

УТВЕРЖДАЮ
Директор федерального
государственного бюджетного
учреждения науки Самарского
федерального исследовательского
центра Российской академии наук



ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

на диссертацию **Шаповаловой Кристины Вадимовны**

«Адаптивные реакции костного мозга и развитие окислительного стресса у прудовых и озерных лягушек, обитающих в различных гидрохимических условиях среды», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности

03.02.08 – экология (биологические науки)

Диссертационное исследование Кристины Вадимовны Шаповаловой, на тему «Адаптивные реакции костного мозга и развитие окислительного стресса у прудовых и озерных лягушек, обитающих в различных гидрохимических условиях среды» представлена в одном томе и состоит из введения, 6 глав, заключения, выводов, списка литературы (всего 174 источника, из которых 39 зарубежных) и приложения. Общий объем диссертации 169 страниц, из них основной текст диссертации 146 страниц, включает 32 таблицы и 34 рисунка. В приложение вынесены 23 таблицы.

Основная цель диссертационной работы определение эколого-физиологических показателей иммуногемопоэза индикаторных видов природных популяций амфибий в условиях воздействия комплекса

гидрохимических факторов водных объектов Верхнего Поволжья (на примере Нижегородской области).

Для достижения поставленной цели автором решались пять основных задач, которые в целом раскрывают сущность работы. Также соискатель выносит на защиту три основных положения, которые подтверждаются материалами диссертации.

Результаты диссертационной работы К.В. Шаповаловой были апробированы на 15 научных форумах различного уровня (от региональных, до международных). Материалы диссертации были опубликованы в 22 работах, из них 6 статей в изданиях, рекомендованных ВАК РФ, из них 3 в международных реферативных базах данных и системах цитирования, 1 учебное пособие.

Автореферат диссертации К.В. Шаповаловой, полностью соответствует содержанию диссертационной работы.

В настоящее время антропогенная трансформация местообитаний животных имеет глобальный характер и вызывает существенные адаптационные перестройки у особей, образующих популяции. Данные изменения проявляются, в том числе, в иммунной и гематологической системах. Наибольшая трансформация местообитаний, отмечается в условиях урбанизированной среды, где изменения биотопов сопровождается загрязнением водоемов, в том числе – нерестовых.

Земноводные, в отличие от групп высших позвоночных животных, наиболее тесно связаны с водной средой и широко используются в качестве биоиндикаторов. При этом не всегда учитываются эволюционно сформированные физиологические и биохимические различия у различных, хотя и экологически близких видов. В число таких экологически дифференцированных видов амфибий входят озерная и прудовая лягушка. При этом эти таксоны способны образовывать межвидовое потомство и формировать сложные популяционные системы, включающие особей родительских видов и гибридов (в том числе – диплоидные и триплоидные формы). Следует отметить, что работы по сравнительному анализу

гематологических и биохимических параметров, явно недостаточно, для формирования представлений о типах адаптационных реакций и их особенностей, сформированных у различных таксонов.

В этой связи, актуальность и дальнейшие перспективы исследования не вызывают сомнений с учетом, как проявления антропогенного воздействия на эколого-физиологические особенности индикаторных видов низших позвоночных животных, так и сложного таксономического статуса и дальнейшей разработкой концепции вида для близкородственных таксонов, где отсутствует репродуктивная изоляция, а также криптических форм и «видов-двойников».

В работе дается анализ влияния химического загрязнения среды в условиях урбанизации на системы крови озерной и прудовой лягушек. При этом, впервые исследован клеточный состав костного мозга амфибий Нижегородской области, получены популяционные характеристики миелограмм для озерных и прудовых лягушек, установлены адаптивные видоспецифические реакции на уровне эритроидного и миелоидного ростков костного мозга. Отмечено, что адаптивной реакцией озерных лягушек являлось изменение соотношения клеточного состава костного мозга и активация клеток миелоидного ряда. К.В. Шаповаловой изучены популяционные маркеры иммунного статуса амфибий – интегральные лейкоцитарные индексы. Подтверждена видоспецифичность окислительных реакций в сыворотке крови, отмечена более интенсивная реакция у прудовых лягушек, в отличие от озерной лягушки.

Автором проанализирована динамика показателей про-, антиоксидантного равновесия в организме зеленых лягушек. Установлено смещение окислительных процессов в сторону интенсификации свободнорадикального окисления и усиления работы антиоксидантной системы в условиях повышенного загрязнения водной среды. Результаты работы имеют важное значение для дальнейшего развития представлений о механизмах адаптационных реакций низших позвоночных животных в условиях наибольшей трансформации местообитаний.

Полученные данные необходимы для планирования дальнейшего проведения мониторинговых исследований и разработки концепции биоиндикации антропогенного воздействия. Результаты исследования носят фундаментальный характер, при этом полученные данные найдут широкое применение при разработке подходов мониторинга состояния популяций земноводных по эколого-физиологическим параметрам.

Материалы исследовательской работы могут быть использованы при решении проблем сохранения таксономического разнообразия земноводных, а также возможно использование при выполнении экспериментальных задач.

Глава 1 «Обзор литературы. современные представления о кроветворении, составе и свойствах крови представителей класса Amphibia», включает разделы «1.1. Современное состояние учения о гемопоэзе амфибий», «1.2. Клетки периферической крови амфибий» и «1.3. Окислительный стресс как реакция организма на экстремальные условия среды». В главе представлена сводка современных литературных сведений отечественных и зарубежных исследователей, посвященных характеристике и исследованиям гемопоэза амфибий; рассмотрены вопросы свободно-радикального окисления и их продуктов, как медиаторов межклеточных взаимодействий, участвующих в адаптивных реакциях и работе защитных систем (иммунной системы, системы детоксикации и др.) организма животных.

В главе 2 «Материалы и методы», представлено краткое описание применяемых методик, характеристика района и объектов исследования, включая разделы 2.1. Характеристика объектов исследования; 2.2. Гидрохимический анализ водной среды обитания амфибий; 2.3. Метод определения клеточного состава костного мозга (миелограмма) амфибий; 2.4. Методы определения содержания эритроцитов, количественного и качественного лейкоцитарного состава крови (лейкоцитарная формула) амфибий; 2.5. Метод окислительной модификации белков и свободно радикального окисления сыворотки крови амфибий; 2.6. Статистический анализ экспериментальных данных.

В главе 3 «Характеристика абиотических условий обитания лягушек рода *Pelophylax*» представлены результаты гидрохимического анализа для каждого водоема, с расчетом удельного комбинаторного индекса загрязненности воды (УКИЗВ) и определения класса качества воды для исследованных водоемов города Нижнего Новгорода и Нижегородской области в прибрежной зоне. В результате проведения гидрохимического анализа для большей части исследованных водных объектов выявлено превышение нормативов качества воды – показателей ПДК для водоемов рыбохозяйственного назначения (ПДКрыб-хоз) по содержанию железа, марганца, меди, хрома, сульфидов и нефтепродуктов. В качестве определенной «шкаллы» степени загрязнения, использована кратность превышения ПДК рыбохозяйственного норматива, для каждого компонента в водном объекте.

Авторами использован метод главных компонент для анализа гидрохимических особенностей водной среды обитания амфибий и сокращения исходных характеристик водных объектов.

Глава 4 «Оценка клеточного состава костного мозга лягушек рода *Pelophylax*». Отмечено, что в составе клеток костного мозга озерных лягушек преобладали клетки миелобластного ряда.

В главе 5 «Оценка гематологических показателей лягушек рода *Pelophylax*» представленный анализ лейкоцитарного состава крови выявил количественно-качественные изменения в иммунологических показателях, которые находились в прямой зависимости от степени загрязнения среды по учитываемым показателям.

В главе 6 дана «Оценка интенсивности окислительной модификации белков и свободно радикального окисления в сыворотке крови лягушек рода *Pelophylax*». Проанализирована зависимость уровня окисления альдегидных и кетонных аминокислотных остатков белков сыворотки крови лягушек от уровня загрязнения водных объектов. Обнаружена различная степень выраженности окислительного стресса у озерной и прудовой лягушек. Автором отмечена наибольшая выраженность взаимосвязи показателей

окислительного стресса и загрязнения водной среды для особей прудовых лягушек, чем для озерных.

