

УТВЕРЖДАЮ
Директор
Федерального государственного
бюджетного учреждения науки
«Самарский федеральный исследовательский центр
Российской академии наук»
доктор сельскохозяйственных наук,
академик Российской академии наук
Шевченко Сергей Николаевич



_____ апреля 2024 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

на диссертацию Рябининой Елены Сергеевны

«Экофизиологическая характеристика цитогенетического гомеостаза амфибий в условиях химического загрязнения водных объектов», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.15. Экология (биологические науки)

Актуальность темы диссертационной работы. В настоящее время значительно повысился интерес к использованию физиологических параметров организмов при оценке состояния экосистем и пресса антропогенного воздействия в процессе биомониторинга. Особое внимание к амфибиям обусловлено их фундаментальной экологической ролью в наземных и водных экосистемах, а также остротой прикладных проблем охраны. Тема диссертации Е.С. Рябининой входит в круг главных проблем современной экофизиологии, решаемых в рамках программ научных исследований РАН «Биологические ресурсы России: оценка состояния и фундаментальные основы мониторинга», ФЦП «Экология России». Методология работы, положения и результаты исследования, несомненно, представляют большой теоретический и практический интерес.

Новизна научных результатов, выводов. В работе выявлено повышение генетической нестабильности организма (возрастание доли микроядер в клетках крови и костном мозге) двух видов амфибий при ухудшении качества водной среды обитания. Предложены собственные классификационные характеристики типов микроядер в эритроцитах амфибий, основанные на измерении их площади. Впервые установлено перераспределение соотношения видов микроядер в клетках организма в градиенте загрязнения водной среды, за счет возрастания доли прикрепленных микроядер. Впервые выявлена взаимосвязь между цитогенетическими, морфофизиологическими показателями гомеостаза и биоаккумуляцией тяжелых металлов в тканях и органах

амфибий. На основании вышеизложенного можно сделать вывод, что диссертантом решена важная для экологии амфибий задача по исследованию влияния химических загрязнителей водной среды на индивидуальные и популяционные характеристики цитогенетического гомеостаза организма в условиях нарастающей антропогенной нагрузки и урбанизации. Результаты диссертации носят фундаментальный характер и могут быть использованы при изучении микроэволюционных процессов видов на антропогенно-трансформированных территориях.

Практическая значимость. Результаты Е.С. Рябининой имеют важное значение для дальнейшего развития представлений о структуре и функционировании батрахоофауны, а также механизмов адаптации живых организмов к антропогенно измененным условиям среды. Динамика цитогенетических и морфофизиологических параметров позволяет выявлять наличие патологических процессов в организме при планировании и реализации действенных мероприятий по сохранению биоразнообразия и охраны амфибий.

Результаты работы используются в учебном процессе на кафедре экологии Института биологии и биомедицины Национального исследовательского Нижегородского государственного университета им. Н.И. Лобачевского. Все это в целом позволяет считать, что диссертационная работа Е.С. Рябининой посвящена решению важной в теоретическом и практическом отношениях проблеме экофизиологии (факториальной экологии).

Соответствие диссертации и автореферата требованиям Положения о порядке присуждения ученых степеней. Диссертация и автореферат Е.С. Рябининой соответствуют требованиям Положения о порядке присуждения ученых степеней.

Личный вклад соискателя в разработку научной проблемы. Результаты научной работы получены при непосредственном участии диссертанта в полевых исследованиях, проводимых кафедрой экологии Института биологии и биомедицины Национального исследовательского Нижегородского государственного университета им. Н.И. Лобачевского.

Соискателем лично собран весь материал (амфибии и пробы воды), освоены необходимые современные методы анализа, в том числе: гидрохимический анализ, молекулярно-генетический метод определения вида, цитогенетический и морфофизиологических подходы, атомно-эмиссионный метод определения металлов в тканях организма. Автор принимал личное участие в постановке задач исследования, обсуждении и теоретическом осмыслении морфологических, экологических и цитогенетических данных.

Оценка содержания диссертации, ее завершенность, подтверждение публикаций автора. Диссертация состоит из введения, восьми глав, включая литературный обзор, описание материалов и методов исследований, выводов, списка использованной литературы. Содержание работы представлено на 141 странице машинописного текста, содержит 37 таблиц, 36 рисунков. Библиографический указатель включает 183 информационных источников, в том числе 83 зарубежных.

