

## Отзыв

официального оппонента

на диссертацию **Воробьевой Ольги Александровны**

на тему **«Строение и возможный механизм функционирования кнidosаков голожаберных моллюсков (Nudibranchia)»**,

представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности **1.5.12 – зоология**

Явление сохранения стрекательных клеток книдарий и их дальнейшее использование представителями других типов (клетоккнидия) известно уже в течение почти полутора веков. Это явление было открыто именно для голожаберных моллюсков, но в дальнейшем и для некоторых других групп, таких как плоские черви, гребневики и даже губки. Его изучение имеет общебиологическое значение. Применение современных методов электронной микроскопии (сканирующей, трансмиссионной, конфокальной), иммуноцитохимии и 3D реконструкций в гистологии и морфологии инициировало в 21 веке целый ряд работ по изучению клетоккнидии на новом уровне с точки зрения гистологии, функциональной морфологии и филогении. Тем не менее, многие вопросы до сих пор неосвещены или изучены недостаточно полно, такие как механизмы выстреливания нематоцист и защиты хозяина от поражения нематоцистами, степень морфологического разнообразия кнidosаков (органов хранения клетоккнид) в пределах отряда Nudibranchia, связь строения кнidosаков с питанием хозяина.

Представленная Ольгой Александровной к защите работа посвящена строению и механизму функционирования кнidosаков голожаберных моллюсков. Актуальность предложенной темы не вызывает сомнений.

Объем и структура диссертации отвечает всем требованиям, предъявляемым к подобным диссертационным работам. Диссертация состоит из Введения, глав «Обзор литературы», «Материал и методы», «Результаты», «Обсуждение», а также Заключения, Выводов, Списка литературы и Приложения. Содержание диссертации изложено на 196 страницах, включая Приложение. Список литературы насчитывает 168 источников, из них 165 на иностранном языке.

Диссертация хорошо иллюстрирована. 49 рисунков, включающих фотографии, полученные с помощью трансмиссионной электронной и лазерной конфокальной микроскопии, свидетельствуют о достоверности результатов и выводов, представленных в диссертации.

В разделе «**Введение**» достаточно убедительно изложена актуальность избранной темы, степень ее разработанности и четко обозначена цель, объект и предмет исследования. Поставленные задачи (их 5) вполне соответствуют цели исследования. Положения, выносимые на защиту (их 5), соответствуют логике исследования и проведенного анализа. Научная новизна, методология, теоретическая и практическая значимость работы не вызывают сомнений. В плане научной новизны заслуживает внимание «побочный продукт» работы – описание так называемых «хитиновых веретен» в вакуолях интерстициальных клеток зоны книдофагов книдосака *Aeolidia papillosa*. Ранее такие веретена, состоящие из гранулированного хитина, были описаны для клеток эпидермиса и выстилки желудка голожаберных моллюсков. Предполагается, что они работают по типу мешков с песком, не давая нематоцистам повреждать клетки моллюска. Чуть позже Гринвудом (Greenwood, 2009) такие веретена указаны на ультратонких срезах и в эпителии церат. Обнаружив и описав такие структуры в клетках книдосаков, Ольга Александровна выносит этот очень интересный материал на защиту (Положения, выносимые на защиту, п.3). В качестве замечания следует отметить, что в указании Новизны результатов, пункт о защите от поражения клеточными книдами требует конкретизации, так как автор указывает, что в диссертации «впервые» детально исследованы способы защиты тканей моллюска от поражения клеточными книдами.

Глава «**Обзор литературы**» изложена на 15 страницах. Она разделена на пять подразделов, посвященных истории открытия феномена клеточной книдии, распространению клеточной книдии в отряде Nudibranchia, морфологии церат и самих книдосаков, а также приведен обзор публикаций, посвященных вопросам процесса отбора и функционирования клеточных книд голожаберными моллюсками. Последний из пяти подразделов посвящен публикациям, касающимся еще одного вида структур, накапливаемых в цератах – одноклеточных симбионтов голожаберных моллюсков – зооксантелл.

Для полноты изложения в этой главе не хватает общих сведений о современной классификации нематоцист книдарий, что затрудняет последующее чтение работы.