В разделе «Заключение» приводится анализ таксономического состава зеленых лягушек рода *Pelophylax* и сравнительная характеристика адаптивных реакций озерной и прудовой лягушками. Отмечены перспективы дальнейших эколого-физиологических исследований.

По итогам работы автором сформулированы пять выводов. В них в полной мере отражены все основные положения результатов диссертационной работы. Выводы логично обоснованы, вполне лаконичны и отражают содержание исследования.

Диссертационная работа К.В. Шаповаловой выполнена на современном высоком научном и методическом уровнях. Использованный в работе материал репрезентативен. Достоверность результатов обеспечивается применением современных статистических методов.

Наряду с общим положительным впечатлением, которое производит диссертационная работа К.В. Шаповаловой, к ней имеется ряд замечаний и вопросов:

Введение. Действительно ли впервые проведены комплексные исследования системы крови индикаторных видов зелёных лягушек рода *Pelophylax* в условиях химического загрязнения среды на урбанизированной территории, или такие исследования впервые осуществлены соискателем на территории Нижегородской области? Нуждается ли в доказательстве информативность интегральных лейкоцитарных индексов в качестве популяционных маркеров иммунного статуса амфибий? Ведь именно в этом качестве данные индексы используются уже не одно десятилетие для разных систематических групп позвоночных.

Глава 1. Следует уточнить (с. 15, пункт 2, строка 7), что у амфибий эритроциты ядерные (с функциональным ядром), если в работе речь идет о кроветворении амфибий, а безъядерные эритроциты у лягушек являются патологией. Есть ли необходимость в начале главы приводить подробное описание схемы и особенностей кроветворения (с. 16-17), если эта

информация в полном объеме дублируется в последующем разделе 1.2 ? Крайне неудачная и некорректная формулировка (с.32, строки 11-12) «... а также вследствие антропогенных факторов, таких как продукты внутриклеточного метаболизма». Продукты внутриклеточного метаболизма не могут являться антропогенными факторами. Можно лишь допустить, что изменение внутриклеточного метаболизма может происходить вследствие воздействия антропогенных факторов.

Глава 2. Замечаний нет. В автореферате не обозначен раздел «2.2. Гидрохимический анализ водной среды обитания амфибий».

Глава 3. На рисунке 2.3 (с. 44) под фотографией пронормоцита (рис. 2.3 б) ошибочно дана подпись «в. базофильный нормоцит». Под рисунком 3.1 (с. 50) не нужно приводить уточнение названий осей абсцисс и ординат, так как эти обозначения есть в легенде рисунка.

Зависит ли доминирование того или иного вида зеленых лягушек в водоеме от уровня загрязнения тем или иным поллютантом? Ведь показано, что озерные лягушки доминировали во всех водоемах за исключением оз. Вторчермет (II кластер). Иными словами, устойчивы ли прудовые лягушки к загрязнению хромом в большей степени, чем озерные? Или же прудовые лягушки более чувствительны, чем озерные, к другим видам загрязнителей, в силу чего не доминируют в других водоемах?

Глава 4. Почему ни в таблицах главы 4, ни на рисунках 4.1 и 4.2 нет информации о показателях миелобластного и эритробластного рядов костного мозга озерных лягушек из водоемов III кластера, а сравнение представлено только для водоемов I, II и IV кластеров? В то же время, для прудовых лягушек сравнение аналогичных показателей показано только для водоемов II и III кластеров?

Глава 5. Различается ли общее количество лейкоцитов и эритроцитов в крови озерных лягушек из водоемов III и IV кластеров? Есть ли различия в этих показателях у амфибий из водоемов I, II и III кластеров? В таблице 5.1 этих данных нет (по водоемам III кластера). И далее в таблицах 5.2–5.5 цифры по водоемам III кластера не приводятся, в то время как озерные лягушки

обитают и доминируют (за редким исключением) в водоемах всех четырех кластеров. В то же время в следующей б главе диссертации сравнительная оценка интенсивности окислительных реакций для озерных лягушек показана для гидрохимических условий водоемов всех четырех кластеров. Тот же вопрос справедлив и для результатов исследований прудовой лягушки. Почему сравниваются лейкоцитарные показатели только животных из водоемов II и III кластеров, тогда как данный вид амфибий обитает во всех исследованных водоемах, пусть и не является доминирующим? На с. 79, абзац 1, строка 1 – стилистическая ошибка «качественный состав лейкоцитарного состава», лучше – «качественный состав лейкограммы».

