

УТВЕРЖДАЮ

Директор

Федерального государственного бюджетного

учреждения науки Мурманского морского

биологического института Российской академии

наук (ММБИ РАН), д.б.н.

Макаров Михаил Владимирович

» 2023 г.



ОТЗЫВ

ведущей организации

Федерального государственного бюджетного учреждения науки

Мурманский морской биологический институт Российской академии наук (ММБИ РАН)

на диссертацию

Баяндиной Юлии Сергеевны

«Влияние абиотических и биотических факторов на эффективность реализации репродуктивного потенциала черноморского калкана *Scophthalmus maeoticus* (Pisces, Scophthalmidae)», представленную на соискание

ученой степени кандидата биологических наук

по специальности 1.5.16. – Гидробиология

Актуальность темы работы. Знание степени влияния абиотических и биотических факторов на эффективность реализации нерестового потенциала черноморского калкана актуально как в условиях естественного, так и искусственного воспроизводства. В литературе имеется большое количество работ отечественных и зарубежных авторов, в которых тщательно анализировались размножение и ранний эмбриогенез некоторых видов камбаловых, перспективных объектов разведения. Широко известны ранее проведенные пионерские исследования сотрудников ИНБЮМа, предложивших калкана в качестве объекта культивирования. Вместе с тем для успешного развития марикультуры калкана важно продолжение комплексных исследований проэмбрионального, эмбрионального и личиночного развития. Характеристики спермы черноморского калкана и влияние биологических характеристик самцов на ее качество

ранее изучены не были; влияние «родительского» (материнского и отцовского) фактора на характеристики и выживаемость на ранних стадиях онтогенеза практически не изучены. Данные о размерных характеристиках и выживаемости эмбрионов и личинок при различных уровнях перемешивания для черноморского калкана отсутствуют. Недостаточная изученность многих аспектов размножения калкана, обитающего в Чёрном море, с учетом влияния возрастающего загрязнения окружающей среды определяет актуальность диссертационной работы.

Целью диссертационной работы Баяндиной Юлии Сергеевны является оценка влияния некоторых биотических и абиотических факторов на эффективность реализации нерестового потенциала черноморского калкана. Для реализации поставленной цели исследования автором логично и четко сформулированы 6 основных задач диссертационной работы.

Объем и структура диссертации. Диссертационная работа состоит из введения, пяти разделов, заключения, выводов и списка литературы. Она изложена на 157 страницах, содержит 20 таблиц и 31 рисунок. Список литературы включает 155 источников, в том числе 98 на иностранных языках.

Основные результаты, полученные в диссертации

В разделе 1 Обзор литературы проведен тщательный и скрупулезный анализ практически всех доступных литературных данных по влиянию физиологического состояния самцов калкана на созревание и качество их спермы, по влиянию факторов внешней среды на способность к активации и подвижность их сперматозоидов. Рассмотрены основные современные методы определения качества спермы рыб и характеристики, определяющие качество икры. Приведены литературные данные по влиянию абиотических (температура, соленость воды и гидрологический режим) и биотических (отцовский и материнский факторы) на развитие и выживаемость эмбрионов и личинок калкана.

В разделе 2 детально и очень подробно представлены материал и методы, лежащие в основе работы. Следует подчеркнуть, что автором разработана собственная модификация метода подготовки препарата спермы для видеорегистрации, модифицирована методика анализа характеристик подвижности спермы с применением современных компьютерных технологий. Использованы методы компьютерного статистического анализа данных: корреляционный анализ, дисперсионный анализ ANOVA, метод главных компонент.

Раздел 3 «Вариабельность характеристик спермы камбалы калкана» посвящен результатам исследования. Автором показано, что метод оценки характеристик движения

сперматозоидов в свободной капле на предметном стекле не препятствует движению сперматозоидов и является оптимальным для микроскопирования разбавленной спермы с целью выяснения характеристик ее движения. Выявлены важные для успешного осеменения икры сведения, что при высоких разведениях спермы характеристики движения сперматозоидов были ниже в среднем на 25–30 %, чем при разведении 1:10. Между размером, возрастом, упитанностью самцов калкана и характеристиками их спермации не было обнаружено достоверной корреляции. Результаты корреляционного анализа не выявили достоверных закономерностей изменения скорости движения сперматозоидов и доли подвижных сперматозоидов в сперме калкана в зависимости от фазы нерестового сезона по всем годам.

