

«УТВЕРЖДАЮ»
Директор Федерального государственного
бюджетного учреждения науки Институт
биологических проблем Севера
Дальневосточного отделения Российской
академии наук
д.б.н. О. А. Радченко

«___» _____ 2022 г.

ОТЗЫВ

ведущей организации Федерального государственного бюджетного учреждения науки
Институт биологических проблем Севера ДВО РАН
о теоретической и практической значимости диссертационной работы
Вайнутиса Константина Сергеевича
«Морфология, систематика и филогения палеарктических
Allocreadiidae (Trematoda: Plagiorchiida)»,
представленной к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по
специальности 1.5.12 – зоология

История развития молекулярных исследований в паразитологии, как и в любой другой биологической науке, связана с появлением и развитием тех или иных методов. Среди них можно выделить три основные группы, которые автор настоящего отзыва условно обозначил бы как форетические, молекулярно-генетические и, наиболее современные, протеомные. Все три направления, использующие эти методы, актуальны и дают ответы на самые разные вопросы, возникающие по мере развития науки. Однако использование разных методов чревато проблемами, нередко возникающими при сопоставлении и «стыковке» результатов их использования. Классическим примером таких проблем является пробел, долгое время существовавший между результатами свето- и электронно-микроскопических исследований и ныне успешно преодоленный. Обсуждаемая работа является, в сущности, синтезом классических морфологических и современных молекулярно-генетических методов, направленных на решение чрезвычайно запутанных вопросов систематики весьма обширного семейства трематод и реконструкцию филогенетических связей составляющих его родов. Удалось ли автору диссертации преодолеть возможные пробелы между результатами исследований, основанных на столь различающихся методах, а также между результатами собственных

молекулярно-генетических исследований и морфологическими данными других авторов и решить поставленные задачи?

Диссертация построена по классическому принципу и состоит из введения, четырех глав, выводов, списка литературы и завершается семью приложениями. Предваряет изложение список сокращений, используемых в тексте, что, несомненно, является плюсом в отличие от других примеров, в которых эти сведения часто помещаются в конце работы. Введение включает характеристику актуальности исследований: краткое знакомство с количественным составом изучаемого семейства, значения его представителей в деятельности человека, изученности его видового состава, а также формулирует цель и задачи работы, ее новизну и значимость, основные защищаемые положения и сведения об апробации и структуре работы. Следует подчеркнуть, что все четыре основных положения касаются систематики и эволюции групп исследуемых трематод ранга рода.

Первая глава традиционно посвящена обзору литературы. В первом разделе анализируются известные сведения о жизненном цикле представителей семейства, и отмечается, что наилучшим образом в этом отношении изучены черви из трех родов (*Allocreadium*, *Crepidostomum* и *Bunodera*). По прочтении раздела становится ясно, что некоторые виды этих трематод не отличаются строгой специфичностью к первым промежуточным хозяевам, как, впрочем, и ко вторым. В то же время автор отмечает наличие «определённой специфичности в отношении окончательного хозяина», хотя, например, для рода *Crepidostomum* указывает довольно широкий круг видов рыб в качестве окончательных хозяев, а для некоторых видов аллокреадиид из других родов даже амфибий и, как указано в автореферате, млекопитающих (летучих мышей). Некоторая путаница при знакомстве с разделом вызвана, очевидно, огромным количеством привлеченного материала и расположением его в виде текстового абзаца; возможно представление его в виде таблицы воспринималось бы легче.

Второй раздел литературного обзора знакомит с состоянием изученности семейства. Автор вполне обоснованно подразделяет историю изучения или, по его выражению, разработку систематики, этих трематод на три временных отрезка: начало 20-го века, вторую половину 20-го века и молекулярно-генетические работы начала 21-го века. Показано, что некий сумбур в систематике аллокреадиид, наблюдавшийся в течение первых двух периодов, и «колебания» их ранга от подсемейства до подотряда прекратились после введения в практику молекулярно-генетических методов, явившихся, по меткому выражению автора «...превосходным инструментом для выполнения филогенетического анализа и уточнения таксономического статуса паразитов...».

Скруплезный анализ имеющихся обширных литературных сведений привел автора к выводу о наличии в составе семейства около 220 номинальных видов.

В третьем разделе обзора литературы перечисляются таксономические проблемы в классификации семейства. Подчеркивается наличие проблем при таксономической характеристике трематод на основании морфологии vs молекулярных данных (еще один пример трудностей, возникающих при «стыковке» результатов исследований с использованием разных методов). В разделе автор подробно анализирует варианты таксономии аллокреаидид, предложенные разными авторами, и фактически приходит к выводу, хотя и не озвучивает его, что в комплексе методов, используемых в таксономических разработках, первостепенное значение имеют молекулярные сведения при обязательном сохранении значения других (морфологических, кариологических, биологических и т.д.).