В *первой главе* «Цитогенетические методы индикации экологической напряженности в водных и наземных экосистемах (обзор литературы)» (с. 12–27) обобщены многочисленные литературные данные по эколого-генетическому мониторингу на основе микроядерного теста как биомаркера генетической

нестабильности и современного инструмента оценки интегрирующего эффекта антропогенных факторов. Автор анализирует известные сведения, посвященные изучению процессов формирования микроядер при воздействии чужеродных агентов инфекционной и неинфекционной природы, поступающих в организм из окружающей среды, а также аспектам морфологии и дифференциации цитогенетических показателей. Следует отметить хороший стиль изложения, компетентность автора, компактность и логическую стройность обсуждаемого материала.

Вторая глава «Материал и методы» (с. 28–40) содержит сведения, касающиеся методов проведения полевых и экспериментальных исследований, объема выполненных работ. В период 2016–2022 гг. на территории Нижегородской области проведены исследования биотопической приуроченности амфибий, а также изучено 556 экземпляров: в том числе, озерная лягушка – 391 особь и прудовая лягушка – 165 особей. Методы статистической обработки полностью отвечают современным требованиям и соответствуют поставленным задачам.

Третья глава «Гидрохимический анализ и характеристика абиотических условий обитания зеленых лягушек Нижегородской области» (с. 41–54) посвящена распределению водных объектов по кластерам, группирующихся по сходному гидрохимическому составу и в соответствии с поставленными задачами. Представлены результаты гидрохимического анализа для каждого водоема, с расчетом удельного комбинаторного индекса загрязненности воды (УКИЗВ) и определения класса качества воды для исследованных водных объектов города Нижнего Новгорода и Нижегородской области. В качестве определенной «шкалы» степени загрязнения использована кратность превышения ПДК рыбохозяйственного норматива для каждого компонента в водном объекте. На основании анализа гидрохимических особенностей с применением кластерного анализа на основе метода объединения Уорда и метода главных координат были выделены пять отдельных кластеров водных объектов. Показано, что представительство видов зеленых лягушек по градиенту химического загрязнения среды в порядке ухудшения качества воды водных объектов (от IV класса, грязная/очень грязная к V классу, экстремально грязная) менялось. Озерные лягушки присутствовали на всем диапазоне УКИЗВ. Прудовые лягушки встречались в водных объектах с УКИЗВ более 5.0. Материалы главы полностью подтверждают первый вывод и первое положение, выносимое на защиту.

В четвертой главе «Молекулярно-генетическая идентификация вида зеленых лягушек» (с. 55–60) представлены результаты выборочного молекулярно-генетического анализа видов и показано, что озерная лягушка представлена двумя генетическими дифференцированными криптическими формами «западной» (*P. ridibundus*) и «восточной» (анатолийской лягушкой *P. cf. bedriagae*). У прудовой лягушки все экземпляры были представлены генетически «чистыми» видоспецифическими маркерами. Представленные в главе 4 материалы хорошо согласуются с результатами, полученными другими исследователями, свидетельствующими о распространении аналогичного гаплотипа «западной» формы озерной лягушки в странах Центральной Европы, в Болгарии, Латвии, Польше, Румынии, Сербии, Словакии, Украине, Франции, России (Калининградская, Московская, Свердловская, Саратовская, Тульская, Воронежская, Рязанская, Нижегородская, Ульяновская области, Ставропольский край, Калмыкия, Марий Эл);

«восточной» формы – в регионах европейской части России: Самарской, Астраханской, Волгоградской, Ульяновской, Нижегородской, Рязанской областях, Башкирии, Мордовии, Марий Эл, Татарстане, а также отмеченному в Западном Казахстане и на северо-востоке Турции. Отметим, что на страницах 57 и 58 диссертации соискатель неверно называет Самарскую область «Куйбышевской» (в 1992 году области было возвращено наименование «Самарская»). Сформулированный второй вывод диссертации логично вытекает из представленных в четвертой главе результатов.

В *пятой главе* «Гематологические показатели зеленых лягушек рода *Pelophylax*, обитающих в различных гидрохимических условиях среды» (с. 61–69) рассматриваются интегральные гематологические показатели – абсолютное содержание в крови эритроцитов и лейкоцитов (общее количество клеток, содержащиеся в объеме крови, тыс. / мм³), отражающие активность процессов кроветворения и функционирование иммунной системы, поскольку интенсивность ее работы, а также антигенные чужеродные вещества, изменяющиеся физиологические процессы в организме, оказывают влияние на клеточный состав крови. По градиенту ухудшения качества водной среды обитания, в крови озерных лягушек выявлено снижение числа лейкоцитов и эритроцитов, коррелирующее с повышенным содержанием в поверхностных водах ионов кобальта, никеля и нитратов. Содержание в крови прудовых лягушек лейкоцитов и эритроцитов изменялось волнообразно. Установлено снижение числа лейкоцитов в условиях экстремального загрязнения среды у обоих видов лягушек, при этом содержание клеток в крови прудовых было значительно выше, по сравнению с озерными лягушками. Причины понижения абсолютного содержания лейкоцитов в крови исследованных особей выяснены не в полной мере. Возможно, у соискателя не было такой цели, но это перспективная возможность для расширения дальнейших исследований в данной области.

