

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию Болотовского Алексея Александровича

«РОЛЬ ТРИЙОДТИРОНИНА В ИНДИВИДУАЛЬНОМ РАЗВИТИИ И ФОРМИРОВАНИИ ФЕНОТИПА ПЛОТВЫ *RUTILUS RUTILUS* (L) И ЛЕЩА *ABRAMIS BRAMA* (L)»,

представленного на соискание учёной степени кандидата биологических наук
по специальности 03.02.04 – Зоология

В представленной работе анализируется фенотипическая пластичность плотвы и леща под действием тиреоидных гормонов. Роль морфологической изменчивости в раннем онтогенезе чрезвычайно велика. В соответствии с теорией эволюции, разработанной, в частности, А.Н. Северцовым, изменения, осуществляющиеся в раннем онтогенезе, ведут к преобразованиям, происходящим в филогенезе. Работа имеет непосредственное отношение к современной концепции эволюционной биологии (*evo-devo*), рассматривающей роль онтогенетических процессов в эволюции. Как известно, гормоны щитовидной железы участвуют в регуляции онтогенеза костистых рыб, ускоряя или замедляя рост и развитие. Вместе с тем, их роль в индукции гетерохроний (т.е. смещении в сроках наступления взаимосвязанных морфогенетических процессов) до недавнего времени была полностью не исследована. Работа представляется особенно актуальной в связи с антропогенным влиянием на экосистемы и загрязнением водоёмов, что часто приводит к морфологическим изменениям рыб, причины которых трудно оценить.

Цель работы состояла в экспериментальном исследовании роли тиреоидных гормонов в индивидуальном развитии и формировании фенотипа у плотвы *Rutilus rutilus* и леща *Abramis brama*. Диссертация общим объёмом 142 страниц состоит из введения, пяти глав, выводов, списка цитированной литературы, включающего 326 работ, из которых 238 на иностранных языках. Иллюстративный материал включает 21 рисунок и 24 таблицы.

Глава 1 посвящена обзору литературы по морфологической изменчивости рыб и роли тиреоидных гормонов в регуляции онтогенеза. Следует отметить, что название главы слишком длинное: оно состоит из 3 предложений и по существу повторяет названия её разделов. В разделе 1.1 анализируется роль фенотипической пластичности в видообразовании. Этот раздел выходит за рамки основной цели исследования, но демонстрирует широкую эрудицию автора в вопросах эволюционной морфологии. Несмотря на всестороннее изложение проблемы с привлечением как классических, так и современных работ, в обзоре отсутствуют ссылки на основополагающую монографию Гулда (Gould S.U. 1977. *Ontogeny and Phylogeny*. Cambridge, Mass.: Belknap Press, 675 p.), обосновывающую роль

гетерохроний в филогенезе, и статьи Балона (Eugene Balon), в которых рассматриваются проблемы эпигенетики и, в частности, «генетическая ассимиляция». В разделе 1.2 приведён критический анализ многочисленных работ по изменчивости меристических признаков у рыб под влиянием абиотических факторов среды. В разделе 1.3 приводятся данные по закладке и развитию щитовидной железы у разных видов рыб и механизму действия тиреоидных гормонов на организм. Делается вывод о том, что тиреоидные гормоны участвуют в регуляции экспрессии генов, причём значительное количество генов, находящихся под контролем тиреоидного гормона, вовлечено в определение морфологических признаков. Обсуждается роль трийодтиронина (T_3) в регуляции экспрессии генов и синтезе специфических протеинов, влияющих на метаболизм.

В главе 2 Материал и методы исследования изложены особенности инкубации икры и выращивания молоди, описаны эксперименты по исследованию влияния на молодь плотвы и леща трийодтиронина и гойтрогена (тиомочевины), приведена методика окрашивания препаратов и методика определения уровня трийодтиронина у рыб из природы и у икры и молоди в эксперименте. В описании отсутствуют некоторые существенные сведения, включающие температуру воды во время экспериментов, их общую продолжительность и смертность икры и молоди в контроле и в экспериментальных группах.

