

ОТЗЫВ

официального оппонента

доктора биологических наук, профессора Волковой Ирины Владимировны на диссертационную работу Капрановой Ларисы Леонидовны «Эколого-биохимические исследования двустворчатого моллюска *Mytilus galloprovincialis* Lamarck, 1819 в период размножения», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.16 - гидробиология.

Двустворчатые моллюски, донные организмы, обитающие в морской прибрежной среде, стали объектами исследования многих ученых из-за их высокой предрасположенности к биоаккумуляции, малоподвижного образа жизни и питания органическими отложениями (Jebali, 2014). Так как реки, озера, океаны содержат осадки веществ, а водные организмы пропускают большое количество воды через свой организм, некоторый объем химических веществ попадает из воды в их тела. Поэтому водные организмы могут накапливать химические вещества в концентрациях, превышающих их содержание в окружающей среде.

В связи со способностью мидий к биоаккумуляции, при изучении уровней стероидных гормонов и жирных кислот следует учитывать загрязненность морской среды гидрополлютантами. Как известно, этерификация тестостерона с жирными кислотами может быть механизмом, который регулирует концентрацию «свободного» тестостерона, уровень которого может возрасти под действием различного рода загрязнителей (Gooding, LeBlanc, 2004).

Биохимические показатели, по колебаниям значений которых можно судить о состоянии организма, в первую очередь подвержены воздействию факторов внешней среды. При этом изменения биохимического статуса свидетельствуют о развитии компенсаторного ответа организма на действие факторов окружающей среды (Nochachka et al., 2002; Немова и др., 2004).

Все вышеизложенное позволяет считать диссертационную работу Л.Л. Капрановой, основной целью которой было оценить эколого-биохимические характеристики мидии *M. galloprovincialis* из Чёрного моря в период размножения в природных условиях и при загрязненности ХОС, своевременной, актуальной и важной для развития знаний в области факториальной и прикладной гидробиологии, морской биохимии и экологии.

Л.Л. Капрановой впервые проведено комплексное исследование содержания стероидов, жирных кислот, макро- и микроэлементов в гонадах на разных стадиях репродуктивного цикла, в половых продуктах и личинках мидии *M. galloprovincialis*. Автором выявлена зависимость содержания стероидных гормонов в моллюсках от их половой принадлежности, стадии репродуктивного и сезонного циклов. Впервые определено влияние нереста

мидий на изменение уровня загрязненности ХОС гонад и половых продуктов.

Степень обоснованности, достоверность результатов, научных положений и выводов, сформулированных в диссертации. Обоснованность научных результатов, основных положений и выводов, сформулированных в диссертации, а также их достоверность не вызывает сомнений и подтверждается объемом проведенных исследований, современными технологиями статистического анализа.

Работа выполнена на большом экспериментальном материале. Исследованы различные физиолого-биохимические показатели (концентрации половых гормонов, жирных кислот, макро- и микроэлементов) мидии *Mytilus galloprovincialis* Lamarck, 1819 на большом количестве разнополых особей на разных стадиях репродуктивного цикла, сделано большое число измерений.

Достоверность результатов проведенных исследований вытекает из комплекса примененных автором методов исследования. В зависимости от объекта и направления исследования достаточно подробно и скрупулезно описывается соответствующая методика. Все используемые в исследованиях методы не вызывают сомнения.

Достоверность результатов также обеспечена большим объёмом фактического материала (более 1000 проб), многократностью повторения измерений и применением статистического анализа экспериментальных данных. Результаты экспериментов обработаны с использованием критерия Стьюдента (t) и Колмогорова -Смирнова. Так же был использован однофакторный дисперсионный анализ и сравнение по критерию Тьюки-Крамера. Достоверность различия установлена в каждой серии по отношению к исходному значению (P). Данные проанализированы при помощи компьютерной программы «Matlab» и «PAST 4.01».

Все вышеизложенное позволяет считать методическое обеспечение данного исследования вполне достаточным, чтобы достоверно оценить полученные результаты, обосновать научные положения и выводы диссертации, научная новизна которой заключается в комплексном исследовании содержания тестостерона, эстрадиола, жирных кислот, макро- и микроэлементов в гонадах, половых продуктах и личинках мидии *M. galloprovincialis* на разных стадиях репродуктивного цикла.