Представленные соискателем в главе 5 материалы хорошо согласуются с третьим выводом и вторым положением, выносимым на защиту.

Шестая глава «Цитогенетическая характеристика лягушек рода *Pelophylax*» (с. 70–89) – основная глава диссертации, в которой методично представлены результаты анализа видов микроядер в нормохроматофильных эритроцитах периферической крови и полихроматофильных клетках костного мозга и изменение их соотношения у двух видов амфибий в специфических условиях загрязнения водной среды. Выявлено возрастание доли клеток с микроядрами как в костном мозге, так и периферической крови зеленых лягушек, что свидетельствовало о мутагенном влиянии гидрохимических загрязнителей. Дифференцированный учет микроядер позволил выявить преобладание в пролиферирующей ткани зеленых лягушек эритроцитов с прикрепленными микроядрами, а также возрастание доли микроядер в клетках системы крови зеленых лягушек по градиенту химического загрязнения водной среды, обусловленное, как суммарным комплексным загрязнением среды, так и спецификой воздействия конкретных загрязнителей, в первую очередь тяжелых металлов, способных оказывать генотоксическое воздействие на живые организмы.

Представленные в главе 6 результаты хорошо согласуются с четвертым выводом и третьим положением, выносимым на защиту.

В *седьмой главе* «Морфофизиологические параметры зеленых лягушек в различных гидрохимических условиях среды» (с. 90–97) для уточнения реакции

организма лягушек на особенности гидрохимического состава водной среды проведен анализ индексов органов (печени, почек, сердца, селезенки, гонад, тимуса) озерных и прудовых лягушек. В экстремальных условиях водной среды межвидовые различия в морфофизиологических параметрах проявлялись повышенными значениями индексов печени, сердца, селезенки и пониженным значением индекса почек прудовых лягушек, по сравнению с озерными. Представленные в главе 7 материалы хорошо согласуются с пятым выводом и четвертым положением, выносимым на защиту.

Считаем весьма интересными новые данные, представленные в *восьмой главе* «Накопление тяжелых металлов тканями и органами зеленых лягушек рода *Pelophylax* (с. 98–113) диссертации. Атомно-эмиссионным методом проведено комплексное исследование и сравнительная оценка содержания и распределения ряда металлов (Mn, Cu, Cr, Al, Fe, Zn, Sr) в органах и тканях (мышцы, кожа, кости, гонады, печень, сердце, селезенка, кровь) озерных и прудовых лягушек, собранных в озерах крупного промышленного города (г. Нижний Новгород). В высоких концентрациях тяжелые металлы обнаружены в селезенке (хром), костях (цинк, стронций), печени (медь) озерных лягушек. У прудовых лягушек высокие коэффициенты биологического поглощения тяжелых металлов выявлены для марганца, стронция, цинка (костная ткань), железа (печень, селезенка), меди (сердце). Установлено приоритетное поступление хрома, марганца, алюминия и стронция из водной среды в организм через кожу. Активное накопление цинка происходило преимущественно через пищу, что подтверждалось высокими значениями коэффициента биологического поглощения цинка для печени прудовых и озерных лягушек. Методом регрессионного анализа установлена зависимость накопления тяжелых металлов в мышцах от органов и тканей, контактирующих с водной внешней средой (кожа) и пищеварительной системой (печень). Делается заключение о важной адаптации бесхвостых амфибий к существованию в условиях высокого загрязнения, связанной, по всей видимости, со способностью не допускать чрезмерного накопления тяжелых металлов в организме. Результаты главы 8 хорошо согласуются с шестым выводом и четвертым положением, выносимым на защиту.

Замечания по работе

Замечания, которые можно сделать по диссертационной работе, не носят принципиального характера, не снижают общей ценности диссертационной работы и не влияют на теоретические и практические результаты диссертации. Однако хотелось бы получить уточнения от соискателя по ряду вопросов.

1. Как соотносятся полученные данные по особенностям цитогенетического гомеостаза зеленых лягушек, взятых из природных биотопов, с данными других исследователей, полученными на лягушках в условиях экспериментального загрязнения токсикантами (например, нефтью, солями тяжелых металлов)?
2. Зависит ли доминирование вида зеленых лягушек в водоеме от уровня загрязнения конкретным химическим загрязнителем? Являются ли прудовые лягушки специфичными по устойчивости к конкретным видам загрязнителей

по сравнению с озерными (и поэтому не доминируют/не встречаются в наименее загрязненном кластере Г)?

