

Отзыв

официального оппонента на диссертационную работу Кухаревой Татьяны Александровны «Клеточный состав крови и гемопоэтических органов у некоторых видов донных рыб (Севастопольская бухта, Черное море)», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.10 — гидробиология

1. Актуальность, научная новизна, теоретическая и практическая значимость исследования Диссертационная работа Т.А. Кухаревой посвящена решению одной из задач гидробиологии – влияние факторов водной среды на гидробионтов. В частности, изучение адаптивных механизмов эритроидного роста гемопоэза на тканевом уровне (кровь и кроветворная ткань иммунокомпетентных органов (пронефрос, селезенка)) морских гидробионтов к комплексу факторов водной среды (гипоксия, гипотермия, хроническое локальное антропогенное загрязнение).

Полученные в работе Т.А. Кухаревой результаты раскрывают комплекс механизмов, связанных с функционированием пронефроса и селезенки – как гемопоэтических органов, процессом созревания и дифференцировки эритроидных элементов, появлением аномальных эритроцитов в крови донных видов черноморских рыб при различных стадиях жизненного цикла и условиях их обитания.

Впервые для донных видов черноморских рыб показано, что пронефрос является основным гемопоэтическим органом, содержащим бластные клетки всех ростков кроветворения. Селезенка функционирует как «резервный» очага эритропоэза. Гемопоэтическая активность органов усиливается в нерестовый период. При этом, процесс дифференцировки эритроидных элементов на этапе: полихроматофильные нормобласты нормоциты, сопровождается более чем 40% повышением диффузионной поверхности клеток.

В серии лабораторных экспериментов, связанных с моделированием краткосрочной гипоксической нагрузки и гипотермии, впервые показано, что

краткосрочная гипоксия (15% насыщение воды O₂) подавляет эритроидный росток кроветворения, что приводит к снижению содержания незрелых эритроидных форм в циркулирующей крови. Гипотермия (1-2°C) оказывает противоположный эффект. Показано, что среди бычков, обитающих в юго-западных акваториях Крыма, наименее стойким к фоновой токсической нагрузке оказался бычок-травяник (*Zosterisessor ophiocephalus* Pallas, 1814).

Поэтому, научная новизна и актуальность темы, выбранной Татьяной Александровной не вызывает сомнений.

Результаты исследования, представленные в настоящей работе, расширяют представление о механизмах гемопоза у костистых рыб, на тканевом и клеточном уровнях организации.

Кроме того, следует отметить и практическую значимость работы. Показатели эритрона костистых рыб могут использоваться в качестве клеточного биомаркера неспецифического антропогенного воздействия на организм рыб в условиях хронического загрязнения морских акваторий. Экспериментальный стенд, используемый в лабораторных исследованиях с моделированием краткосрочной гипоксической нагрузки и гипотермии, может быть использован в качестве испытательного оборудования в лабораториях, имеющих аттестат аккредитации Федеральной службы по аккредитации Минэкономразвития РФ.

Замечание. Следует отметить, что диссертант в разделе «Теоретическая и практическая значимость» указывает возможность использования показателя «Содержание аномальных клеток в крови донных рыб» для выявления отдельных видов поллютантов в водной среде. По мнению оппонента, данный показатель не может быть специфическим маркером, отражающим реакцию организма на действие определенного поллютанта. Выявление аномальных эритроцитов в периферической крови рыб может служить лишь дополнительным критерием при экологическом мониторинге комплексного воздействия загрязняющих веществ на природные водоемы, т.к. он отражает лишь неспецифическую реакцию организма на воздействие

факторов окружающей среды. Хотелось бы услышать мнение диссертанта по этому вопросу.

2. Степень обоснованности научных положений и выводов, сформулированных в диссертации. Публикация основных научных результатов диссертации в рецензируемых научных изданиях.

Диссертант, по рассматриваемой проблеме, показывает владение информацией на мировом уровне. Об этом свидетельствует анализ 335 источников литературы, из которых 232 источника – это публикации иностранных коллег. Анализ полученных результатов проведен с использованием публикаций последних лет. Выводы, представленные в работе, достаточно хорошо обоснованы, вытекают из полученных данных, задачи исследования решены. Методы подобраны адекватно поставленным задачам. Статистическая обработка данных в достаточной степени отражает выявленные эффекты и закономерности. Полученные результаты соответствуют пунктам 1, 7 паспорта специальности 03.02.10-гидробиология.

По материалам диссертационной работы опубликована 21 печатная работа, из них 8 статей в изданиях, рекомендованных ВАК РФ, 7 статей из баз WoS и Scopus, 8 статей в сборниках и 5 тезисов докладов. Опубликованные работы всесторонне отражают представленные для рассмотрения результаты исследований. 5 статей опубликованы в изданиях, включенных в перечень ВАК по научной специальности 03.00.00 – биологические науки: биология моря (Russian Journal of Marine Biology), вопросы ихтиологии (Journal of Ichthyology), журнал эволюционной биохимии и физиологии (Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology), морской биологический журнал.

Замечания. Цель работы следовало бы несколько расширить, т.к. она не в полной мере отражает объем выполненных исследований. Частью поставленной цели является влияние естественных состояний (нерест) на систему красной крови некоторых видов донных рыб, а в работе рассмотрены несколько периодов онтогенеза (нагульный, нерестовый и

постнерестовый). Полученные данные вынесены в п. 1 защищаемых положений.

3. Структура диссертации

Диссертационная работа состоит из введения, шести глав, заключения, выводов и списка литературы. Она изложена на 150 страницах, содержит 5 таблиц и 30 рисунков.

Глава 1 (обзор литературы). В данной главе всесторонне раскрыты вопросы, посвященные использованию донных видов рыб в экотоксикологических исследованиях, дана их характеристика. Описана локализация очагов гемопоза у костистых рыб, рассмотрены гематологические характеристики периферической крови, ультраструктурные особенности эритроцитов рыб в норме и структурные особенности аномальных форм эритроцитов. Приводится достаточная информация об особенностях дифференцировки и созревания клеток эритроидного ряда у рыб. Затрагиваются вопросы влияния температуры, внешней гипоксии, токсикантов на систему красной крови рыб. Таким образом, обзор литературы в полной степени отражает ранее полученные данные по вопросам, на решение которых направлены результаты, представленные в данной рукописи.

Вопросы.

В разделе 1.5.4 приводятся данные по различным видам токсикологической нагрузки на систему красной крови рыб, в частности по влиянию кадмия, хрома, радиации и фенольных соединений. Данные токсиканты не встречаются в Карантинной бухте, выбранной в качестве модельной для определения реакции системы крови ряда видов черноморских бычков на фоновую токсическую нагрузку. При этом для ряда указанных токсических соединений, обнаруженных в Карантинной бухте (таблица 2.2) данных не приводится. Не совсем понятно, по какому принципу выбирались виды токсикологической нагрузки для формирования раздела 1.5.4.

Глава 2 (материалы и методы исследований).

В настоящей главе приводится информация об объектах исследования, методах отлова, условиях транспортировки, акклимации и содержания особей. Описаны схемы экспериментальных исследований, приводится достаточно подробное описание экспериментального стенда. Развернуто описаны методические аспекты отбора проб и их подготовки к лабораторному анализу. Приводятся данные по содержанию токсикантов в бухте Карантинная – модельной бухте для проведения работ по сравнительной оценке устойчивости рыб к токсической нагрузке. Приводятся все расчеты, которые использовались в работе при описании морфологических характеристик клеток красной крови, а также методы статистического анализа полученных данных.

Замечания, рекомендации.

1. В разделе 2.1. следовало бы более подробно дать характеристику объектов исследования для каждой решаемой задачи (главы диссертации), а именно в виде таблицы указать вид, период отбора проб, стадию жизненного цикла, количество особей. Эти данные существенно бы облегчили восприятие материала. В качестве примера можно привести раздел 3.1., где приводится описание клеточного состава почки и селезенки скорпены, и только в разделе 3.1.5. представлена информация о стадиях жизненного цикла исследуемых особей.
2. В разделе 2.2. следовало бы представить в виде таблицы информацию о количестве контрольных и опытных особей, участвующих в экспериментах, их размерно-весовых характеристиках, стадии зрелости гонад. В схеме экспериментов необходимо указать информацию о ходе их проведения и выборе метода (метод периодов или сбалансированных групп). Отсутствие таковой затрудняет воссоздание опытов.
3. В разделе 2.2 следовало бы представить информацию в виде карты или указать координаты мест отбора проб в бухте Карантинная, т.к. при прочтении диссертации остаются вопросы о географическом расположении

бухте Карантинная относительно бухты Севастопольская. Хотелось бы получить от автора пояснение.

4. В таблице 2.2 приведено содержание некоторых токсических соединений в Карантинной бухте, но нет информации о их ПДК.

5. В разделе 2.4 указано, что образцы отбирались от головной почки (про- и мезонефрос). Хотелось бы уточнить, из какого все-таки органа отбирались образцы, так как далее по тексту (результаты исследования) упоминается пронефрос и селезенка. Если всё-таки отбор проб мезонефроса имел место быть, то какой участок мезонефроса автор называет головной почкой.

Глава 3 (клеточный состав кроветворных органов, созревание и дифференцировка форм эритроидного ряда).

В настоящей главе представлены результаты, посвященные клеточному составу головной почки и селезенки скорпены. Большое внимание уделено детальному описанию морфологических особенностей клеток крови в пронефросе, представлен интересней материал по кластеризации форменных элементов. Дана сравнительная характеристика относительного количества форменных элементов для преднерестового и нерестового периода скорпены. Рассмотрены особенности процессов созревания эритроидных элементов на примере бычка-кругляка, дана морфометрическая характеристика клеток эритроидного ряда. Следует отметить, что полученные данные по морфометрии незрелых эритроидных элементов в будущих исследованиях могут быть использованы учеными для более корректной идентификации промежуточных стадий развития эритроцитов.

Рекомендации.

1. При подсчете соотношения лейкоцитов в иммунокомпетентных органах лучше не дифференцировать незрелые клетки гранулярного ряда, так как в процессе созревания клеток вторичные гранулы претерпевают ряд изменений, связанных как с формой самой гранулы, так и ее фибриллярной структурой, что в свою очередь влияет, а том числе и на окрашивание гранул. Данный факт ведет к увеличению ошибки при подсчете относительного

количества незрелых форм различных типов гранулоцитов. При этом по форме ядра, размеру клетки и ее окраске с большей долей вероятности можно выделить промиелоциты, миелоциты и метамиелоциты.

2. Обобщающие выводы по главе сделаны на основе результатов, полученных с использованием разных показателей и разных объектов исследования. Выводы были бы более убедительными, если бы весь комплекс изучаемых показателей (кластеризация клеток, соотношение лейкоцитов и эритроцитов в преднерестовый и нерестовый периоды, морфометрические показатели эритроидных элементов) был бы получен на 2-х модельных видах – скорпена и бычек-кругляк и двух модельных органах – пронефрос и селезенка.

Глава 4 (эритроциты циркулирующей крови морского ерша (SCORPAENA PORCUS L. 1758) в условиях острой экспериментальной гипоксии).

В настоящей главе диссертационной работы приводятся результаты экспериментального изучения влияния ранжированной гипоксии на эритрон циркулирующей крови устойчивого к гипоксии морского ерша, для которого установлены низкие значения критических и пороговых концентраций кислорода. Особое внимание уделяется процессам, происходящим в системе красной крови на начальных этапах адаптации к дефициту кислорода.

Глава 5 (эритрограмма циркулирующей крови NEOGOBIUS MELANOSTOMUS (PALLAS, 1814) в условиях острой экспериментальной гипоксии гипотермии).

В настоящей главе диссертационной работы в условиях эксперимента исследуется состав эритрона циркулирующей крови у теплолюбивого бычка кругляка (*Neogobius melanostomus*, Pallas, 1814) при адаптации к различным температурам (1-2 °C, 15-16 °C, 19-20 °C).

В целом, замечаний по результатам, представленным в главах 4, 5 нет, хотелось бы отметить, что полученные данные кроме фундаментальной новизны имеют большое практическое значение. Новые знания могут быть

использованы при контроле параметров среды объектов рыбоводства в условиях высокоэффективного типа ведения хозяйства.

Глава 6 (анализ содержания аномальных эритроидных форм в крови рыб в целях экодиагностики).

В настоящей главе диссертационной работы приводятся морфологические описания эритроцитарных аномалий (микроядра, дакриоциты, ядерный полиморфизм, эритроцитарные тени) встречаемых в крови черноморских бычков в условиях локального хронического антропогенного загрязнения бухты Карантинная. Следует отметить, что для решения задач, поставленных в этой главе, удачно выбраны объекты исследования, ведущие донный малоподвижный образ жизни. Выявлен наименее стойкий вид (бычок-травник) к фоновой токсической нагрузке, данный вид может быть использован в экодиагностике водной среды, в которой присутствуют низкие концентрации поллютантов. На примере бычка-кругляка, обитающего в условиях локального хронического загрязнения, показана динамика содержания аномальных эритроцитов в крови в разные периоды его жизненного цикла, связанные с разными стадиями зрелости гонад. Что в свою очередь имеет большое значение при корректировке результатов мониторинговых исследований, связанных с изучением загрязнений водной среды.

Рекомендации.

При обсуждении результатов можно бы было использовать ранее полученные данные, если таковые имеются, по количеству морфологических эритроцитарных аномалий периферической крови исследованных видов бычков из условно-чистых бухт г. Севастополя. Что в свою очередь позволило бы сопоставить уровень загрязнения бухт с интенсивностью развития морфологических аномалий эритроцитов и использовать полученные данные при интегральной оценке степени токсичности водной среды.

В заключение следует отметить, что приведенные замечания не влияют на общую положительную оценку работы. Автореферат полностью отражает содержание и структуру диссертации. Учитывая актуальность проблемы, ее теоретическую и практическую значимость, считаю, что диссертация Татьяны Александровны представляет собой законченную научно-квалификационную работу, которая отвечает всем требованиям п.п. 9-14 Постановления Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. N 842 «О порядке присуждения ученых степеней», а ее автор, Кухарева Татьяна Александровна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.10 – гидробиология.

Официальный оппонент:

Флёрова Екатерина Александровна

 09.12.2019

Кандидат биологических наук (специальность 03.00.16 – экология), доцент, ведущий научный сотрудник, заместитель директора по научной работе.

Место работы Ярославский научно-исследовательский институт животноводства и кормопроизводства — филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр кормопроизводства и агроэкологии имени В.Р. Вильямса»

Адрес работы: 150517, Ярославская область, Ярославский район, поселок Михайловский, улица Ленина, дом 1.

Рабочий телефон: 8(4852)43-75-67

Сайт организации: <http://yaniizhk.ru/>

Электронный адрес: katarinum@mail.ru

Шифр и наименование научной специальности в соответствии с номенклатурой, по которой была защищена диссертация лица, представившего отзыв: (03.00.16 – экология)

Подпись Флёровой Е.А. заверяю:



