

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию Никитенко Екатерины Дмитриевны на тему «Тонкая морфология, развитие и регенерация спикульного комплекса *Onchidoris muricata* (Doridina, Nudibranchia, Mollusca)», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.12 Зоология

Голожаберный моллюски – большая и эстетически привлекательная группа гастропод, интерес к которой очень велик. В последнее десятилетие в России произошла настоящая «нудибранхологическая революция» в плане исследований этой группы, которая вылилась в большое число публикаций и несколько блестящих диссертаций. И, тем не менее, даже в такой, казалось бы, изученной группе есть свои «белые пятна». К числу таких почти не освещенных тем относятся спикулы голожаберных моллюсков. Казалось бы, визуально хорошо наблюдаемые у доридных нудибранхий спикулы должны были стать объектом если не всесторонних исследований, то хотя бы постоянным компонентом описания новых видов, как это принято у аплакофор. Однако реальность совершенно иная: в подавляющем большинстве описаний дорид о спикулах нет никакой информации. Работ, в которых рассматривается внешняя морфология спикул, ничтожно мало, а попыток использовать эти структуры в систематике дорид практически не предпринималось. О том, насколько спикулогенез голожаберников отличается от такового у других моллюсков и вообще беспозвоночных, ничего неизвестно. Даже химический состав спикул дорид не изучен – известно лишь то, что его основу составляет карбонат кальция. Поэтому актуальность работы Е.Д. Никитенко более чем очевидна.

Во «Введении» автор обосновывает актуальность исследований, особо подчеркивая, что только комплексный подход позволит решить проблемы, связанные с пониманием спикулогенеза Nudibranchia. Автор излагает цель и

задачи исследований, а также научную новизну и практическое значение работы. Новизна в работе практически во всем, поскольку тема совершенно не освоенная. Автор обосновывает то, что полученные данные не носят частного характера и не касаются только одного вида, а могут быть экстраполированы на других дорид и даже гетеробранхий. Полученные результаты могут найти практическое применение в материаловедении, медицине и биотехнологии. Апробация работы проведена на достаточно высоком уровне. Публикации (6 статьи в рецензируемых научных журналах, индексируемых в международных базах данных Scopus и Web of Science) отражают основное содержание работы. Работа изложена на 182 стр. текста, содержит 160 источников цитируемой литературы; Приложение составляет большую часть диссертации и в нем содержатся все таблицы и иллюстрации. Автореферат отражает текст диссертации. Положения, выносимые на защиту, последовательно раскрываются в диссертации. Замечания к этой части следующие.

«Внешняя морфология спикул известна лишь для 20 видов дорид» - нет ссылок (в обзоре литературе также нет).

«Гистология спикул» (в задачах) – неудачная фраза.

Автор пишет о возможной гомологии субэпидермальных внутриклеточных спикул в близких (видимо, к голожаберникам) группах брюхоногих безраковинных моллюсков – Acochlidiiomorpha и Rhodopemorpha. Они совсем не близкие, акохлидииды относятся к панпулмонатам, а родопиды – к базальным гетеробранхиям. А между ними большое число групп, у представителей которых нет спикул. Едва ли здесь уместно говорить гомологии, хотя спикулогенез может иметь сходные черты.

Положения, выносимые на защиту: их всего три, и они говорят скорее не об уникальности спикулогенеза дорид, а о том, что он мало отличается от такового у других трохофорных животных. Отмечу, что Выводы в диссертации значительно шире Положений и в них больше уникальности. Вообще автор в разных частях работы то склоняется в сторону уникальности спикулогенеза

нудибранхий, то говорит о его универсальности. Вероятно, это связано со скудностью данных по другим гастроподам, что делает невозможным полноценное сравнение.

Обзор литературы посвящен разным аспектам спикүлогенеза и строению спикүл, и не только у моллюсков. Обзор освещает практически всю литературу по гетеробранхиям, но у меня есть ряд замечаний, относящихся к другим группам. В работе нигде не дано внятного определения спикүлам, кроме как *скелетным минеральным элементам*. А вопрос отнюдь не праздный, поскольку в работе не учтено значительное число минеральных игловидных элементов у беспозвоночных. Например, стилеты вооруженных немертин: по всем признакам - спикүлы, и они закладываются внутриклеточно, то есть внутриклеточная закладка спикүл у голожаберных не является уникальной среди Bilateria. Более того, стилеты немертин состоят из фосфата кальция, что уникально для беспозвоночных. А «любовные стрелы» у пульмонат - спикүлы? А скелетные иглы радиолярий-полицистин, феодарий и акантарий? Они называются спикүлами. Автор пишет, что спикүлы широко встречаются «...среди одноклеточных и многоклеточных, как беспозвоночных, так и позвоночных животных». Но в табл. 1.1. нет позвоночных (асцидии – хордовые, но не позвоночные!). В таблице отсутствуют феодарии, акантарии и радиолярии-колодарии (есть виды со скелетом из разрозненных спикүл, причем химический состав спикүл изучен), нет ацеломорф (род *Sagittifera*), брахиопод (см. Seidel & Lüter, 2014) и мшанок (сем. Thalamoporellidae). В тексте упоминаются спикүлы Bivalvia, но в таблице их нет.

