннотированные. Концептуальные схемы (например, Рис. 16-18 в диссертации) обобщают наблюдения и представляют их в полном объеме. Гармоничная цветовая палитра помогает сразу понять содержание.

Выводы, приведенные в конце диссертации, подкреплены данными и полностью соответствуют цели и задачам работы.

### **Возможность практического применения результатов**

Представленная Е. Скалон работа имеет несомненное фундаментальное значение - она затрагивает вопросы эволюционной биологии и паразитологии. Однако в ней также содержатся наблюдения, которые могут иметь практическое применение в будущем. В частности, они могут быть информативны для морской экологии и аквакультуры. Например, понимание молекулярных механизмов, задействованных во взаимодействии

ортонектид и их хозяев, может привести к открытию потенциальных новых мишеней для антипаразитарных препаратов и разработке новых подходов для нужд аквакультуры. Кроме того, понимание биологии плазмодия, в частности его метаболических потребностей, может открыть путь к установке полных жизненных циклов ортонектид в лабораторных условиях, что является актуальной задачей и необходимым практическим шагом для развития паразитологии.

### **Личный вклад автора**

Представленная диссертация и три публикации производят целостное впечатление о значительном вкладе Е. Скалон. Автор корректно ссылается на наблюдения других исследователей и своих коллег и четко отделяет свои собственные наблюдения. Очевидно, что Е. Скалон принимала активное участие не только в проведении экспериментов и сборе данных, но и в разработке концепции исследования, интерпретации данных, подготовке иллюстраций и написании текста, что также четко раскрыто в диссертации и статьях. В обеих экспериментальных работах (*Journal of Morphology* 2023 и *Journal of Experimental Zoology* 2024) Е. Скалон по праву принадлежит первое авторство.

### **Критические замечания и вопросы для обсуждения**

Работа Е. Скалон представляет собой целостную, хорошо спланированную, четко выполненную и грамотно представленную диссертацию. Данные тщательно представлены и критически обсуждены. В продолжение этой дискуссии, хотелось бы узнать мнение соискателя по двум вопросам:

Во всей диссертации Е. Скалон уникальные особенности *Orthonectida* рассматриваются как упрощения, редукции, и потери. Это позволяет предположить, что предковая форма *Orthonectida* должна была иметь более сложное строение тела, более сложный жизненный цикл, более крупный и богатый генами геном и т.д. Однако особенности биологии *Orthonectida* можно рассматривать, наоборот, как усложнения, крайние адаптации к паразитическому образу жизни, инновации. Я бы рекомендовал автору попытаться интерпретировать свои данные с этой точки зрения. В частности, было бы интересно узнать: Есть ли в геноме *I. linei* признаки геномных инноваций, которые можно связать с приобретением стадии плазмодия, высокой специфичностью к определенному хозяину и с манипулированием физиологией и поведением хозяина?

Большая часть экспериментов, представленных Е. Скалон, особенно по изучению стадии плазмодия, была проведена на модели *I. linei*. Этот вид является ближайшим родственником *Intoshia variabili* - очень своеобразного представителя *Orthonectida*,

известного своим исключительно малым размером. В какой степени наблюдения, сделанные Е. Скалон, можно обобщить, экстраполировать на другие виды ортонектид? Хотелось бы услышать ответ соискателя на эти вопросы.


### Заключение

Учитывая вышеизложенное, я прихожу к выводу, что: Содержание диссертации Скалон Елизаветы Кирилловны на тему: «МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ И МОРФОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ПРИРОДЫ ПЛАЗМОДИЯ ОРТОНЕКТИД (ORTHONECTIDA)» соответствует специальности 1.5.17. Паразитология. Диссертация Е. Скалон на тему «МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ И МОРФОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ПРИРОДЫ ПЛАЗМОДИЯ ОРТОНЕКТИД (ORTHONECTIDA)» является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение научной задачи, имеющей значение для развития соответствующей отрасли знаний (паразитологии и эволюционной биологии), а также включает ряд наблюдений, имеющих явный потенциал практического применения в аквакультуре и научных исследованиях. 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. Соискатель, Скалон Елизавета Александровна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата наук по научной дисциплине 1.5.17. Паразитология. Нарушений пунктов 9, 11 Порядка присуждения Санкт-Петербургским государственным университетом ученой степени кандидата наук соискателем ученой степени мною не установлено.

Член диссертационной комиссии  
Кандидат биологических наук, хабилитированный доктор, приват-доцент  
Климович Александр Владимирович  
Старший научный сотрудник  
Зоологического института  
Университета Христиана-Альбрехта г. Килия  
08 сентября 2024 г.

  
**Zoologisches Institut  
der Universität Kiel  
- Zell- und Entwicklungsbiologie -  
Am Botanischen Garten 1-9  
24118 Kiel**

Подпись заверена  
Секретарем Зоологического института  
Карлой Хольтерхоф



05 сентября 2024 г.