Во второй главе, тоже традиционно, характеризуются материалы и методы, использованные в диссертационной работе. Основу исследований (первый раздел второй главы) составили собственные сборы автора (287 экз.) из разных районов Дальнего Востока, коллекции трематод (103 экз.) из разных регионов России, а также коллекции зарубежных коллег, собранные в Северной Америке и Японии. Описание материала сведено в таблицы по каждому роду трематод с указанием региона сборов, водоема, хозяина, выборки для каждого вида. Такой скруплезный подход к изложению материала исследований можно только приветствовать, поскольку он позволяет в достаточно лаконичной форме детально охарактеризовать каждый исследованный вид и облегчает восприятие текста.

Второй раздел главы посвящен методам морфологического анализа. Описаны процедура препарирования трематод для световой микроскопии, собственно светомикроскопические исследования, а в качестве дополнительного метода указывается сканирующая электронная микроскопия. Завершает главу описание молекулярно-генетического анализа. Подробно описаны процесс выделения тотальной ДНК, условия ПЦР и амплификации генов *cox1* мтДНК и 28S рРНК, реакция секвенирования, метод расчета генетических дистанций и собственно филогенетический анализ.

Наибольший объем диссертации занимают результаты авторских исследований, изложенные в третьей главе и оформленные в виде морфологического и молекулярно-генетического анализа родов изучаемого семейства. Главу предваряет общая характеристика семейства, включающая описание морфологии и морфологических отличий от других трематод, а также численный состав с указанием шести валидных родов и двадцати валидных видов из почти девяноста номинативных. Морфологический

фрагмент проиллюстрирован понятным (без излишней детализации) рисунком с указанием размерных линеек. Далее следуют очерки по каждому роду семейства, построенные по единой схеме: общая характеристика (автор эту часть не озаглавливает), морфологические характеристики и молекулярные данные. Общая характеристика или замечания, по сути, представляют собой историю изучения рода, состав рода и распространение. Морфологические характеристики включают описание материала, диагноз рода, описание типового вида и дифференциальный диагноз при наличии других форм и сопровождаются рисунками и свето-микроскопическими (в одном случае) или электронно-микроскопическими (сканирующая микроскопия) (в трех случаях) фотографиями. Своеобразным заключением характеристики рода являются молекулярные данные, позволяющие уточнить состав рода, определить необходимость дальнейших исследований и на основании гена 28S рРНК сформулировать гипотезу о возможных филогенетических связях внутри рода и семейства, проиллюстрированную графическим изображением филогенетических древ. Оригинально выглядит филогенетическое древо рода *Bunodera* на стр. 61 (рис. 10), ряд видовых ветвей которого «привязаны» к изображению того или иного хозяина – опыт, позволяющий наглядно представить фауну паразитов в совокупности с фауной хозяев. Заключают главу дополнительные замечания о существовании в фауне Неоарктики и Неотропиков еще одиннадцати номинальных родов, из которых два пока не получили молекулярно-генетического подтверждения.

Четвертая глава обобщает результаты собственных исследований и анализа данных литературы о таксономии аллокреадиид, филогенетических связях внутри семейства, а также рассматривает гипотезы о формировании фауны этих трематод в Азии. Приводится список родов и видов семейства в соответствии с тем или иным биогеографическим регионом с указанием валидных таксонов. Полученные результаты в совокупности с анализом весьма обширной литературы позволили составить определительную таблицу аллокреадиид с ключами для каждого рода. Филогенетический анализ, завершающий главу, позволил сформулировать гипотезу о центре происхождения аллокреадиид на территории современного Индокитая и путях их экспансии в течение последних полутора столетий миллионов лет в разные геологические эпохи, проиллюстрированную реконструкцией изменения очертаний материков на протяжении этого периода. Основанием для гипотезы послужили реконструкция филогенетических связей внутри семейства, анализ гипотез о становлении фауны хозяев в разных регионах планеты, учет палеонтологических данных. По мнению диссертанта, первостепенную роль в этих процессах сыграл переходный характер Амурской биогеографической области.

Текстовая часть диссертации завершается изложением шести выводов, охватывающих все основные итоги диссертационного исследования, и списком использованной литературы, включающим 240 источников. Отметим, что этот список более чем в два раза превышает количество источников, используемых в средней по этому признаку диссертационной работе.

К сожалению, как и любая большая работа, представленная диссертация не лишена досадных неточностей. На стр. 33 читаем: «Кроме того, от других трематод аллокреадииды отличаются характерными выростами кутикулы на переднем конце тела или сосочками...». Если рецензенту не изменяет память, то уже более полувека известно, что у плоских червей, как, впрочем, и у скребней, кутикулы нет ни на какой стадии развития. У этих животных тело покрыто уникальной покровной тканью, называемой тегументом и не синтезирующей никаких кутикулярных образований (см. Rothman, 1959; Lumsden, 1975; Краснощеков, 1979 и множество других источников).

