Заключение диссертационного совета 24.1.221.01 (Д900.009.01), созданного на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра «Институт биологии южных морей имени А.О. Ковалевского РАН», по диссертации на соискание ученой степени кандидата наук

аттестационное дело №_____

решение диссертационного совета

от 7 декабря 2022 г. № 19

О присуждении Кладченко Екатерина Сергеевне, гражданке Российской Федерации, ученой степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Акклимация моллюска-вселенца *Anadara kagoshimensis* (Tokunaga, 1906) к условиям осмотического стресса» по специальности 1.5.16 «гидробиология» принята к защите 30.09.2022 г. (протокол заседания № 16) диссертационным советом 24.1.221.01, созданным на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра «Институт биологии южных морей имени А.О. Ковалевского РАН» (ФИЦ ИнБЮМ), Министерство науки и высшего образования Российской Федерации. 299011, Российская Федерация, г. Севастополь, проспект Нахимова, д. 2, приказ о создании диссертационного совета № 714/нк от 21 июня 2016 года.

Соискатель Кладченко Екатерина Сергеевна, 28 июня 1994 года рождения, в 2018 году окончила Севастопольский государственный университет по специальности «Техносферная безопасность»; в настоящее время работает научным сотрудником лаборатории экологической иммунологии гидробионтов ФИЦ ИнБЮМ.

Диссертация выполнена в отделе физиологии животных и биохимии ФИЦ ИнБЮМ.

Научный руководитель – **Солдатов Александр Александрович**, доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник отдела физиологии животных и биохимии ФИЦ ИнБЮМ.

Официальные оппоненты:

Тимофеев Максим Анатольевич - доктор биологических наук, профессор кафедры гидробиологии и зоологии беспозвоночных биолого-почвенного факультета Иркутского государственного университета, г. Иркутск;

Сокольникова Юлия Николаевна - кандидат биологических наук, младший научный сотрудник лаборатории физиологии Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского» Дальневосточного отделения Российской академии наук, г. Владивосток

дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация – Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина Российской академии наук, п. Борок, Ярославская обл. в своем положительном заключении, подписанном ведущим научным сотрудником, доктором биологических наук Чуйко Григорием Михайловичем и утвержденным директором, доктором биологических наук Крыловым Александром Витальевичем, отметила, что:

Диссертация Е.С. Кладченко выполнена на современном научном уровне, хорошо технически оформлена, отличается достаточным и доступным научным содержанием, четкостью и простотой литературного стиля изложения, ясностью мыслей, логичностью обоснования развиваемых положений. Цели и задачи, поставленные автором, успешно решены, результаты получены на основе правильно и логично спланированных лабораторных исследований, обработаны статистически, удачно и полностью проиллюстрированы в таблицах и рисунках и их достоверность не вызывает сомнений. Выводы сформулированы четко и полностью соответствуют поставленной цели и задачам.

Работа представляет целостное, законченное исследование и имеет несомненную теоретическую и практическую ценность. Её результаты прошли апробацию на отечественных и международных конференциях и полностью отражены в рецензируемых научных изданиях. По материалам диссертации опубликовано 12 печатных работ, из них 5 статей в изданиях, рекомендованных ВАК РФ, 6 индексируются в базах WoS (Scopus) и 6 тезисов докладов. Автореферат, в основных положениях, отражает содержание работы.

По актуальности, новизне, методическому уровню и научно-практической значимости представленная диссертационная работа полностью соответствует критериям, установленным в пп. 9-14 Постановления Правительства РФ от 24.09.2013 г. №842 «О Порядке присуждения ученых степеней» ВАК РФ (ред. от 11.09.2021 г.), а её автор, Кладченко Екатерина Сергеевна, заслуживает присуждения учёной степени кандидата биологических наук по специальности «1.5.16. Гидробиология».

Соискатель имеет более 55 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации опубликовано 12 работ, из них в рецензируемых научных изданиях опубликовано 5 работ. Научные работы соискателя посвящены изучению клеточного состава гемолимфы двустворчатого моллюска *Anadara kagoshimensis*, влиянию осмотического стресса на морфологические и функциональные особенности гемоцитов и оценке способности гемоцитов *A. kagoshimensis* к регуляции объема в условиях осмотического стресса. В диссертации представлены достоверные сведения об опубликованных соискателем ученой степени работах. Автор принял непосредственное участие в подготовке статей соответствующей тематики.

Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:

1. Soldatov A.A. Erythroid Elements of Hemolymph in *Anadara kagoshimensis* (Tokunaga, 1906) under Conditions of the Combined Action of Hypoxia and Hydrogen Sulfide Contamination / A. A. Soldatov, T. A. Kukhareva, A.Yu. Andreeva, **E.S. Efremova** // Russian Journal of Marine Biology. – 2018. – Vol. 44. – iss. 6. – P. 452-457. https://doi.org/10.1134/S1063074018060111

2. **Kladchenko E.S.** Morphologic, cytometric and functional characterisation of *Anadara kagoshimensis* hemocytes / **E.S. Kladchenko,** A.Yu. Andreyeva, T.A. Kukhareva, A.A. Soldatov // Fish and Shellfish Immunology. – 2020. – Vol. 98. – P. 1030-1032. https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.11.061

3. **Кладченко Е. С.** Влияние суточной гипоксии на функциональные показатели гемоцитов *Anadara kagoshimensis* (Tokunaga, 1906) /**Е.С. Кладченко,** А.Ю. Андреева, Т.А. Кухарева, В.Н. Рычкова, А.А. Солдатов// Морской биологический журнал. 2020. Т. 5, № 4. С. 28-36. https://doi.org/10.21072/mbj.2020.05.4.03

4. **Kladchenko E.S.** Impact of Low Salinity on Hemocytes Morphology and Functional Aspects in Alien Clam *Anadara kagoshimensis* (Tokunaga, 1906) / **E.S. Kladchenko,** A.Yu. Andreyeva, T.A. Kukhareva, V.N. Rychkova, A.A. Soldatov, I.V. Mindukshev // Russian Journal of Biological Invasions – 2021. – Vol. 12. – iss. 2. – P. 203-212. https://doi.org/10.1134/S2075111721020089

5. **Kladchenko E. S.** Cellular osmoregulation of the ark clam (*Anadara kagoshimensis*) hemocytes to hyposmotic media / **E.S. Kladchenko,** A.Y. Andreyeva, I. V. Mindukshev, S. Gambaryan // Journal of Experimental Zoology. Part A, Ecological and Integrative Physiology - 2022. – P. 1-6 https://doi.org/10.1002/jez.2578

На диссертацию и автореферат поступило 9 отзывов. Все отзывы положительные. В 5 отзывах имеются замечания.

Отзывы без замечаний подписали:

1. Директор института фармации, химии и биологии ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», профессор кафедры биологии, доцент, доктор биологических наук, **Присный Андрей Андреевич.**
2. Главный научный сотрудник отдела «Керченский» Азово-Черноморского филиала ФБГНУ «ВНИРО» («АЗНИИРХ»), доктор биологических наук, профессор, **Золотницкий Александр Петрович**.

3. Заведующий лабораторией иммунологии ФГБУН Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН, кандидат биологических наук, **Микряков Даниил Вениаминович** и научный сотрудник Лаборатории иммунологии ФГБУН Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН **Соколова Александра Сергеевна**.

4. Руководитель научно-исследовательского центра геномной селекции ФГАОУ ВО НИУ «БелГУ», доктор биологических наук – **Снегин Эдуард Анатольевич.**

Отзывы с замечаниями:

5. В отзыве Руководитель научного направления Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федеральный исследовательский центр «Карельский научный центр Российской академии наук», доктора биологических наук **Немовой Нины Николаевны** отмечается, что в разделе "Материал и методы исследований" следовало, хотя бы кратко, объяснить выбор исследуемого диапазона солености, действительно ли это «границы адаптивного потенциала» для *Anadara kagoshimensis*? Возможно, в диссертации такие сведения приведены. В главе 4 "Влияние кратковременной гипо- и гиперосмотической нагрузки на морфофункциональные особенности гемоцитов *A. kagoshimensis*" автор пишет о том, что при 8‰ отмечалось усиление продукции АФК примерно в 2 раза, а при 45‰ - увеличение мембранного потенциала митохондрий также примерно в 2 раза. Автор интерпретирует это как умеренный соленостный стресс и в разделе "Заключение" указывает на отсутствие стрессового состояния при воздействии 8 и 45‰. Чем автор может объяснить это вывод? Может быть, есть сведения в литературе, что такой «всплеск» указывает на «умеренное» стрессовое воздействие или полное отсутствие стресса? Как автор охарактеризует отсутствие достоверных различий при влиянии солености 14 и 35‰? В "Заключении" автор пишет, что работа была проведена с «целью исследования диапазона осмотической толерантности». В автореферате нет четких данных о том, что диапазон от 8 до 45‰ является диапазоном осмотической

толерантности для моллюска *Anadara kagoshimensis*. Возможно, в диссертации такие сведения приведены. Вопрос (дискуссионный): один из результатов, полученных в данной работе – смещение соотношения в сторону эритроцитов (увеличение до 98%); может ли это быть связано с «созреванием» клеток предшественников? Есть ли в литературе сведения о гемопоэзе у двустворчатых моллюсков?