Теоретическая значимость работы заключается в обосновании необходимости потребления моллюсками из окружающей среды не только жирных кислот, но и стероидных гормонов. В результате проделанной работы была показана связь между содержанием жирных кислот, половых стероидов и микроэлементов в гонадах (в зависимости от стадии репродуктивного цикла), яйцеклетках и сперматозоидах. Проведенные исследования свидетельствуют о роли стероидных гормонов и жирных кислот в регуляции гаметогенеза вне зависимости от их происхождения в организме. Автору впервые удалось показать взаимосвязь элементного

состава гонад на разных стадиях репродуктивного цикла с концентрацией тестостерона, что подтверждает экзогенное происхождения стероидов, жирных кислот, макро- и микроэлементов в организме мидий. На примере ХОС показан характер биоаккумуляции токсикантов и их влияние на жирнокислотный состав моллюсков и наглядно иллюстрирует, что вымет половых продуктов уменьшает содержание токсикантов в гонадах мидий вследствие передачи их в яйцеклетки и сперматозоиды.

Практическая ценность работы заключается в разработке новых технологий получения биологически активных веществ из гонад, половых продуктов и эмбриональных стволовых клеток мидии *M. galloprovincialis*; разработки функционального продукта на основе эмбриональных стволовых клеток; создание масляной композиции, обогащенной полиненасыщенными жирными кислотами и каротиноидами; получение из гонад мидий вещества, обладающего противоопухолевой активностью.

Оценка содержания диссертации. Диссертационная работа Л.Л. Капрановой изложена на 188 страницах и состоит из введения, шести глав, заключения, выводов, списка литературы. Библиографический список содержит 258 источника, из них 189 работ иностранных авторов. В 20 таблицах и 18 рисунках представлены экспериментальные данные, полученные автором, все результаты имеют статистическую обработку. Диаграммы на рисунках позволяют сравнить результаты исследований.

Во ВВЕДЕНИИ представлены актуальность исследований; научная новизна; теоретическая и практическая значимость; основные положения, выносимые на защиту; апробация работы; объем и структура диссертации. Цель сформулирована ясно. Задачи соответствуют поставленной цели.

В Главе 1 (СТЕРОИДНЫЕ ГОРМОНЫ, ЖИРНЫЕ КИСЛОТЫ И ЭЛЕМЕНТНЫЙ СОСТАВ ДВУСТВОРЧАТЫХ МОЛЛЮСКОВ (ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР)) представлена характеристика тестостерона и эстрадиола в организме беспозвоночных, а также затронуты вопросы их происхождения, проблемы количественного определения стероидов у мидий. Приведены сведения о роли жирных кислот в организме моллюсков и их связь с содержанием тестостерона, а также влияние ХОС на рост и развитие гидробионтов. Автор рассмотрел проблемы исследований элементного состава мидий, накопление элементов и их роль в организме мидий. Перечислены возможные способы расчета экскреции тестостерона, эстрадиола, ЖК и микроэлементов. Рассмотрено в какой степени изученности находится каждое из избранных направлений, что уже сделано другими авторами, а что требует дальнейших исследований.

Анализ имеющихся работ позволил автору еще раз подчеркнуть актуальность предпринятых исследований, обосновать необходимость комплексного изучения процессов роста и репродукции с применением разнообразных эколого-биохимических показателей.

В главе 2 (МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ) подробно описаны методические подходы к решению поставленных задач, средства

измерений, вспомогательное оборудование, а также статистическая обработка результатов. Следует отметить, что объем исследований выполненный автором позволяет провести глубокий статистический анализ с привлечением различных критериев и методов статистики. Используемые в диссертации методы современны, объективны и информативны.

Результаты собственных исследований изложены в четырех главах: ы 3, 4, 5 и 6.

В главе 3 СОДЕРЖАНИЕ СТЕРОИДНЫХ ГОРМОНОВ В МИДИЯХ *M. Galloprovincialis*, основанной на большом фактическом материале представлены результаты исследований по концентрациям общего тестостерона и эстрадиола в половых продуктах мидий и в гонадах на разных стадиях репродуктивного цикла, а также по выделению стероидов в водную среду вместе с половыми продуктами. Показано, что концентрации тестостерона и эстрадиола в гонадах и половых продуктах мидии *M. galloprovincialis* зависят от половой принадлежности, стадии репродуктивного цикла. Выявлено, что тестостерон и эстрадиол из гонад вместе с половыми продуктами попадают в водную среду, что связано с поддержанием равновесия между свободными и связанными с жирными кислотами формами стероидов.