На стр. 74 приведены три фотографии трематоды *Allocreadium hemibarbi* (рис. 14), выполненные в сканирующем электронном микроскопе (СЭМ). Фотографии невысокого качества, что, вероятно, вызвано некачественным препарированием. Оценить ход препарирования невозможно, поскольку методика препарирования для СЭМ в разделе «Материалы и методы» отсутствует. Столь же неприглядно смотрятся фотографии *Allocreadium* sp. 2 на стр. 82. В то же время, сканы *Allocreadium khankaiensis* на стр. 77 выглядят намного лучше. Различия в методике подготовки электронно-микроскопических препаратов хорошо видны на рисунках 3 и 4 в автореферате. Отметим, что необходимость исследований с применением сканирующей электронной микроскопии не представляется очевидной. Возможно, более уместным было бы включение высококачественных светомикроскопических фотографий, как это было представлено, к сожалению, только на двух рисунках: 3 и 9.

На рис. 1 изображены семь фрагментов карты России с указанием, как гласит подпись, мест сбора паразитологического материала. Однако в действительности места сбора указаны только на двух фрагментах из семи.

Во второй главе на стр. 23 и 24 местом сбора *Bunodera vytautasi* указана река Чёрная, хотя на самом деле материал был собран от рыб из Чёрного озера. В описании вида на стр. 55 место сбора указано правильно.

В списке сокращений указана позиция «LSU – large subunit, большая субъединица рРНК», однако в тексте эта аббревиатура отсутствует.

На стр. 122 фраза «Впоследствии на территории, где позднее сформировался Палеоамур, как зоны перекрывания ареалов тихоокеанских осетровых и лососёвых рыб...» явно нарушает нормы русского языка.

На стр. 116 название ключа «Ключ для определения видов рода *Crepidostomum* Braun, 1900 (рис. 25)» отсылает к рисунку, иллюстрирующему экспансию семейства – смысл этой отсылки не понятен.

В оглавлении есть раздел «выводы», а в тексте он уже именуется как «результаты и выводы».

На стр. 127 фрагмент фразы из первого абзаца «...длину пищевода и положение развилка кишечника;...» не отредактирован. Обычно это место авторы называют «бифуркацией».

Страницы разделов 2.3, 2.3.1, 3.1, 3.1.1, 3.1.2, 3.2.2, 3.3, 3.3.1, 4.3, выводов, списка литературы и всех приложений, показанные в оглавлении, не соответствуют таковым в тексте.

Неточности обнаружены и в автореферате. На стр. 24 в последней строчке опечатка. В подписях к рисункам 1 и 2 в автореферате не указаны источники, хотя в самой диссертации в подписях к аналогичным рисункам 1 и 9 источники указаны.

Отмеченные неточности, очевидно, вызваны некоторой поспешностью в оформлении и редактировании работы и, разумеется, легко устранимы. На содержание и научную значимость результатов исследований они не влияют.

Достоверность и научная значимость полученных данных, а также их новизна не вызывают сомнений. Отдельно нужно отметить обнаружение, описание и включение в состав семейства аллокреадиид трех новых для науки видов и одного рода. Результаты диссертационной работы К.С. Вайнутиса представляют интерес для специалистов различных областей знаний (генетиков, паразитологов, рыбоводов) и могут быть использованы в научных учреждениях, занимающихся проблемами генетики и паразитологии, а также в высших учебных заведениях.

Автореферат диссертации в полной мере отражает основные результаты диссертационного исследования, написан чётко, иллюстрирован таблицами и рисунками и полностью отвечает требованиям ВАК.

Диссертационная работа Константина Сергеевича Вайнутиса является законченным научно-квалификационным исследованием в области паразитологии и генетики и имеет важное научное и практическое значение. Диссертация соответствует пп 9-11, 13, 14 Постановления Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09. 2013 г. «О

присуждения ученых степеней», а ее автор, К.С. Вайнутис, заслуживает присуждения
искомой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.12 – зоология.

Доктор биологических наук, старший научный сотрудник, главный научный сотрудник
лаборатории экологии гельминтов Федерального государственного бюджетного
учреждения науки Института биологических проблем Севера ДВО РАН,
г. Магадан, ул. Портовая, 18, тел. (4132) 63-44-63, <http://ibpn.ru/>,
адрес электронной почты nikishin@ibpn.ru

Никишин Владимир Павлович

Отзыв заслушан и утверждён на семинаре лаборатории экологии гельминтов ИБПС ДВО
РАН, протокол № 1 от 26 апреля 2022 г, результат голосования: за – 8, против – 0,
воздержались – 2.

Подпись Никишина Владимира Павловича удостоверяю:
ведущий специалист Отдела кадров ИБПС

Мусолитина Оксана Владимировна