3. Вопрос к главе 5 диссертации: преимущественно за счёт каких групп лейкоцитов происходит основное понижение содержания белых клеток в кровяном русле?
4. В главе 6 диссертации упоминаются «хромосомные аберрации» (с. 77, 86, 89). Какие виды хромосомных перестроек – делеции, инверсии дупликации, транслокации и т.п. – происходили у особей зеленых лягушек исследованных водных объектов? Наличие каких химических загрязнителей могут провоцировать эти ядерные аномалии?
5. Можно ли считать видоспецифичным изменение соотношение микроядер в клетках разной степени зрелости у обоих видов в экстремальных условиях среды за счет вклада разрыхленных микроядер, доля которых была выше у озерных лягушек в клетках костного мозга, а у прудовых в нормохроматофильных эритроцитах?

Встречающиеся по ходу текста опечатки, незначительные стилистические погрешности и отсутствующие ссылки на ряд литературных источников ни в коей мере не снижают уровня и научной ценности исследования. Представленные в работе исследования достоверны, выводы обоснованы и соответствуют поставленным задачам.

Заключение

Диссертация Рябининой Елены Сергеевны «Экофизиологическая характеристика цитогенетического гомеостаза амфибий в условиях химического загрязнения водных объектов», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук, может быть квалифицирована как завершённое научно-квалификационное исследование, вносящее заметный вклад в современную экологию амфибий в целом и в их региональную специфику в частности. Научные положения, сформулированные в отдельных главах работы, и выводы обоснованы результатами исследований соискателя и данными, имеющимися в научной литературе. Результаты работы прошли широкое обсуждение на многочисленных научных форумах, российских и региональных конференциях. Все полученные результаты отражены в 36 опубликованных работах, в том числе 9 статьях в изданиях, рекомендованных Перечнем ВАК РФ. Автореферат отражает основное содержание диссертации.

По актуальности темы, научной и практической значимости, уровню проведения полевых и лабораторных исследований, новизне полученных результатов и обоснованности выводов работа отвечает требованиям пунктов 9–11, 13, 14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденным постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а её автор, Рябнина Елена Сергеевна, заслуживает присуждения учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.15. Экология (биологические науки).

Отзыв обсужден и утверждён на заседании Ученого совета Института экологии Волжского бассейна Российской академии наук – филиала федерального

государственного бюджетного учреждения науки «Самарский федеральный исследовательский центр Российской академии наук» (протокол № 3 от 09.04.2024 г.).

Файзулин Александр Ильдусович,
кандидат биологических наук, заведующий лабораторией биоразнообразия
Института экологии Волжского бассейна Российской академии наук –
филиала Федерального государственного бюджетного учреждения науки
«Самарский федеральный исследовательский центр Российской академии наук»
тел. +7 (927) 021-62-60 e-mail: labvolga@yandex.ru



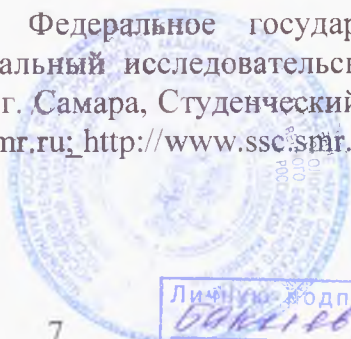
Личную подпись
Файзулин А.И.
заверяю
С.С. Фирсов

Минеев Александр Константинович,
доктор биологических наук, инженер-исследователь лаборатории биоразнообразия
Института экологии Волжского бассейна Российской академии наук –
филиала Федерального государственного бюджетного учреждения науки
«Самарский федеральный исследовательский центр Российской академии наук»
Российской академии наук
тел. +7 (927) 731-63-06, e-mail: mineev7676@mail.ru



Личную подпись
Минеева А.К.
заверяю
С.С. Фирсов

Бакиев Андрей Геннадьевич,
кандидат биологических наук, доцент,
старший научный сотрудник лаборатории биоразнообразия
Института экологии Волжского бассейна Российской академии наук –
филиала Федерального государственного бюджетного учреждения науки
«Самарский федеральный исследовательский центр Российской академии наук»
тел. +7 (927) 775-12-86, e-mail: herpetology@list.ru



Личную подпись
Бакиев А.Г.
заверяю
С.С. Фирсов

Сведения о ведущей организации: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Самарский федеральный исследовательский центр Российской академии наук» (СамНЦ-РАН); 443001 г. Самара, Студенческий пер., д. 3А; тел./факс: (846)337-53-81; e-mail: presidium@ssc.smr.ru; <http://www.ssc.smr.ru/>

11 апреля 2024 г.