В главе 4 СОСТАВ ЖИРНЫХ КИСЛОТ ГОНАД, ПОЛОВЫХ ПРОДУКТОВ И ЛИЧИНОК МИДИЙ представлено описание состава жирных кислот в гонадах и трохофорах мидий, собранных при различных условиях выращивания, включая условия загрязненности ПХБ. Диссертантом определено, что вымет половых продуктов уменьшает содержание исследуемых гидрополлютантов в гонадах мидий, т.к. происходит передача их через яйцеклетки и сперматозоиды в морскую среду. Представляют интерес полученные автором данные о том, что ЖК-состав личинок, стероидный состав мидий в значительной мере зависит от степени загрязненности среды их обитания ПХБ.

В главе 5 СОДЕРЖАНИЕ МАКРО- И МИКРОЭЛЕМЕНТОВ В МИДИИ *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS* рассмотрен элементный состав гонад мидий, их половых продуктов и личинок мидий с различной окраской раковин. Установлено, что содержание элементов в тканях мидий зависит от пола, возраста и стадии репродуктивного цикла. Что немало важно автором рассчитано степени пищевого накопления и усвоения рассматриваемых микроэлементов.

В главе 6 РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИЙ ПОЛУЧЕНИЯ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ПРОДУКТОВ НА ОСНОВЕ ГОНАД И ПОЛОВЫХ ПРОДУКТОВ МИДИИ *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS* описано получение и применение функциональных продуктов на основе физиологически активных веществ и эмбриональных клеток из мидии *M. galloprovincialis*. Как известно, мидии представляют собой источник физиологически активных веществ различной природы. Диссертантом, на основе изучения физиологически активных веществ липидной природы в мидии, разработаны

и запатентованы четыре технологии выделения, очистки и применения этих соединений, что открывает перспективы дальнейшего использования моллюсков в биотехнологических целях.

В ЗАКЛЮЧЕНИИ автор в сжатой форме оценивает свои результаты. В ВЫВОДАХ сформулированы основные итоги и положения выполненной работы.

Бесспорными достоинствами работы является применение автором современных методов исследования; рекомендации, имеющие высоко практическую значимость; качество изложения материалов исследования:

- каждый подраздел диссертации заканчивается краткими выводами, суммирующими результаты исследований, что облегчает восприятие большого количества экспериментальных данных;
- обсуждая результаты экспериментов, автор ссылается на литературные данные, что позволяет сделать выводы обоснованными.

По изложению и оформлению работы к автору есть некоторые замечания и вопросы:

1. Степень разработанности темы, которая является кратким перечнем пробелов в исследуемой области, потребность восполнения которых и определяет круг задач исследований соискателя, считаю неполной. Степень научной проработанности темы должно отражаться во введении перечислением наиболее известных ученых, имевших отношение к исследуемому соискателем вопросу, краткой характеристикой рассмотренных ими вопросов, а также указанием вопросов, которые, по мнению соискателя, необходимо исследовать. В разделе «Степень разработанности темы» упоминается лишь 5 иностранных авторов, тогда как следовало бы обратить внимание на таких авторов как Войнар А. И., Ковековдова Л.Т. и др. Следует отметить, что в списке использованных источников только 30% - это статьи из периодических научных изданий последнего десятилетия, а отечественная литература представлена менее 30 % от общего числа авторов, что ставит вопрос об осведомленности соискателя о современном состоянии проблемы и тщательно проведенном поиске литературы.
2. Большая часть теоретической значимости работы звучит как выводы к проделанной работе, вместо описания ценности результатов для науки в целом, или, в частности, для решения отдельных научных проблем.
3. Следует отметить, что в работе нет единообразия ссылок на литературные источники. Так, во введении они представлены в виде фамилий и дат, а в последующих главах в виде номера из источника литературы.
4. В главе 2 (стр. 51) автор пишет: «Концентрация ПХБ в воде реакторов, действующая на личинок, составила 0,1; 1 и 10 мкг·л⁻¹. В четвертый реактор добавили растворитель ацетон в той же

концентрации, что и в рабочих реакторах». Возникают вопросы: так какая же концентрация ацетона была в четвертом реакторе; чем обусловлен выбор концентраций ПХБ в экспериментальных ёмкостях; в связи с чем в виде гидрополлютанта был выбран растворитель ацетон?

5. Совершенно неприемлемым является дублирование данных в работе. В главе 3 данные таблицы 3.2 (стр. 62) полностью дублируют данные таблицы 3.1 (стр. 55) и рисунков 3.2 и 3.3 (стр. 63), а также отражены в таблице 6.1 (стр. 127). Кроме того, совершенно непонятно зачем автор внутри каждого рисунка (3.1 и 3.2) дублирует еще раз данные в виде диаграммы и гистограммы. Такая же ситуация повторяется еще не раз в работе (например, дублирование данных таблицы 5.3 в рисунке 5.2 и табл. 5.4).
6. В главе 3 на странице 55 автор выделил раздел «Эстрадиол», однако, по тексту речь идет в большинстве случаев о тестостероне и основывается раздел на литературных источниках, а не на собственных исследованиях автора.
7. На странице 64 главы 3 приводится расчет количества выделяемых половых гормонов от одной особи, но как при этом учитывается размер и возраст этой особи, которые, несомненно, будут влиять на конечные данные?
8. Не совсем ясно что означает «0» на оси абсцисс рисунков 4.4-4.6 (нет обозначений к рисунку) и чем отличается это значение от контроля?
9. Какую из исследованных жирных кислот стоит порекомендовать в качестве индикаторного показателя загрязнения хлорорганическими токсикантами водной среды?
10. В главе 5 на стр. 110 автор пишет: «В гонадах самцов и самок содержание Zn примерно одинаковое», однако, согласно данным таблицы 5.2 (стр. 109) различия между гонадами самок и самцов достоверны и составляют 2,5-3,3 раза. Также вызывает сомнение утверждение на той же странице, что «В гонадах и личинках черной морфы содержание Zn больше, чем в коричневых мидиях». Согласно той же таблицы 5.2, различия в гонадах самцов и самок черной морфы и коричневых мидиях недостоверны.
11. Вывод № 1 не несет информации о концентрации эстрадиола, не приведены цифры, иллюстрирующие и концентрацию тестостерона. В выводе № 2 указывается от чего зависит состав жирных кислот, но ничего не сказано о динамике изменения их концентрации. Не совсем понятна формулировка в выводе №3 «Установлены статистически значимые различия в элементном составе гонад половых продуктов и трохофор различных полов черных и коричневых мидий», которая противоречит следующему тезису там

же «В гонадах самцов и самок черных и коричневых мидий отсутствуют достоверные различия в макроэлементном составе».

Все эти замечания не снижают общей высокой оценки диссертационной работы Капрановой Л.Л., к достоинствам которой относятся, прежде всего, новизна исследований, комплексный подход к выяснению особенностей биохимических характеристик мидии при различных условиях окружающей среды, достоверность полученных результатов и обоснованность выводов. Следует отметить также большой объем проделанной работы.

Основные материалы исследований отражены в 17 научных работах, из них 13 опубликованы в специализированных изданиях, рекомендуемых ВАК РФ, в т. ч. 9 статей и 4 патента; 4 — в сборниках материалов международных конференций, 7 статей входят в базы WoS и Scopus.

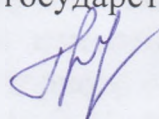
Аннотация и опубликованные по теме диссертации работы полностью отражают ее содержание.

По своему объему, актуальности, научной новизне и значимости полученных результатов диссертационная работа соответствует специальности 1.5.16 - гидробиология и отвечает 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 — Капранова Лариса Леонидовна - заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.16 - гидробиология.

20.05.2022

Профессор кафедры «Гидробиология и общая экология» ФГБУ ВО «Астраханский государственный технический университет»

доктор биологических наук, доцент



Волкова Ирина Владимировна

414056, г. Астрахань, ул. Татищева, 16,
кафедра "Гидробиология и общая экология"
ФГБОУ ВПО " Астраханский государственный
технический университет ",
Раб. тел. +79086106407, E-mail: gridasova@mail.ru