Глава «**Материал и методы**» состоит из 3 подразделов: 1) система Nudibranchia, принятая в работе; 2) материал, т.е. некоторое количество собранных и изученных экземпляров голожаберных моллюсков, относящихся к 18 видам из 4 семейств; 3) методы исследования. Последнему подразделу уделено наибольшее внимание: на 6 страницах подробно приведены протоколы подготовки серийных гистологических срезов для световой микроскопии, ультратонких срезов для трансмиссионной электронной микроскопии, образцов для сканирующей электронной микроскопии, для конфокальной

лазерной сканирующей микроскопии, изложены методы исследования пролиферативной активности клеток кнidosака с использованием метки (EdU – аналогом тимидина). Последний параграф данной главы посвящен описанию метода исследования изменений в строении кнidosака после выстреливания клептокнид.

Замечания к главе «Материал и методы»: 1) автор пишет: «Материалом для настоящей работы служили 18 видов голожаберных моллюсков, собранных в Баренцевом, Белом ... морях» – но собирали и исследовали экземпляры, относящиеся к 18 видам. 2) Не указано общее количество собранных и изученных особей каждого вида. 3) В Таблице 3.2.1 данных собранного материала (Таблица 3.2.1) желательно добавить названия семейств, что упростило бы ориентацию в тексте. 4) Подраздел 3.1. (Система *Nudibranchia*, принятая в работе), является по существу, анализом ряда опубликованных источников по систематике голожаберных моллюсков. Логично было бы перенести этот подраздел в главу «Обзор литературы». 5) Необходимо указывать авторов видов, родов и семейств как в тексте при первом упоминании таксона, так и в Приложении, где в предложенном виде Таблица 3.1.1 выглядит черновиком. 6) Автор пишет: «Так как вид *A. papillosa* был первым объектом исследования, он был использован как модельный объект для подбора оптимального метода окрашивания». Возникает вопрос, случайно ли *A. papillosa* была первым объектом исследования? Если нет – то по какому принципу была таковым выбрана. 7) Для некоторых используемых в работе реактивов нет более детальной информации. Например, среда Murtagy Clear не является общеизвестной, необходимо дать ссылку на ее состав или производителя. 8) Несмотря на то, что автор опирается на таксономическую базу MolluscaBase, последовательности в использовании таксономических категорий нет, так таксон *Cladobranchia* упоминается в тексте данной главы то как подотряд, то как отряд (стр. 19), а *Dendronotoidea* упоминается как отряд (стр. 20), инфраотряд (стр. 22) и надсемейство (стр. 31).

Глава «Результаты» изложена на 27 страницах чистого текста. В ней изложены результаты исследования строения и функционирования кнidosаков голожаберных моллюсков. Более подробно изучены кнidosаки *A. papillosa*, выбранного модельным объектом. Автор последовательно описывает строение апикальной части цераты, общую анатомию кнidosака и ультраструктуру его зон. Далее описана ультраструктура кнidosаков *Spurilla neapolitana* (семейство Aeolodiidae), и представителей семейств *Fionidae*, *Facelinidae* и *Myrrhinidae*. Глава содержит большой фактический материал и очень подробно иллюстрирована как четкими схемами, так и многочисленными фотографиями, полученными с использованием электронных трансмиссионного и конфокального лазерного микроскопов.

Небольшое замечание: на странице 39 автор пишет: «Книдосак может быть подразделен на 4 части, разделяющиеся по строению и функции». Но в последующих описаниях таких зон 3: пролиферации, книдофагов и книдопора.

Глава «**Обсуждение**» значительная по объему, изложена на 23 страницах текста и состоит из 7 подразделов. В подразделе «Методические аспекты изучения книдосаков и сопряженных структур» сделан акцент на преимущества использования конфокальной и трансмиссионной микроскопии над гистологическими методами при визуализации структурных элементов внутри книдосака и сделан вывод о том, что применение современных и классических методов в комплексе позволяет на высоком уровне фиксировать изменения книдосаков при переходе моллюсков на новые объекты питания. На основании изученной морфологии книдосака *A. papillosa* высказано предположение о функциях интерстициальных клеток книдосака, ресничек в его просвете, клеток в зоне книдопора, о процессах, проходящих в книдосаке при его выстреливании - в сравнении с ранее опубликованными данными. Значительная часть главы посвящена сравнению морфологии изученных книдосаков представителей семейств Aeolidiidae, Fionidae, Facelinidae и Myrhrhinidae. Для иллюстрации приведены прижизненные фотографии представителей каждого изученного вида, ультратонкие, полутонкие или оптические срезы книдосаков и четкие схемы, составленные на основе их изучения. Этот атлас морфологии книдосаков – большая база фактического материала, который ценен сам по себе. Хорошо бы составить сводную сравнительную таблицу изученных характеристик морфологии церат и книдосаков (типы нематоцист в книдофагах, форма и размеры книдосаков, типы клеток в выстилке книдосака, локализация хитиновых веретен и т.д.) у разных видов голожаберных моллюсков.