Глава 6. Почему для озерных лягушек сравнение интенсивности окислительных реакций показано для водоемов всех четырех кластеров, а для прудовых лягушек различия в аналогичных показателях анализируются только для водоемов II и III кластеров? С чем связано то, что анализ данных показателей у прудовых лягушек связан только с водоемами, где они доминировали? В первом абзаце текста с. 111 (строка 8) в начале предложения ошибочно указаны «нитриты» вместо правильного «нитраты». В подписи к рисунку 6.6 не нужно уточнение «зеленый цвет – озерные лягушки, красный цвет – прудовые лягушки», эта информация уже присутствует в легенде рисунка.

Заключение. Начало раздела «заключение» (с. 116) и первые два абзаца с. 117 более уместны для раздела «введение» или главы 1.

В тексте диссертации присутствуют также немногочисленные опечатки и грамматические ошибки, например: с. 9, строка 8 – в слове «ухудшением» отсутствует буква «м» в окончании; в той же строке – не «определенного по», а «определенным по»; с. 25, строка 23 – не «использовать», а «использована»; с. 85, абзац 1 текста, строка 3 – предлог «о», а не «а»; с. 117 строка 12 указан год «206», вместо «2016». Встречающиеся по ходу текста опечатки и незначительные стилистические погрешности, ни в коей мере не снижают уровня и научной ценности исследования.

Диссертация Шаповаловой Кристины Вадимовны «**Адаптивные реакции костного мозга и развитие окислительного стресса у прудовых и озерных лягушек, обитающих в различных гидрохимических условиях среды**», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук, является законченным научно-квалификационным исследованием, в котором представлены новые эколого-физиологические данные по адаптационным механизмам амфибий при обитании в условиях антропогенной трансформации. Достоверность результатов и выводов, сформулированных в диссертации подтверждается большим объемом натурных исследований и современных методов многомерной статистической обработки полученных данных.

По актуальности темы, научной и практической значимости, уровню проведения исследований, новизне полученных результатов и обоснованности выводов, работа отвечает требованиям пп. 9-11, 13, 14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842, предъявляемым к диссертациям на соискание степени кандидата биологических наук, а ее автор Шаповалова Кристина Вадимовна заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.08 – экология (биологические науки).

Отзыв составлен заместителем директора по науке Института экологии Волжского бассейна Российской академии наук – филиала федерального государственного бюджетного учреждения науки Самарский федеральный исследовательский центр Российской академии наук, заведующим лабораторией популяционной экологии, кандидатом биологических наук Файзулиным Александром Ильдусовичем и старшим научным сотрудником лаборатории популяционной экологии Института экологии Волжского бассейна Российской академии наук – филиала федерального государственного бюджетного учреждения науки Самарский федеральный исследовательский центр Российской академии наук, доктором биологических наук Минеевым Александром Константиновичем.

Отзыв рассмотрен и утвержден на заседании лаборатории популяционной экологии Института экологии Волжского бассейна Российской академии наук – филиала федерального государственного бюджетного учреждения науки Самарский федеральный исследовательский центр Российской академии наук, протокол № 1 от 20.11.2020 г.

Файзулин Александр Ильдусович,
заместитель директора по науке Института экологии Волжского
бассейна Российской академии наук
– филиал федерального государственного бюджетного
учреждения науки Самарский федеральный исследовательский
центр Российской академии наук, заведующий лабораторией
популяционной экологии,
кандидат
биологических наук



Минеев Александр Константинович,
старший научный сотрудник лаборатории
популяционной экологии Института экологии Волжского
бассейна Российской академии наук
– филиал федерального государственного бюджетного
учреждения науки Самарский федеральный исследовательский



центр
Российской академии наук,
доктор
биологических наук

Сведения о ведущей организации: Институт экологии Волжского бассейна

Российской академии наук – филиал федерального государственного
бюджетного учреждения науки Самарский федеральный исследовательский
центр Российской академии наук

445003, Самарская обл., г. Тольятти, ул. Комзина, 10.

8(8482)489431; 8(8482)489977

ievbras2005@mail.ru

«30» ноябрь 2020 г.