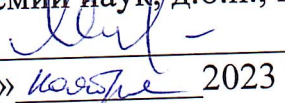


УТВЕРЖДАЮ

Директор Федерального
государственного бюджетного
учреждения науки Институт общей и
экспериментальной биологии
Сибирского Отделения Российской
академии наук, д.б.н., профессор




Л.Л. Убугунов
« 11 ноября » 2023 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

Федерального государственного бюджетного учреждения науки
Институт общей и экспериментальной биологии Сибирского Отделения
Российской академии наук

на диссертационную работу Усмановой Регины Рустамовны
на тему: «Размножение и развитие спороцист *Leucochloridium paradoxum*
Carus, 1835 (Trematoda: Leucochloridiidae)», представленную на
соискание ученой степени кандидата биологических наук по
специальности 1.5.12 – Зоология

Актуальность и научная новизна

Класс Трематоды включает в себя несколько тысяч видов паразитов. Их характеризует наличие сложного жизненного цикла, связанного со сменой хозяев и чередованием гермафродитного и партеногенетических поколений. Поскольку среди трематод имеются виды, опасные для человека и экономически важных животных, большой интерес вызывает изучение различных особенностей биологии, систематики и физиологии этих паразитов. Род трематод *Leucochloridium* известен давно и широко изучен в различных аспектах. Тем не менее, не все стороны развития и размножения партенит, а также внутривидовой изменчивости этого рода были достаточно глубоко исследованы. В связи с этим, актуальность диссертационной работы Р.Р. Усмановой, посвященной изучению особенностей размножения и развития спороцист *Leucochloridium paradoxum*, очевидна. Основное внимание автор сосредоточил на видовой идентификации и популяционно-генетической структуре паразитов *L. paradoxum* и их хозяев – моллюсков *Succinea putris*, особенностях развития и размножения трематоды в организме *S. putris* в лабораторных и природных условиях. Рецензируемая диссертация обладает новизной. Автором впервые выполнен морфологический анализ, генотипирование и изучена популяционно-генетическая структура моллюсков *S. putris*, а также *L. paradoxum*, паразитирующих в них, детально изучено размножение *L. paradoxum* в

организме *S. putris*, а также представлена схема реализации жизненного цикла трематод этого вида в условиях средних широт.

Теоретическая и практическая значимость

Полученные диссертантом результаты углубляют знания о жизненном цикле, популяционно-генетической структуре трематод, особенностях жизненного цикла в разных климатических зонах и его эволюции. Установленные морфологические и молекулярно-генетические признаки позволят облегчить в дальнейшем видовую идентификацию трематод рода *Leucochloridium* и моллюсков *S. putris*. Полученные результаты могут быть полезны для разработки методов анализа гельминтофауны птиц и профилактики их гельминтозов. Разработанная методика поддержания жизненного цикла *L. paradoxum* в лабораторных условиях может быть принята во внимание при расшифровке жизненных циклов других трематод. Результаты работы могут быть использованы в учебном процессе ВУЗов биологического и ветеринарного профиля.

Структура и содержание работы

Диссертация, в целом, построена по классической схеме, с соблюдением соответствующих требований и соответствует логике поставленной цели и сформулированным задачам. Диссертация состоит из введения, трех глав, заключения, выводов и списка литературы. Список литературы включает 176 наименований, из которых 121 – иностранных. Диссертация изложена на 107 страницах, содержит 11 таблиц и 36 рисунков.

Во введении обоснована актуальность темы, изложена основная гипотеза диссертационного исследования, сформулированы цель и задачи исследования, обоснованы научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы, представлены положения, выносимые на защиту и степень достоверности результатов.

В главе 1 «Обзор литературы» дается основная информация об истории исследований трематод рода *Leucochloridium*. Представлены сведения о жизненном цикле и промежуточных хозяевах видов рода *Leucochloridium*. Дано описание систематики и молекулярно-генетических исследований рода *Leucochloridium*.

В главе 2 «Материалы и методы» дана подробная характеристика объектов исследования, а также применявшихся методик. В качестве основных объектов исследования были взяты спороцисты трематоды *L. paradoxum*, а также хозяева этого вида трематод – моллюски *Succinea putris* (янтарки). Для решения поставленных задач были использованы следующие методы: морфологический анализ, анатомирование, световая микроскопия, сканирующая электронная микроскопия, гистологические, оценка экстенсивности инвазии, экспериментального заражения, копроовоскопический анализ, молекулярно-генетические.