6. В отзыве ведущего научного сотрудника, руководителя отдела биотехнологий и фиторесурсов ФИЦ Институт биологии южных морей имени А.О. Ковалевского РАН, кандидата биологических наук **Боровкова Андрея Борисовича**, отмечается, что в автореферате следовало бы описать выбор исследуемого диапазона солености. В автореферате присутствуют незначительные опечатки. Автору стоило бы более детально описать методику оценки осмотической стойкости гемоцитов в автореферате.

7. В отзыве заведующей лабораторией экологической биохимии Института биологии внутренних вод им. И. Д. Папанина РАН, доктора биологических наук **Андреевой Аллы Михайловны** отмечено, что в автореферате присутствуют многочисленные опечатки, пропуски, нерасшифрованные термины, что затрудняет чтение.

8. Замечание доцента кафедры зоологии и генетики факультета биологии ФГБОУ ВО «Российский государственный педагогический университет им. А.И. Герцена», кандидата биологических наук **Токмаковой Арины Сергеевны** заключаются в следующем: чем обоснован выбор уровней солености и времени инкубации моллюсков для проведения эксперимента? Можно ли рассматривать уровни солености, являющиеся естественным для предков *A. kagoshimensis* в морях Дальневосточного региона, как гиперосмотический? Термины «акклимация», «осмотический стресс», «соленостный стресс» не являются синонимичными для их равнозначного использования. На стр. 5 описан метод морфометрического анализа гемоцитов, однако автор не указывает времени инкубации клеток, использовался ли фиксатор при изготовлении мазков, какие применялись красители и т.п. При изложении результатов, посвященных

описанию клеточного состава гемолимфы, автор использует термины «тип», «подтип», «популяция», «субпопуляция» иногда для обозначения одних и тех же категорий.

9. В отзыве старшего научного сотрудника лаборатории популяционной биологии и генетики Института биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина, кандидата биологических наук **Павловой Веры Валерьевны** следующие замечания: Неясно, как были выбраны конкретные значения солености для создания гипо- и гиперосмотических условий. Вид *Anadara kagoshimensis* в Черном море является вселенцем, нативным ареалом, которого является море северной части Тихого океана, где соленость достигает 32-35‰. Действительно ли соленость 35‰ создает стрессовые условия для моллюска? В автореферате содержится значительно число опечаток и отсутствует расшифровка важных терминов (например, RVD и RVI), что затрудняет восприятие текста. Использовать аббревиатуры RVD и RVI при формулировке вывода (№7) также не совсем корректно.

В целом, в отзывах отмечается, что диссертационная работа Кладченко Е.С. хорошо спланирована, четко и понятно сформулированы цель и задачи исследования, положения, выносимые на защиту, подтверждены и обоснованы результатами проведенной работы. В работе использованы адекватные поставленным задачам методы. Полученные данные и экспериментальные схемы хорошо проиллюстрированы, что облегчает восприятие материала. Исследование является вполне состоятельным, что подтверждают и публикации автора в индексируемых журналах. Результаты работы и сделанные на их основе выводы расширяют имеющиеся к настоящему времени представления о значимой роли осмотической толерантности в адаптации видов к соленостному стрессу. Впервые выполнена идентификация гемоцитов *A. kagoshimensis*, описаны два типа клеток гемолимфы, получены новые данные о механизмах изменения стратегии соленостной адаптации у *A. kagoshimensis*. Впервые показано, что гемоглобинсодержащие гемоциты *A. kagoshimensis* способны восстанавливать объем в условиях гипо- и гиперосмотического

стресса. Полученные результаты являются, несомненно, интересными и могут быть использованы для корректировки методики адаптации моллюсков при культивировании в различных осмотических условиях.

Что касается замечаний, высказанных в отзывах, то они в основном носят технический и рекомендательный характер.

По степени новизны, теоретической и практической значимости, представленная кандидатская диссертация отвечает требованиям п. 9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением правительства РФ от 24.09.2013 № 842, поскольку представляет собой самостоятельное и актуальное научное исследование, содержит новые, научно обоснованные данные; исследования влияния изменений солёности на клеточные функциональные и морфологические показатели гемоцитов *A. kagoshimensis* и компенсаторных механизмов регуляции объёма после осмотической нагрузки вносит значительный вклад в решение научных задач, имеющих теоретическое и практическое значение для развития гидробиологических исследований. Диссертационная работа выполнена на высоком профессиональном уровне и соответствует паспорту специальности 1.5.16 – гидробиология и профилю диссовета, а ее автор, Кладченко Е.С., заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук.

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается их компетентностью в вопросах, которым посвящена настоящая диссертационная работа.

Область интересов доктора биологических наук **Тимофеева Максима Анатольевича** – экология гидробионтов и механизмы адаптаций к стрессовым факторам среды.