Для немертин в этой таблице указаны спикүлы из карбоната кальция, образование и локализация которых неизвестны. На самом деле спикүлы *Zygonemertes*, по-видимому, не содержат кальция (не растворяются в ЭДТА) и закладываются внутриклеточно (Stricker, Cavey, 1988). Автор пишет: «По химическому составу спикүлы можно разделить на кремнеземные и кальциевые». Если учитывать спикүлы акантарий – еще и стронциевые. Функций спикүл больше, чем перечислено в диссертации. У бескишечной

турбеллярии *Sagittifera sagitifera* часть кожных спикул участвует в процессе копуляции, у вооруженных немертин стилеты используются для охоты на других беспозвоночных.

В разделе «Особенности локализации спикул в теле Nudibranchia» упоминается *Berthella californica*, хотя это не голожаберный моллюск, а плевробранхида (группа, сестринская к Nudibranchia). И жаль, что диссертант не пишет об этом, поскольку наличие спикул у плевробранхид позволяет говорить, что предки голожаберных моллюсков имели спикулы, но у кладобранхий они исчезли. Вообще тема сколько раз возникли спикулы у гетеробранхий никак не освещена в диссертации, а они явно возникали *de nova* и не являются остатками раковины, поскольку у плевробранхид есть и раковина, и спикулы.

«Материал и методы исследования» - большая глава, часть которой вынесена в Приложение. В ней изложены все используемые в работе методы, а их достаточно много. Единственное, что здесь нет – как происходил сбор самых ранних стадий онхидорисов. В Результатах диссертант пишет о «всех стадиях онтогенеза», и из текста непонятно, то ли он содержал моллюсков в аквариуме и получал от них потомство, то ли собирал разные стадии с субстрата. И лишь в публикации диссертанта методика сбора всех стадий описана подробно.

«Результаты» - самая важная и большая глава в диссертации с большим числом подглав и разделов. Главная трудность в чтении этой главы в том, что все иллюстрации (включая схемы) и таблицы вынесены в Приложение. Невольно думаешь о потраченном времени, перескакивая с одной части диссертации на другую. (Всем будущим диссертантам, которые слушают мой отзыв, настоятельно не рекомендую использовать такой подход).

Первая часть главы «Результаты» посвящена нормальной морфологии тела *O. muricata*, вторая – онтогенетическим преобразованиям спикул, третья – процессу регенерации и спикулогенезу. Большое внимание уделено различным особенностям строения спикульного комплекса, при этом автор делает акцент на его онтогенетическое преобразование. Надо отдать должное, что в работе

практически все описания ведутся в сравнении разных стадий онтогенеза. Но при этом автор сравнивает и спикулы разных участков тела. Интересным оказалось то, что спикулы ринофоров существенно тоньше остальных спикул тела, что не было ранее известно. Далее автор выяснил, что именно в ринофорах и нигде более возможно восстановление спикульного комплекса при регенерации. Не менее интересным и неожиданным стало открытие автором гетерогенности спикул по их внутреннему строению: выявлено 6 типов «упаковки» внутреннего материала, и это вскрывает еще большую сложность спикульного комплекса голожаберных моллюсков. Исследование преобразования склероцитов на разных стадиях развития, а также особенностей регенерации на ультратонком уровне позволило выявить вероятных предшественников склероцитов – Икс клетки.

Замечания к этой главе следующие.

«Преобладающим типом спикул в теле является четырехосный» – непонятно, насколько преобладающим (60, 80, 90%?).