Глава 3 посвящена описанию собственных результатов и сравнению собственных результатов с уже известными данными. Проведена видовая идентификация моллюсков на основании морфологических признаков. Установлено, что все исследованные моллюски относятся к одному виду

Succinea putris. Параллельно проведено молекулярно-генетическое исследование моллюсков. По результатам анализа полученных нуклеотидных последовательностей, а также взятых из базы данных GenBank были идентифицированы гаплотипы внутри вида *S. putris*, построены сети гаплотипов.

Проведена видовая идентификация спороцист трематод на основании морфологических признаков. Проведен анализ генетического полиморфизма спороцист трематод по фрагменту митохондриального гена *cox1*, построены сети гаплотипов.

Изучено развитие спороцист *L. paradoxum* в экспериментально зараженных моллюсках *S. putris*. Описаны размерные характеристики и гистоморфология спороцист через 7, 14, 22, 55, 72 и 95 дней после заражения. Произведено описание особенностей размножения спороцист *L. paradoxum* в экспериментально зараженных моллюсках *Succinea putris* используя временные точки 55, 72 и 95 дней после заражения. Описана гистоморфология спороцист, содержащихся в них герминальных масс и метацеркарий на разных стадиях развития.

Исследовано развитие спороцист *L. paradoxum* в моллюсках *S. putris* в природных условиях. Описана гистоморфология спороцист на следующих стадиях развития: ювенильной, зрелой спороцисты и дегенерирующих спороцист.

Проведен анализ сезонной зараженности моллюсков *S. putris* трематодами рода *Leucochloridium*. Определена экстенсивность инвазии спороцистами *L. paradoxum* и *L. perturbatum* на стадии зрелости и ювенильной спороцисты моллюсков *S. putris* в разные месяцы года. Проанализировано соотношение спороцист *L. paradoxum* на стадиях зрелости и дегенерации в зависимости от времени сбора. Проведен анализ распределения спороцист *L. paradoxum* на стадии зрелости и дегенерации с разным количеством окрашенных отростков в зависимости от времени сбора.

Каждый раздел главы начинается с описания собственных результатов и сопровождается обсуждением полученных результатов.

В разделе «Заключение» Р.Р. Усманова обобщает полученные данные.

Диссертационная работа заканчивается перечислением выводов, формулировки которых вытекают из поставленных задач и содержания работы.

Достоверность основных положений и выводов диссертационного исследования обеспечивается большим объемом полученных данных. Результаты базируются на четко поставленных задачах, подборе оптимальных методов их решения, корректно поставленных экспериментах и анализе полученных данных. Поэтому достоверность основных положений и выводов, соответствующих цели, задачам, не вызывает сомнения. Достоинством работы является применение комплексного подхода к исследованию паразито-хозяйинной системы «*L. paradoxum* - *S. putris*» с применением как современных методов молекулярной генетики и конфокальной микроскопии, так и классических методов анатомирования,

гистологии, сканирующей электронной микроскопии, экологической паразитологии в сочетании с постановкой экспериментального заражения.

Автореферат в полной мере отражает основное содержание диссертации. Материалы исследования были представлены и обсуждены на конференциях различного уровня. По теме диссертации опубликовано 4 статьи в изданиях из перечня рецензируемых научных журналов ВАК при Минобрнауки России; в 2 статьях Р.Р. Усманова является первым автором. В публикациях в достаточной мере изложены основные результаты и положения диссертационного исследования.

Замечания по работе

По диссертационной работе имеется ряд замечаний и вопросов:

1) По объему раздел «Развитие и размножение спороцист *L. paradoxum*» занимает 56% Главы «Результаты и обсуждение». Остальной объем информации посвящен морфологической идентификации и популяционно-генетической структуре *Succinea putris* и *Leucochloridium paradoxum*. В связи с этим, целесообразно было бы расширить название диссертации. Кроме того, исследование популяционно-генетической структуры *S. putris* и *L. paradoxum* обладает существенной актуальностью и новизной. И на этом Р.Р. Усмановой также нужно было акцентировать внимание в диссертации, что привело бы к усилению работы в целом.

2) Отсутствует описание доли вклада автора. Например, из табл. 2 следует, что материал по моллюскам был отобран диссертантом только в одной из 6 точек сбора, из табл. 3 видно, что материал по спороцистам был отобран диссертантом в 24 точках сбора из 30. При изучении спороцист *L. paradoxum* с использованием конфокальной микроскопии «фотографии предоставлены Токмаковой А. С.». Рисунок 14 принадлежит Богачевой Т. А.

3) В разделе Материалы и методы отсутствует описание представления числовых данных. Остается непонятным: значения типа « $a \pm b$ » - это «среднее значение \pm стандартная ошибка» или «среднее значение \pm стандартное отклонение». При анализе части числовых данных не использованы статистические методы, что не позволяет оценить достоверность различий/сходства количественных показателей между разными группами. Так, в разделе III.3.1 результаты морфометрические данные представлены в формате «среднее значение \pm стандартная ошибка (либо стандартное отклонение)», приводится число повторностей (n). В разделе же III.3.2 числовые данные в тексте и на графиках приводятся просто в виде чисел, без указания стандартной ошибки/стандартного отклонения, не везде указано количество повторностей.

4) Содержание подраздела «Видовая идентификация моллюсков *S. putris* с использованием митохондриальных маркеров» больше соответствует понятию «популяционно-генетическая структура вида». Для более убедительного доказательства идентификации вида правильно было бы построить филогенетическое дерево, на котором показано, что все исследованные образцы кластеризуются в одни клады с образцами, достоверно определенными как *S. putris*, а также достоверно удалены от клад,

содержащих образцы других видов рода *Succinea*. Интересно, что для идентификации вида *L. paradoxum* диссертант использовал филогенетическую реконструкцию.

5) Рисунок 27 необходимо было сопроводить подробными условными обозначениями, поскольку данное описание развития метацеркарий впервые приводится для вида *L. paradoxum*. Описанные в тексте на стр. 68 «ротовая и брюшная присоска, глотка, ветви кишечника, а также зачаток половой системы» никак не обозначены на рисунке.

6) Как следует из таблицы 11, по данным диссертационного исследования, экстенсивность инвазии моллюсков *S. putris* трематодами рода *Leucochloridium* выше, чем в подобных предыдущих исследованиях. Чем это можно объяснить?

7) На взгляд диссертанта, какие особенности позволили роду *Leucochloridium* распространиться по всему миру?

8) Присутствует некоторая небрежность в оформлении, некорректная формулировка. Небрежность в оформлении подписей к рисункам 4, 26, 29, 33 и таблице 10: выходят на другую страницу. Можно было или уменьшить сами рисунки/таблицу или написать на другой странице – продолжение рисунка. На рисунке 22А местоположение спороцисты никак не обозначено. Предложение «Нами было выявлено, что экстенсивность инвазии в целом сохраняется на одном уровне меняется в течение тёплого сезона» неясно и содержит противоположные формулировки.

9) В тексте диссертации имеются пунктуационные, орфографические ошибки, опечатки, пропущены слова, причем иногда по несколько ошибок на одной странице. В частности, на страницах: 19, 22, 24, 28, 29, 36, 49, 50, 53, 56, 58, 61, 67, 70, 72, 74, 75, 76, 77, 79, 83, 85, 86, 87, 89, 90, 91

Однако указанные замечания не имеют принципиального характера, носят дискуссионный характер и не снижают качества и высокой научной значимости рассматриваемого диссертационного исследования.

Заключение

Диссертационная работа Усмановой Регины Рустамовны «Размножение и развитие спороцист *Leucochloridium paradoxum* Carus, 1835 (Trematoda: Leucochloridiidae)» является законченной научно-квалификационной работой. Содержание диссертации соответствует специальности 1.5.12 – Зоология. По актуальности, научной новизне, методическому уровню, объему исследований, теоретическому и практическому значению, объему и уровню публикаций работа соответствует п. 9-11, 13, 14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, а ее автор - Усманова Регина Рустамовна, заслуживает присвоения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.12 – Зоология.

Отзыв ведущей организации подготовлен И.А. Кутыревым, доктором биологических наук, ведущим научным сотрудником лаборатории паразитологии и экологии гидробионтов ИОЭБ СО РАН, рассмотрен и утвержден на заседании лаборатории паразитологии и экологии гидробионтов ИОЭБ СО РАН, протокол № 1 от 03 ноября 2023 г.

«03» ноября 2023 г.

Кутырев Иван Александрович
Доктор биологических наук по специальности 03.02.11 – паразитология, ведущий научный сотрудник лаборатории паразитологии и экологии гидробионтов <http://igeb.ru/component/k2/item/159-kutyrev-ivan-aleksandrovich>
e-mail: ikutyrev@yandex.ru

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт общей и экспериментальной биологии Сибирского Отделения Российской академии наук <http://igeb.ru>
670047 г. Улан-Удэ, ул. Сахьяновой, д. 6.
Тел.: +7 3012 434211, факс: +7 3012 433034.
e-mail: ioeb@biol.bscnet.ru

Отзыв Кутырева И.А. заверен.
Ведущий специалист по кадрам
Осипова Д.А. *[подпись]*

