

«УТВЕРЖДАЮ»

Ректор ФГБОУ ВО

«Дальневосточный государственный
технический рыбохозяйственный университет»
(ФГБОУ ВО «Дальрыбвтуз»),
д-р физ.-мат. наук, профессор



Олег Леонидович Щека

« 14 » 2023 г.

ОТЗЫВ

ведущей организации ФГБОУ ВО «Дальневосточный государственный технический
рыбохозяйственный университет» на диссертационную работу

Чадовой Ксении Андреевны

на тему: «Липидом макрофита *Undaria pinnatifida* и эндофитных водорослей по-
рядка *Ectocarpales*: характеристика и влияние среды»,

представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук
по специальности 1.5.4 – Биохимия

Актуальность темы исследования. Липидомика – относительно новая об-
ласть науки, целью которой является идентификация и количественное определение
всех молекулярных видов липидов организма. В настоящее время липидомный под-
ход широко применяется для исследований человека, наземных животных и растений.
Намного меньше работ посвящено анализу липидома морских организмов, в частно-
сти, водорослей. Морские водоросли играют важную роль в экосистемах прибрежных
зон, являясь пищей и формируя среду обитания для морских организмов, кроме того,
они являются перспективным сырьем с высокой пищевой ценностью и промышлен-
ным потенциалом благодаря высокой концентрации полиненасыщенных жирных
кислот и биологически активных липидов. Липидный состав водорослей высокопла-
стичен, что обусловлено влиянием множества абиотических и биотических факторов
среды. Как известно, липиды служат каркасом для клеточных мембран, выполняя
структурно-регуляторную функцию, что позволяет клеткам сохранять постоянство
внутренней среды. Большинство опубликованных к настоящему моменту работ, по-
священных исследованию влияния внешних факторов, включают в себя анализы со-
става жирных кислот и классов липидов водорослей. Для понимания процесса адап-

тивной модификации липидного матрикса клеточных мембран такие исследования малоинформативны. Таким образом, тема диссертационной работы Чадовой К.А., предполагающая установление липидома бурых водорослей и исследование его изменений под влиянием различных факторов среды, является актуальной.

Научная новизна и практическая значимость. Данное исследование с применением современных методов позволило автору получить принципиально новую информацию о липидах морских макрофитов. В работе впервые расшифрован липидом четырех видов бурых водорослей из двух порядков. На основе полученных результатов автор определила закономерности распределения жирных кислот в сложных липидах бурых водорослей. Впервые на примере двух видов эндофитов из семейства *Ectocarpales* экспериментально показано, как температура и интенсивность освещения влияют на полярный и нейтральный липидом бурых водорослей. Кроме того, была определена сезонная динамика липидом бурой макрофитной водоросли *Undaria pinnatifida* из семейства *Laminariales*. Таким образом, в работе впервые детально описана адаптивная реорганизации липидного состава клеточных мембран бурых водорослей. Впервые исследованы изменения липидома инфицированного бурой эндофитной водорослью из семейства *Ectocarpales* макрофита-хозяина *Undaria pinnatifida*, что позволило автору оценить степень воздействия эндофита. Полученные данные расширяют современные представления об участии липидного метаболизма в формировании адаптивных стратегий морских макрофитов. Разработанные методы анализа классов и молекулярных видов липидов с определением позиционного положения ацильных групп могут использоваться широким кругом специалистов по биохимии, физиологии и экологии морских водорослей и высших растений.

Структура и объем диссертации. Работа изложена на 210 страницах и состоит из введения, литературного обзора, материалов и методов, результатов и обсуждения, выводов, списка литературы, включающего 330 библиографических источников, из которых 315 являются зарубежными, а также приложений.

Во введении отражена актуальность представленной работы, степень ее разработанности, обсуждены цели и задачи, обозначены научная новизна, теоретическая и практическая значимость исследования, а также положения, выносимые на защиту.