Область научных интересов кандидата биологических наук **Сокольниковой Юлии Николаевны** – влияние различных факторов среды на морфофункциональные параметры гемоцитов морских беспозвоночных.

Ведущая организация – ФГБУН Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН (ИБВВ РАН), является крупным научным центром по изучению экологии, биоразнообразия и биоресурсов водных организмов. Сотрудники лаборатории физиологии и токсикологии ИБВВ РАН, которыми отзыв был подготовлен, занимаются изучением физиолого-биохимических и иммунологических аспектов адаптации гидробионтов (моллюски, рыбы) к действию биотических и абиотических факторов водной среды.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

идентифицировано два типа гемоцитов в гемолимфе *A. kagoshimensis*: амебоциты и эритроциты;

показано, что клетки гемолимфы *A. kagoshimensis* адаптируются к гипо- и гиперосмотическим условиям морской среды, о чем свидетельствует рост мембранного потенциала митохондрий и ускорение процессов клеточного дыхания;

установлено, что осмотическая стойкость гемоцитов моллюска зависит от условий клеточного микроокружения: гипоосмотическая среда повышает стойкость клеток к осмотическому шоку, гиперосмотическая среда, напротив, снижает ее;

обнаружено, что клетки гемолимфы *A. kagoshimensis* способны к реакции компенсации изменения объема в ответ на действие осмотического стресса.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

представлены новые данные, расширяющие представления о реакции клеточных систем организмов осмоконформеров на гипо- и гиперосмотические экспериментальные нагрузки; подробно описаны процессы регуляторного снижения объема (RVD) и регуляторного увеличения объема (RVI);

получены сведения о динамике изменения параметров осмотической стойкости клеток гемолимфы *A. kagoshimensis* и их энергетическом статусе при адаптации к условиям осмотического экстремума.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:

проведены исследования на моллюске-вселенце, который может быть объектом культивирования в азово-черноморском регионе;

получены данные об особенностях соленостных адаптаций *A. kagoshimensis* к гипер- и гипоосмотическим условиям, что особенно актуально для побережий с неустойчивым солевым режимом, где обычно располагаются марихозяйства;

полученные результаты исследований на гемолимфе могут быть использованы для экспресс-диагностики функционального состояния моллюска;

разработаны экспериментальные схемы и стенды, которые могут быть рекомендованы к внедрению в практику научных исследований лабораторий, занимающихся изучением водных организмов.

Оценка достоверности результатов исследования выявила:

теоретическая часть работы согласуется с опубликованными данными по теме диссертации;

идея базируется на обобщении передового опыта теории и практики ведущих российских и зарубежных исследований в области изучения соленостных адаптаций морских организмов и морфофункциональных параметров клеток гемолимфы двустворчатых моллюсков;

использованы сравнения авторских данных и данных, полученных ранее по рассматриваемой тематике;

использованы современные методы сбора материала и лабораторного эксперимента, а также адекватные методы статистической обработки экспериментальных данных.

Личный вклад соискателя состоит в том, что автор принимал непосредственное участие в планировании и постановке эксперимента. Все основные результаты исследования получены и обработаны автором самостоятельно. Автор лично анализировал и интерпретировал полученные результаты. Автором осуществлен анализ публикаций по проблематике

диссертации и подготовлена рукопись диссертации. Написание статей по теме диссертации осуществлялось вместе с соавторами.

В ходе защиты диссертации были высказаны критические замечания относительно недостаточности некоторых методических сведений, необходимости разъяснения значения терминов, интерпретации графического материала, технические замечания к иллюстрациям и указания на стилистические неточности.

Соискатель Кладченко Е.С. ответила на задаваемые ей в ходе заседания вопросы и замечания, согласилась с рядом замечаний, дала разъяснения по используемой терминологии, предоставила интересующие сведения по используемой методике, привела собственную аргументацию выбора экспериментальных точек солености и времени воздействия.

На заседании 07.12.2022 г. диссертационный совет 24.1.221.01 (Д900.009.01) принял решение: за исследование клеточных основ адаптации к осмотической нагрузке у двустворчатых моллюсков и решение научных задач, имеющих теоретическое и практическое значение для развития гидробиологических исследований присудить Кладченко Екатерине Сергеевне ученую степень кандидата биологических наук по специальности 1.5.16 – гидробиология (биологические науки).

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 12 человек, из них 11 докторов наук, участвовавших в заседании, из 18 человек, входящих в состав совета, дополнительно введены на разовую защиту 0 человек, проголосовали: за - 12, против – 0, воздержались - 0.

Председательствующий на заседании
диссертационного совета Рябушко Виталий Иванович

Ученый секретарь
диссертационного совета Поспелова Наталья Валериевна

07.12.2022

Подписи В.И. Рябушко
и Н.В. Поспеловой
удостоверяю
/М.А. Ковалева/