Раздел 4 «Развитие и выживаемость эмбрионов и личинок калкана». Автором показано, что у калкана самым распространенным дефектом на этапе дробления является асимметрия бластомеров, а процент аномалий на стадии дробления влиял на процент вылупления личинок. На стадии гаструляции аномалии выражались в замедлении процесса эпиболии, а на этапе органогенеза были связаны с искривлением тела, обусловленным искривлением ното хорда. После вылупления большая часть таких личинок погибала до перехода на внешнее питание.

Выявлено, что процент аномалий на ранних стадиях развития снижался от начала к середине сезона. Относительный процент аномалий более позднего развития возрастал к концу нерестового сезона, что согласуется с данными литературы.

Автором показано влияние родительского «фактора» на качество и выживаемость икры и личинок калкана. Выживаемость личинок, их успешное правильное развитие и рост до этапа перехода на экзогенное питание зависели не только от качества самой икры, т.е. от влияния материнского фактора, но и от свойств зародыша, передаваемых по отцовской линии.

Изучена термочувствительность икры и личинок, полученных от разных производителей в разные фазы нерестового периода. Оптимальной для всего периода эмбриогенеза является температура 15–18 °С. При температуре инкубации 15–18 °С у икры с высоким уровнем оплодотворения (до 95 %) и синхронным развитием всех эмбрионов на этапе дробления, наблюдали минимальное количество аномалий на последующих этапах и максимальный процент вылупления личинок без видимых морфологических отклонений.

Проведенные эксперименты по влиянию гидрологического режима позволяют автору утверждать, что сильный барботаж негативно влияет на выживаемость личинок калкана при вылуплении, однако элиминация личинок с отклонениями развития может

оказаться эффективным способом отбора наиболее жизнеспособных ранних личинок для повышения выживаемости при дальнейшем развитии.

В результате проделанной работы установлено:

1. Для спермы черноморской камбалы калкана из нерестовых популяций средняя скорость движения сперматозоидов составляет 100 ± 52 мкм/с (при максимальной – 427 мкм/с), доля подвижных сперматозоидов находилась в пределах от 30 до 99 %.

Концентрация сперматозоидов в сперме находилась в пределах от $4,8 \times 10^5$ до 7×10^6 сп./мкл, средняя концентрация – $1,5 \times 10^6$ сп./мкл.

2. Для полной активации спермы калкана достаточно 10 % разбавления семенной жидкости морской водой, самая высокая активность спермы достигается при её разбавлении в соотношении 1:10.

3. Высокие показатели активности спермы черноморского калкана сохраняются в течение первых 20 мин после ее активации морской водой. Длительность активности сперматозоидов в эякуляте некоторых самцов после его активации может достигать 7 часов.

4. Одним из важных критериев качества икры калкана является низкий коэффициент вариабельности размеров икринок и симметрия большинства развивающихся эмбриональных структур.

5. Диаметр качественной оплодотворенной икры для разных самок калкана составлял от 1250 до 1370 мкм, а диаметр жировой капли – от 200 до 235 мкм.

6. Оптимум температуры для развития и выживаемости эмбрионов и личинок калкана в начале репродуктивного сезона сдвинут к температуре 15°C , в середине и конце сезона находится в пределах $15\text{--}18^\circ\text{C}$. Только что вылупившиеся личинки при 15°C имеют существенно меньшую длину тела, по сравнению с личинками, содержащимися при 18 и 21°C , но к моменту перехода на внешнее питание обгоняют их в росте. Эффективность использования желтка на рост достоверно выше при 15°C .

7. Впервые для калкана изучено влияние отцовского фактора на выживаемость и характеристики личинок на выклеве и переходе на внешнее питание. Вариабельность размеров личинок на этапе перехода на внешнее питание определяется как материнским, так и отцовским факторами.

8. Выявлено, что на этапах эмбрионального развития наличие слабого барботажа является фактором, негативно влияющим на выживаемость эмбрионов, но выживаемость личинок от выклева до перехода на внешнее питание повышается и происходит отбор более жизнеспособных личинок.

Обоснованность и достоверность результатов и полученных данных не вызывает сомнений, поскольку была обеспечена использованием современных методик проведения исследований, достаточными объемами экспериментальных выборок а также методами и компьютерными программами статистической обработки массивов данных.

Научная и практическая значимость. Теоретическая значимость работы заключается в том, что она является одной из составных частей комплексных исследований репродуктивного потенциала черноморского калкана из естественных популяций шельфа Крыма. Полученные результаты существенно дополняют данные о влиянии качества исходных родительских гамет на эффективность воспроизводства калкана в зависимости от комплекса абиотических факторов (температурных и гидрологических условий).