Литературный обзор, изложенный на 32 страницах, состоит из трех частей. В первой части автор дает характеристику липидного состава морских водорослей,

включая гликолипиды, фосфолипиды, бетаиновые липиды, триацилглицериды, оксилипины и стероиды. В подглавах приведены структуры каждого класса, указаны их содержание в разных типах водорослей и локализация в клетках, рассмотрены пути биосинтеза, функции, а также возможности практического применения. Во второй части описано влияние абиотических (температура, свет, доступность питательных веществ) и биотических (эпи- и эндофитизм) факторов среды на липидный состав водорослей. Заключительная часть литературного обзора посвящена характеристике объектов исследования.

Глава «Материалы и методы» начинается с описания материала и организации экспериментальных исследований. Далее подробно изложен процесс получения и анализа липидов объектов исследования, включая экстракцию, колоночную хроматографию, получение метиловых эфиров жирных кислот и их производных с их последующим анализом при помощи газо-жидкостной хроматографии, качественный и количественный анализ классов липидов при помощи гидрофильной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием, а также анализ молекулярных видов липидов при помощи обращенно-фазовой хроматографии в сочетании с масс-спектрометрией. Стоит отметить детализацию методик, имеющих отношение к установлению структуры липидов. Приведены условия детектирования для всех обнаруженных классов липидов, а также условия определения ацильных групп и их позиционного положения в липидных молекулах; в приложении 1 приведены масс-спектры и схемы фрагментации для каждого класса. В заключительной части раздела перечислены статистические методы, которые использовала автор.

В первой части главы «Результаты и обсуждение» дана характеристика состава жирных кислот, классов и молекулярных видов липидов бурой макрофитной водоросли *Undaria pinnatifida* (*Laminariales*) и трех видов бурых эндофитных водорослей *Laminariocolax aecidioides*, *Streblonema sp.* и *Streblonema corymbiferum* (*Ectocarpales*). Следует отметить объем полученных данных. В ходе выполнения работы было идентифицировано более девятисот молекулярных видов липидов. Анализ полярного и нейтрального липидома с установлением позиционного положения ацильных групп позволил автору выявить закономерности распределения жирных кислот в сложных липидах бурых водорослей. Полученные результаты отражены в детальной схеме биосинтеза липидов.

Вторая часть главы посвящена исследованию температуры и интенсивности освещения на липидный состав эндофитных водорослей *Streblonema sp.* и *Streblonema corymbiferum* *in vitro*. Определены основные классы и молекулярные виды полярных липидов, участвующие в процессе адаптации. Автор отметила, что температура и уровень освещенности наиболее заметно влияет на состав и содержание липидов, входящих в состав хлоропластных мембран, что доказывает их роль в поддержании функциональной активности фотосинтетического аппарата в условиях, отличных от оптимальных. Показано, что накопление тех или иных молекулярных видов триацилглицеридов отображает направленность синтеза жирных кислот в данных условиях. Автором также были обнаружены молекулярные виды полярных липидов, происхождение которых не ясно и может являться темой для дальнейших исследований.

В третьей части главы обсуждается сезонная динамика липидного состава *Undaria pinnatifida*. Были обнаружены существенные различия в содержании нейтральных и полярных липидов и их молекулярных видов, которые связаны с сезоном, возрастом, и даже с разными участками листовой пластины водоросли. Сравнительный анализ этих данных и результатов, полученных в экспериментах на эндофитных водорослях, позволил автору определить, что именно температура является определяющим фактором в перестройке гидрофобных частей липидных молекул.

В последней части главы приведены результаты исследования влияния инфицирования эндофитом *Laminariocolax aecidiooides* на липидный состав *Undaria pinnatifida*. Автор обнаружила изменения состава фосфолипидов и триглицеридов у зараженных водорослей, которые объяснила механическим воздействием разрастающихся нитчатых талломов эндофита и наличием вторичной инфекции, соответственно.

Диссертация заканчивается четко сформулированными выводами, отвечающими поставленной цели и задачам исследования. Полнота изложения материалов диссертации отражена в опубликованных работах Среди 10 представленных печатных работ - 3 статьи в журналах, рекомендованных ВАК Минобразования и науки РФ для публикации материалов диссертационных исследований.

Научные результаты представлены и обсуждены автором на научно-практических конференциях международного и всероссийского уровня и, таким образом, признаны широким кругом специалистов. Автореферат в полной мере отражает содержание диссертации.