В главе 3 анализируется сезонная изменчивость уровня трийодтиронина у плотвы и леща из природы. В начале главы приведён краткий обзор изменения уровня тиреоидных гормонов у рыб на протяжении годового цикла. У обоих анализируемых видов повышенный уровень T_3 наблюдался в тёплый сезон года, в то время как пониженный уровень отмечен в холодный сезон. Отмечено, что уровень T_3 увеличивается в преднерестовый период. Следует отметить, что на графиках непонятны подразделения оси X, поскольку они не соответствуют началу каждого года. Для обоих видов указано, что концентрация T_3 была снижена у нерестующих особей. На самом деле такого снижения особенно не прослеживается. Оно заметно только в 2011 г; в остальные же годы оно незначительно и, скорее всего, не является значимым. Оценить эту значимость не представляется возможным, поскольку число экземпляров, анализируемых для каждой точки, не приводится. В разделе 3.3 результаты о влиянии температуры и продолжительности освещения на уровень T_3 обсуждаются с привлечением данных литературы по разным видам рыб. На самом деле, автор не измерял освещённость. Здесь правильнее было бы говорить не о продолжительности освещения или освещённости, а о длине светового дня. Анализируется корреляция между концентрацией трийодтиронина в сыворотке крови плотвы и леща, температурой воды и длиной светового дня на протяжении годового цикла. Очевидно, что если повышенный уровень T_3 наблюдался летом, то такая корреляция существует. Вместе с тем, автор не делает вывод о том, какой

фактор, по его мнению, может быть ведущим. Не принимается во внимание и тот факт, что максимальная длина светового дня (в июне) не соответствует максимальному прогреву воды: снижение длины светового дня обычно идёт на фоне повышения температуры воды.

Глава 4 посвящена описанию динамики уровня трийодтиронина в экспериментальных группах плотвы и леща на протяжении раннего онтогенеза и росту молоди в экспериментальных группах. Рисунки, в которых проиллюстрирована эта динамика, были бы более понятными, если бы наряду с возрастом от оплодотворения были отмечены стадии вылупления и перехода на экзогенное питание. Как следует из раздела 4.1.3, в котором анализируется динамика уровня тиреоидных гормонов в онтогенезе разных видов рыб, именно морфологическое состояние организма (а не его возраст) определяет этот уровень. В частности отмечено, что резкие падения уровня гормона в ТГ-группе наблюдались после вылупления предличинок и после перехода плотвы на полное экзогенное питание. В целом продемонстрирован более высокий уровень T_3 в ТГ-группах по сравнению с контролем и его снижение в ТИО-группах, которое наблюдается только в конце эксперимента. Как показали проведённые эксперименты, оболочка яйца не является барьером для проникновения гормона. Тем не менее, выражение «укреплённая водой оболочка икры (хорион)» является неудачным. Как известно, оболочка яйца включает адгезивный слой (хорион) и лучистую оболочку (*zona radiata*). В разделе 4.2, в котором описывается рост эмбрионов и молоди в экспериментальных группах, убедительно показано, что рыбы из контроля росли быстрее, рыбы группы ТГ росли несколько медленнее, а наиболее замедленный рост отмечен у рыб, содержащихся в растворе тиомочевины. Следует отметить, что на рисунках проведены линии регрессии, но соответствующие уравнения отсутствуют. Их следовало бы привести.

