

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Клочковой Татьяны Андреевны

"Механизмы формирования симбиотических связей и стратегия совместного выживания некоторых видов морских ценоцитных зеленых водорослей и заднежаберных моллюсков", представленной на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.02.08 «Экология (биология)»

Автореферат Клочковой Татьяны Андреевны посвящен выяснению механизмов «подселения» в клетки животных чуждых им по природе органелл растительных клеток и формированию симбиотических взаимоотношений на внутриклеточном уровне. Полученная информация расширяет представления о сущности жизни, формировании взаимосвязи и взаимозависимости видов как основы единства и целостности живой материи. Живая система рассматривается автором как множество иерархически связанных между собой элементов, составляющих функциональное единство.

Актуальность проводимых исследований не вызывает сомнения. Достоверность результатов и отдельных положений диссертации подтверждается применением современных методов морфолого-анатомических, экологических, гидробиологических, цитологических, молекулярных и биохимических исследований.

Клочковой Т.А. созданы и проанализированы транскриптомные базы данных для моллюсков *Elysia atroviridis*, *Elysia nigrocapitata* и *Placida babai* и водоросли *B. plumosa*. Автором впервые приведена молекулярная характеристика новых лектинов водорослей – бриохилина и ВРЛ-3, участвующих в процессе «сборки» протопластов у водоросли *Bryopsis plumosa*, выполнен протеомный анализ протопластов этой водоросли и появившихся из них клеток. Впервые изучены механизмы защиты от спонтанной гибридизации протоплазмы растений разных видов ценоцитных зеленых водорослей и разработан метод внедрения в протопласты чужеродных клеток и микрочастиц. Впервые определено, что фотосинтетическая активность клептопластид во многом определяется составом водорослевого корма, что в свою очередь, влияет на морфометрические признаки и развитие моллюсков. Впервые установлено, что клептопластиды – это, прежде всего, поддерживаемые в живом состоянии резервные пищевые ресурсы. Работа выполнена на современном экспериментальном уровне, обобщен огромный массив экспериментальных данных.

Диссертация состоит из введения, где обоснована актуальность работы, сформулированы цели и задачи исследования, семи глав, выводов и списка литературы. Несколько непривычно, что нет подразделения на традиционные результаты исследования (с третьей по седьмую главы), но это не снижает значимости представленных на защиту материалов.

Работа интересная и сложная, при ознакомлении с авторефератом возникают некоторые вопросы к соискателю. Автор повествует (стр. 10 автореферата), что молекулярные характеристики и нуклеотидная аминокислотная последовательность лектина, выделенного из протоплазмы *Bryopsis plumosa*, остались неизученными. Было это вызвано техническими трудностями или есть какие-либо другие объяснения? Следует отметить, что автором использованы различные биологические (методы сбора моллюсков, их культивирование и эксперименты по кормлению, выращивание микро- и макроводорослей в лабораторных условиях, получение протопласт и их культивирования) и химические методы (использование аффинной хроматографии для выделения лектинов, ферментативное расщепление, дегликозилирование, выделение ДНК, двумерный электрофорез). В автореферате хорошо изложено обоснование выбора объектов исследования – макроводорослей и моллюсков. Автор сообщает, что в работе впервые приводится описание моллюска *Elysia nigrocapitata*, поскольку его анатомия и биология никогда не изучались. Информация по другому объекту исследования – моллюску *Elysia atroviridis* также крайне скудна. Чем обусловлен факт недостаточной изученности данных объектов, труднодоступностью сырья или ограничением ареала обитания моллюсков? Сведения, полученные Клочковой Т.А., являются важными, поскольку в современном мире происходит уменьшение биоразнообразия и сведения, полученные автором для *P. babai*, *E. atroviridis* и *E. nigrocapitata* по жизненному циклу этих заднежаберных моллюсков, являются новыми для науки и приближают к решению задачи массового культивирования этих видов. Клочкова Т.А. отметила важность использования этих моллюсков в медицинских целях, было бы интересно несколько расширить эту часть и привести конкретные примеры применения в медицинской практике. Соискатель выделила и охарактеризовала лектины из водоросли *Bryopsis plumosa*. Поскольку информации по биохимии и структуре водорослевых лектинов крайне мало, автор показала функциональную роль выделенных лектинов: агглютинация хлоропластов. Доказано, что устойчивость и способность к агглютинации и формированию протопластов лежит в основе клептопластии у моллюсков. Так у *E. nigrocapitata* слой клеток, включающих хлоропласты (т.е. клептопластиды), располагается непосредственно под слоем вакуольсодержащих клеток. Продемонстрирована роль хлоропластов (в первую очередь) и вакуольсодержащих клеток: они являются запасным материалом, обеспечивающим питание моллюсков в условиях длительного голодания. При анализе полученных данных автор делает вывод, что пищеварительные клетки моллюсков «захватывают» не отдельные хлоропласты, а сгустки водорослевой протоплазмы.

включающие все клеточные компоненты, в том числе ядра и хлоропласты, окруженные эндоплазматической сетью с рибосомами.



Клочкова Т.А. делает выводы о том, что регуляция фотосинтеза хлоропластов может обеспечиваться за счет функционирования ядра растительной клетки и подтверждает это экспериментально. Было показано, что в транскриптомах исследованных моллюсков *Placida babai* и *Elysia nigrocapitata* нет ни одного гена, непосредственно регулирующего фотосинтез. Однако в транскриптоме моллюска *Elysia atroviridis* было обнаружено семь потенциальных генов-кандидатов, кодируемых геномом хлоропласта. Автор отмечает, что в настоящее время неясно является ли это результатом загрязнения в процессе эксперимента мРНК моллюска фрагментами мРНК хлоропластов *Bryopsis plumosa*, которым он питался в природе и лаборатории, или же у него на самом деле есть собственные «фотосинтетические» гены. Полученная информация требует дальнейшего подтверждения.

Необходимо отметить, что поставленные вопросы не снижают важности представляемых исследований. Принципиальных замечаний по автореферату и качеству оформления нет.

Основные результаты диссертации опубликованы в 53 статьях в рецензируемых журналах, 1 коллективной монографии, 1 главе в книге и 80 материалах и тезисах докладов в материалах научных конференций. Автореферат диссертации Клочковой Т.А. оформлен в соответствии с требованиями ВАК РФ. Считаю, что Клочкова Т.А. заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.02.08 «Экология (биология)».

Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН
690022, г. Владивосток, пр. 100-лет Владивостока, 159, тел. (423)2310705,
e-mail:svetlana_ermakova@hotmail.com

Доктор химических наук, доцент,
зав. лабораторией химии ферментов

Подпись Ермаковой С.П. 
Ученый секретарь ТИБОУ ДВО РАН 

д.х.н., доцент Ермакова С.П.

д.х.н., с.н.с. Красикова И.Н.