Достоинства и недостатки диссертационной работы. Диссертационная работа Чадовой К.А. носит последовательный и завершенный характер. Представленный материал структурирован и показан в виде графиков, что позволяет ориентироваться в большом количестве экспериментальных данных. Все полученные результаты в полном объеме вынесены в приложения, что демонстрирует их чистоту и достоверность. Обоснованность выводов обеспечена большим объемом экспериментального материала и статистической обработкой данных.

Вместе с тем, к работе имеется несколько **замечаний**:

1. Для статистической обработки данных было бы целесообразно использовать многомерный дисперсионный анализ.
2. По тексту повсеместно употребляется термин «пластиды» – по отношению к водорослям правильнее применять термин «хлоропласти».
3. В главах 3.1.1 и 3.2.1 содержание классов глико- и фосфолипидов приведены в виде % от суммы всех глико- и фосфолипидов, соответственно, тогда как во всех остальных главах – как % от суммы всех полярных липидов. Корректно все результаты приводить единообразно. Тоже самое касается рисунка 31 – ТАГ следовало вынести в начало графика, как в других рисунках.
4. Стр. 54 – формулировка предложения «Увеличенное количество 20:5ω3 в составе полярных липидов в верхних участках листовой пластины связано с необходимостью снижения вязкости тилакоидных мембран для ускорения электронного транспорта, что обеспечивает максимальную эффективность фотосинтеза» является неудачной. Кроме того, содержание 20:5ω3 повышенено в верхних частях только в ноябрьских образцах, в июне содержание этой ЖК практически не различалось в разных участках, зато различалось содержание 18:4ω3.
5. Не ясно, почему в световом эксперименте на эндофитных водорослях были выбраны указанные параметры интенсивности освещенности. Почему величина 200 мкмоль фотонов считается «высокой» интенсивностью света?

Указанные замечания не влияют на общую высокую оценку диссертационной работы Чадовой К.А.

Заключение. Диссертационная работа Чадовой Ксении Андреевны «Липидом макрофита *Undaria pinnatifida* и эндофитных водорослей порядка *Ectocarpales*: характеристика и влияние среды» по теоретическому уровню, объему проведенных иссле-

дований, научной новизне и практической значимости полностью соответствует требованиям п.п. 9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г., № 842 (в редакции от 01.10.2018 г. № 1168; с изменениями от 20.03.2021 г. № 426; от 11.09.2021 № 1539), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, а ее автор достойна присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.4 – биохимия.

Отзыв на диссертационную работу заслушан и одобрен на заседании кафедры «Пищевая биотехнология» Института пищевых производств ФГБОУ ВО «Дальрыбвтуз», протокол № 4 от 04.12.2023 г.

«Пищевая биотехнология»
ФГБОУ ВО «Дальневосточный
государственный технический
рыбохозяйственный университет»,
доктор биологических наук,
профессор

Татьяна Николаевна Пивненко

Почтовый адрес:

690091, Приморский край, г. Владивосток, ул. Светланская, 27

Тел.: 8 (423) 226-47-40, моб. +7-924-230-25-34

Эл. почта: tnpivnenko@mail.ru

«Пищевая биотехнология»
ФГБОУ ВО «Дальневосточный
государственный технический
рыбохозяйственный университет»,
кандидат технических наук,
доцент

Виктория Владимировна Крашенко

Почтовый адрес:

690091, Приморский край, г. Владивосток, ул. Светланская, 27

Тел.: 8 (423) 226-47-40, моб. +7-914-684-61-61

Эл. почта: krashchenko.vv@dgtru.ru victory_vl@mail.ru

Подписи Пивненко Т.Н. и Крашенко В.В. заверяю:

Ученый секретарь ФГБОУ ВО «ДГТРУ»

690087, Приморский край, г. Владивосток, ул. Петровая, 52Б
Телефон: 8(423) 244-03-06 Факс: 8(423) 244-03-06
E-mail office@dgtru.ru
Официальный сайт: <http://dalrybvtuz.ru>



Ольга Игоревна Шестак