Практическая значимость обусловлена тем, что полученные новые сведения могут быть использованы для: оценки состояния нерестового потенциала естественной популяции калкана; прогнозирования успешного скрещивания производителей калкана и жизнеспособности потомства в марикультурных хозяйствах; селекции производителей: экспресс-оценки качества половых продуктов; оценки характеристик спермы рыб и её подвижности с помощью авторского плагина wtMTrck_Batch.

Положительные особенности работы

Используемые автором прорывные прецизионные методики (видеорегистрация и авторский плагин), характеризующиеся высокими параметрами точности, несомненно, найдут применение в прикладных исследованиях и производственных работах по марикультуре рыб. Раздел 4 иллюстрирован фотографиями эмбрионов и личинок отличного качества. Диссертация Баяндиной Юлии Сергеевны является полноценным научно-исследовательским трудом, выполненным автором лично и самостоятельно на высоком научном уровне. Автореферат отражает все этапы исследования и соответствует структуре диссертации.

Результаты работы были представлены на многочисленных отечественных и международных конференциях.

По материалам диссертационной работы опубликованы 16 печатных работ, из них 3 статьи в изданиях, рекомендованных ВАК РФ, в том числе 3 статьи включены в базу WoS (Scopus), 3 статьи в сборнике научных трудов и 10 тезисов докладов.

Вопросы и замечания по диссертации

Проверялась ли сперма на способность к оплодотворению через 7 часов после ее активации морской водой?

1. В автореферате и диссертации имеются невыверенные опечатки и несогласования слов в подписях к рисункам, например, рисунок 16.

2. Применена неверная терминология, например:

2.1. «личинок инкубировали» (с.72), (инкубируют икру, а личинок содержат или выращивают).

2.2. «пролиферация бластомеров» (с.102), (правильно – дробление бластомеров)

2.3. «апоптоз зародышей» (с. 102), (апоптоз – термин занятый, свойствен ядрам клеток).

2.4. «разница в скорости роста личинок на стадии экзогенного питания до раскрытия рта» (с. 132). (экзогенное – это внешнее питание, эндогенное – за счет запасов желточного мешка).

2.5. «полиспермия это оплодотворение икры от одной самки спермой от нескольких самцов» с. 47. (принято считать, что полиспермия это проникновение в яйцеклетку нескольких спермиев).

Вышеуказанные замечания не снижают общую положительную оценку диссертационной работы, имеющей важное научное и прикладное значение.

Заключение. Диссертация выполнена на высоком научном уровне и представляет собой законченный этап исследований по актуальной теме. Получены новые результаты, развивающие и углубляющие современные представления об особенностях биологии раннего развития рыб. В диссертации имеются необходимые ссылки на авторов и источники заимствованных материалов, в том числе – на научные работы соискателя. Основные результаты, представленные в диссертации, опубликованы в рецензируемых научных изданиях, удовлетворяющих требованиям ВАК Российской Федерации.

Автореферат диссертации полностью отражает ее основное содержание. Диссертация полностью соответствует специальности 1.5.16. Гидробиология и удовлетворяет всем критериям, установленным в пп. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утверждённого Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 года № 842, «О Порядке присуждения ученых степеней» ВАК РФ (ред. от 11.09.2021 г.) и всем требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, а ее автор, **Баяндина Юлия Сергеевна**, несомненно, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.16. Гидробиология.

Отзыв на диссертацию и автореферат обсужден и утвержден на заседании научного семинара лаборатории ихтиологии и физиологии Федерального государственного

бюджетного учреждения науки Мурманский морской биологический институт
Российской академии наук (ММБИ РАН) протокол № 1 от 04 мая 2023 г. На заседании
присутствовали 14 чел. Голосование: «за» – единогласно.

Ведущий научный сотрудник лаборатории
ихтиологии и физиологии
Федерального государственного бюджетного
учреждения науки Мурманский морской
биологический институт
Российской академии наук (ММБИ РАН)
доктор биологических наук, профессор

 Журавлева Нонна Георгиевна

183010, Мурманск, Россия
ул. Владимирская, д. 17
Моб. тел.: +7-902-130-32-71
e-mail: NonnaZh@yandex.ru

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Мурманский морской
биологический институт Российской академии наук (ММБИ РАН)
183010, Мурманск, Россия
ул. Владимирская, д. 17
+7 (8152) 25-39-63
e-mail: mmbi@mmbi.info

Подпись Журавлевой Н.Г. заверяю.

Ученый секретарь Федерального государственного
бюджетного учреждения науки Мурманский морской
биологический институт Российской академии наук (ММБИ РАН)
кандидат химических наук
183010, Мурманск, Россия
ул. Владимирская, д. 17
+ 7(8152)27-91-76

 Касаткина Надежда Евгеньевна