Замечание к главе **Обсуждение**. Автор пишет: «Судя по тем данным, которые существуют относительно филогенетических отношений Nudibranchia (см. ресурс MolluscaBases, 2022) ...» – филогенетические отношения отряда Nudibranchia желательно оценивать по публикациям, а не по таксономическим базам, пусть и таким фундаментальным, как MolluscaBase, и ссылка на 2022 год несколько устарела.

В **Заключении** подводятся итоги проделанной работы по изучению морфологии и функционирования книдосака голожаберных моллюсков и озвучиваются перспективы дальнейших исследований явления клептокнидии. Следует отметить, что автор неверно пишет название Sacoglossa с двумя «с», и фраза «Явление клептокнидии характерно для брюхоногих моллюсков из группы Saccoglossa» явно содержит опечатку – речь идет о клептопластии.

**Выводы** диссертации соответствуют поставленным задачам и проведенному анализу полученных разнообразных данных.

Общие замечания к тексту диссертации:

1. В данной работе рисунки являются неотъемлемой частью исследования и их было бы логичнее поместить в раздел Результаты, а не Приложение, тогда и текст воспринимать проще, и нумерацию рисунков можно было бы упростить.

2. Оформление работы несет явные следы большой спешки. Цитирование источников в тексте приведено в разном формате. В списке литературы авторы часто указаны, как при цитировании в тексте (Ekimova et al., 2022).

3. Нет полного соответствия процитированных источников списку литературы. Например, не процитирована Martin, Walther, 2003.

4. Если источников с одинаковым цитированием больше одного, необходимо использовать буквы, иначе непонятно, на какую статью ссылается диссертант, на статью Екимовой с соавторами с ревизией семейства Coryphellidae, опубликованной в 2022 г. в *Zoological Journal of the Linnean Society*, или на статью о секвестрации нематоцист в семействе Fionidae, опубликованной также Екимовой с соавторами в том же году в журнале *Frontiers in Zoology*.

5. Автор указал, что собрал и проанализировал 139 источника – на самом деле их 169, что в Приложении приведено 36 рисунков – на самом деле их 49.

6. Рисунок 4.1.4. Приложения дублируется ниже, как часть рисунка 4.1.16.

7. В списке литературы источники не всегда расположены по алфавиту. Так 8 источников с первым автором Wägele перечислены в полном беспорядке.

Перечисленные выше замечания не влияют на общую высокую оценку работы Ольги Александровны. По теме диссертации опубликовано 5 работ в рецензируемых научных российских и международных журналах, реферируемых в международных базах WoS и Scopus. Результаты докладывались на российских и международных конференциях, конгрессах и научных семинарах. Автореферат отражает все основные положения работы и содержание всех глав диссертации.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Содержание диссертации соответствует паспорту 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 приложениям №8, 9 Положения о диссертационных советах Московского государственного университета.

Таким образом, соискатель Воробьева Ольга Александровна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.12 – «зоология».

Официальный оппонент:

Чабан Елена Михайловна,  
кандидат биологических наук,  
старший научный сотрудник  
лаборатории морских исследований  
Зоологического института  
Российской академии наук,  
199034, г. Санкт-Петербург,  
Университетская набережная, 1.

Контактные данные:

Телефон:

Электронная почта: [echaban@zin.ru](mailto:echaban@zin.ru)

.. 13 сентября 2023 г.

Специальность, по которой официальным оппонентом защищена диссертация:  
03.02.04 – зоология.

Подпись старшего научного сотрудника Зоологического института Российской академии наук Е.М. Чабан удостоверяю:

Ученый секретарь ЗИН РАН

к.б.н. Н.Н. Безбородкина