Глава 5, в которой анализируется влияние уровня трийодтиронина на фенотип плотвы и леща, является центральной и наиболее интересной в диссертации. Автор впервые убедительно показал, что уровень тиреоидных гормонов в организме может индуцировать возникновение гетерохроний в числе глоточных зубов, числе позвонков и числе лучей в плавниках. Таким образом, эти важнейшие таксономические признаки могут быть легко изменены. Развитие глоточных зубов плотвы и леща исследовано чрезвычайно тщательно. Большой интерес имеет обсуждение полученных результатов с привлечением данных литературы о вариабельности числа глоточных зубов в пределах ареала плотвы и леща. Справедливо отмечается, что промышленные загрязнения могут действовать на гипоталамо-гипофизарно-тиреоидную ось, индуцируя изменение меристических признаков, в частности, числа глоточных зубов. В разделе 5.1.6 анализируются эволюционные тренды формирования глоточных зубов у рыб. Этот раздел по существу выходит за рамки цели работы, но имеет большое значение для понимания возможных путей происхождения глоточных зубов у рыб.

В разделе 5.2 показано, что рыбы групп ТГ отличались от рыб контроля и групп ТИО достоверно меньшим числом позвонков, при этом уменьшение числа позвонков происходило преимущественно в хвостовом отделе. Анализируются аномалии осевого скелета в контрольных и экспериментальных группах. Автор делает вывод о том, что в основном под влиянием ТГ оказываются структуры осевого скелета, которые относительно поздно формируются в онтогенезе (хвостовой отдел и каудальный комплекс, невральные и гемальные дуги). В разделах 5.2.3 и 5.2.4 даётся анализ изменчивости числа позвонков и нарушений в развитии каудального комплекса у рыб с привлечением многочисленных данных литературы. Раздел 5.3 посвящён вариабельности числа ветвистых лучей в плавниках. Показано, что под влиянием тиреоидных гормонов это число не только меняется. Приведены чрезвычайно интересные данные о том, что особенную изменчивость проявляют брюшные плавники: у отдельных особей лучи полностью отсутствовали, а в некоторых случаях отмечена полная редукция костей тазового пояса.

В качестве пожелания следует отметить, что в экспериментах применяли воздействие гормона на весь ранний онтогенез, от оплодотворения до достижения ювенильного состояния. Вместе с тем, очевидно, что описанные гетерохронии индуцируются лишь на определённых чувствительных или «фенокритических» интервалах онтогенеза. Несмотря на то, что диссертант цитирует статью (Tåning, 1952), в которой впервые обосновывается существование таких интервалов, эта проблема в работе почти не затрагивается. Определение фенокритических интервалов могло бы составить предмет дальнейшего исследования.

Диссертационная работа А.А. Болотовского представляет собой цельное, законченное обобщение по роли тиреоидных гормонов в изменчивости фенотипа костистых рыб. По широте рассматриваемых проблем работа выходит за рамки требований, предъявляемым к кандидатским диссертациям. Результаты важны как в теоретическом плане для понимания механизмов действия гормонов щитовидной железы и их возможной роли в эволюции онтогенеза и имеют практическое значение для оценки последствий антропогенного воздействия на онтогенез рыб. Опубликованные диссертантом и его соавторами материалы уже используются в курсах лекций для студентов кафедры ихтиологии биологического факультета МГУ. Диссертация написана ясным и понятным языком и не содержит опечатки. Автореферат соответствует содержанию диссертации, а выводы отвечают поставленным задачам и подкреплены экспериментальными данными. Результаты исследований опубликованы в рецензируемых журналах рекомендуемых ВАК РФ, включая широко известные зарубежные журналы.

Рассматриваемая диссертационная работа полностью соответствует специальности

03.02.04 – Зоология. По актуальности, новизне, объёму, достоверности полученных материалов, степени обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций диссертация соответствует критериям, установленным в пунктах 9 и 10 «Положения о порядке присуждения учёных степеней» утверждённого Постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 года № 842, предъявляемым к диссертациям на соискание учёной степени кандидата наук, а её автор Болотовский Алексей Александрович несомненно заслуживает присуждения степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.04 – Зоология.

Доктор биологических наук
03.02.06 (ихтиология), 14.01.2005;
Ведущий научный сотрудник
лаборатории Онтогенеза рыб кафедры ихтиологии биологического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова»

12.05.2018



Павлов Дмитрий Александрович

Почт. адрес: 119234, Россия, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12, Биологический факультет МГУ
Тел. (495) 939 47 67;
E-mail: dimi-pavlov@yandex.ru
Site: <https://istina.msu.ru/profile/dimitripavlov/>

ПОДПИСЬ
ЗАВЕРЯЮ

Документовед



В диссертационный совет Д 002.036.02
При Институте биологии внутренних вод
им. И.Д. Папанина РАН

Я, Дмитрий Александрович Павлов, даю согласие выступить официальным оппонентом диссертации Болотовского Алексея Александровича на тему «Роль трийодтиронина в индивидуальном развитии и формировании фенотипа плотвы *Rutilus rutilus* (L) и леща *Abramis brama* (L)», представленной на соискание учёной степени кандидата биологических наук.

СВЕДЕНИЯ ОБ ОППОНЕНТЕ

1. Учёная степень, учёное звание, отрасль науки и научная специальность, по которой защищена диссертация: доктор биологических наук, доцент/с.н.с., 03.02.06 – Ихтиология.
2. Место работы (полное наименование организации): Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова», Биологический факультет.
3. Сокращённое наименование организации: МГУ имени М.В.Ломоносова, биофак.
4. Почтовый адрес организации с указанием индекса: 119234, Россия, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12, Биологический факультет МГУ.
5. Адрес официального сайта в сети Интернет: <http://www.bio.msu.ru/>
6. Название структурного подразделения: Биологический факультет МГУ, кафедра ихтиологии.
7. Должность: ведущий научный сотрудник.
8. Телефон с указанием кода города: (495) 939 47 67
9. Адрес электронной почты: dimi-pavlov@yandex.ru
10. Список основных публикаций по профилю оппонируемой диссертации в рецензируемых научных изданиях за последние 5 лет (не более 15):
 1. Pavlov D.A., Emel'yanova N.G., Luong Thi Bich Thuan, Vo Thi Ha. 2014. Reproduction of freckled goatfish *Upeneus tragula* (Mullidae) in the coastal zone of Vietnam // J. Ichthyology. V. 54. № 10. P. 893–904.

2. Павлов Д.А., Емельянова Н.Г., Во Тхи Ха, Лонг Тхи Бик Тхуан. 2015. Морфология отолитов, возраст и рост *Upeneus tragula* (Mullidae) в прибрежной зоне Вьетнама // Вопр. ихтиологии. Т. 55. № 3. С. 288–297.
3. Павлов Д.А. 2016. Дифференциация трёх видов рода *Upeneus* (Mullidae) по форме отолитов // Вопр. ихтиологии. Т. 56. № 1. С. 41–55.
4. Pavlov D.A., Emel'yanova N.G. 2016. Chapter 2. Reproductive dynamics // Fish Reproductive Biology: Implications for Assessment and Management, 2nd Edition / Eds. Jakobsen T., Fogarty M., Megrey B.A., Moksness E. Oxford: Wiley-Blackwell. P. 50–97. (ISBN: 978-1-118-75274-6).
5. Павлов Д.А., Емельянова Н.Г. 2016. Особенности размножения *Upeneus margarethae* (Mullidae) – вида, впервые обнаруженного в прибрежной зоне Вьетнама // Вопр. ихтиологии. Т. 56. № 4. С. 474–486.
6. Павлов Д.А., Емельянова Н.Г. 2018. Сравнительный анализ морфологии сперматозоидов у трёх видов рыб подотряда Scorpaenoidei // Вопр. ихтиологии. Т. 58. № 2. С. 226–238.

Д.б.н., вед. науч. сотрудник

лаборатории Онтогенеза рыб кафедры ихтиологии Биологического факультета МГУ



Павлов Дмитрий Александрович

12.03.2018 г.