«Размер спикул тела варьирует в зависимости от размеров моллюска» – какие размеры у только что появившихся спикул? Автор пишет: «Длина спикул может достигать от 50 до 300 мкм». Минимальные размеры спикул 50 мкм? Нет, 10-20 мкм. В Результатах этой информации нет – она есть только в Приложении в табл. 3.1. С размерами в Результатах вообще дела обстоят не лучшим образом: в тексте невозможно понять, какой толщины эпителий разных частей тела, описываемых в тексте. Обычными являются фразы вроде: «У особей II группы увеличивается длина спикул...» - без приведения длины. И на этом фоне вдруг сиротливо всплывает диаметр каких-то второстепенных внутриклеточных гранул.

Относительно подвижность спикульного комплекса не совсем понятно, как автор ее оценивал? Очевидно, что онхидорис имеет более ограниченную подвижность тела, чем, например, гексабранхус. Нельзя быть закованным в панцирь из спикулы и при этом совершать замысловатые изгибы тела. Очевидно, что здесь необходимо моделирование движение. Автор делает это,

описывая сокращение ринофоров, но из текста все равно непонятно, как ведут себя спиккулы центральной части. О характере подвижности спиккул ноги из текста диссертации судить вообще невозможно, а они располагаются на ее вентральной стороне, что требует объяснения с функциональной точки зрения.

В «Обсуждении» диссертант проводит анализ полученных данных. Сложность такого анализа заключается в том, что провести полноценное сравнение невозможно из-за скудности литературных данных по спиккулам гастропод. Тем не менее автор сформулировал гипотезу о единовременной закладке спиккул у дорид на ранних стадиях постличиночного развития. Кратко обсуждается открытие Икс-клеток – вероятных предшественников склероцитов. Более объемным является анализ химического состава и структуры спиккул, поскольку эти данные можно сравнить с другими группами беспозвоночных. Еще более обширна подглава, посвященная регенерации, в которой, в основном, интерпретируются данные, полученные автором. Первая часть Обсуждения выглядит недостаточно глубоко проработанной. В самом начале автор пишет: «...становится возможным обсудить гипотезы о гомологии спиккул и других твердых скелетных структур моллюсков (раковин и наружных спиккул)». Но читателя ждет разочарование – этого в Обсуждении нет. Эволюционных интерпретаций в этой главе практически нет. Автор даже не рассматривает вопрос о происхождении спиккул у голожаберных моллюсков: наследуются ли они от общих предков с плевробранхидами или появляются заново. Предложение «В теле *O. muricata* отмечены типы спиккул присущие и другим доридам – одноосные, двуосные, трехосные, четырехосные» не подкреплено никакими литературными ссылками (выше я уже отмечал, что и в Обзоре литературе таких ссылок нет). Между тем, у диссертанта есть публикация о спиккулах трех видов онхидорид, в которой показано, что у онхидориса, в отличие от адалярии и акантодориса, нет сферических спиккул. На ранних стадиях развития спиккулы в покровах онхидориса располагаются более разрозненно, чем на поздних – является ли такое состояние исходным для дорид? Ведь, и у плевробранхид, и у батидорид нет такого мощного

спикульного покрова, как у онхидорид. Обсуждая Икс-клетки, автор не дает ясного ответа, есть ли подобные клетки-предшественницы склероцитов у других беспозвоночных.

«Заключение» является квинтэссенцией диссертации с акцентом на наиболее значимые открытия.

В целом диссертационная Е.Д. Никитенко оставляет хорошее впечатление и демонстрирует комплексный подход в решении задач, многие из которых до этого были совершенно не освещенными в литературе. В работе очень много новых данных, по ряду направлений – принципиально новых. Все полученные результаты достоверны. Выводы диссертации полностью отражают содержание работы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертация отвечает всем требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В. Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует специальности 1.5.12 Зоология (по биологическим наукам), а также критериям, определенным п.п. 2.1-2.5 «Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М. В. Ломоносова». Диссертационная работа оформлена согласно требованиям «Положения о совете по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова».

Таким образом, соискатель Никитенко Екатерина Дмитриевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.12 Зоология.

Официальный оппонент:

Чернышев Алексей Викторович

Доктор биологических наук, доцент,

Главный научный сотрудник

ФГБУН Национальный научный центр морской биологии им. А.В.

Жирмунского Дальневосточного отделения Российской академии наук,
лаборатория эмбриологии

Владивосток, 690041, ул. Пальчевского 17,

Контактные данные:

Телефон:

Электронная почта:

14.02.2025

Специальность, по которой официальным оппонентом защищена
диссертация: 03.00.08 Зоология

Подпись сотрудника ФГБУН Национальный научный центр морской
биологии им. А.В. Жирмунского Дальневосточного отделения Российской
академии наук Чернышева А.В. удостоверяю: