

официального оппонента Лайуса Дмитрий Людвиговича

на диссертационную работу Болотовского Алексея Александровича

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

представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по
специальности 03.02.04 - зоология

Актуальность темы диссертации

Вопросы изменчивости всегда находились в центре внимания биологов, и эти вопросы являются предметом исследования данной работы. Одним из основных факторов изменчивости является вариабельность факторов внешней среды, и для рыб это в первую очередь температура, солёность, фотопериод и кислородный режим. Влияние двух из этих факторов – температуры и фотопериода исследуется в настоящей работе. Объектом исследования являются два вида карповых рыб – плотва *Rutilus rutilus* и лещ *Abramis brama* два хорошо исследованных пресноводных вида умеренных широт. Хотя феноменология воздействия температуры и освещенности на фенотипическую изменчивость рыб изучена в достаточно большом числе работ, механизмы такого влияния известны в гораздо меньшей степени. Поэтому изучение таких механизмов, а именно роли гормонов щитовидной железы, синтез которых зависит от факторов среды и при этом регулирует морфогенез является очень актуальным.

Новизна проведенных исследований и полученных результатов

Автор считает оригинальными следующие результаты:

- Выявление значительной изменчивость уровня трийодтиронина в природных популяциях (впервые для плотвы), в том числе, впервые у карповых показан преднерестовый пик концентрации трийодтиронина.
- Впервые получены данные о влиянии тиреоидных гормонов на рост и темп развития, в частности, показано, что различия тиреоидного статуса приводят к значительным изменениям в дефинитивном состоянии таких важных таксономических признаков, таких, как число и расположение глоточных зубов, число позвонков и лучей парных плавников.

Действительно, до этой работы такая информация отсутствовала.

Степень обоснованности и значимости положений, выносимых на защиту

На защиту вынесены следующие основные положения.

1. Уровень трийодтиронина у плотвы и леща значительно варьирует в течение года. Концентрация трийодтиронина в плазме крови положительно коррелирует с температурой и освещенностью, но годовые колебания включают в себя несколько пиков, в том числе преднерестовый пик.
2. Различие в уровне трийодтиронина в течение раннего развития обуславливает значительную морфологическую дивергенцию по ключевым меристическим признакам у рыб подсем. *Leciscinae* (глоточные зубы, число позвонков, число лучей в парных плавниках).

По первому положению: Автор уделяет довольно много внимания в диссертации описанию разных пиков концентраций гормонов. Однако, если наличие посленерестового пика не вызывает сомнений, он хорошо виден у обоих видов на рис. 3.1. и 3.2., и его статистическая значимость очевидна из анализа величины ошибок средних, показанных на рисунках (хотя я не нашел результатов прямых статистических тестов, доказывающих это), то наличие преднерестового пика не столь очевидно. Статистически, он вполне очевиден только для леца в 2011 г, но в остальных случаях анализ графиков не доказывает его наличия, а результаты статистических тестов в сопровождающем тексте не приведены. При этом видна значительная межиндивидуальная изменчивость в отношении концентрации Т₃, что отмечается и автором. Особенно велика такая изменчивость в периоды быстрого изменения концентрации гормонов, каковым и является период перед нерестом. В целом, анализируя рисунки 3.1. и 3.2. мне кажется более правильным говорить не о преднерестовом пике, а о нерестовом снижении концентрации Т₃, поскольку возможное преднерестовое повышение концентрации Т₃ выглядит, скорее, не как отдельный пик, а как начало посленерестового пика, прерываемого кратковременным снижением во время нереста. Однако, в любом случае, требуется статистическое обоснование этого снижения (или, по автору, пика). Если статистическое обоснование будет представлено, но значимость описания таких эффектов представляется мне достаточно высокой.

Второе положение достаточно хорошо обосновано в материалах диссертации, и его значимость не вызывает сомнений.

Теоретическая и практическая значимость результатов, полученных в диссертации

В теоретическом отношении, результаты работы вносят существенный вклад в понимание механизмов воздействия важнейших факторов среды, таких как температура и фотопериод, на формообразование рыб. В частности, результаты работы имеют значение для понимания механизмов изменения числа сериальных элементов меристических признаков у рыб и эволюции данных признаков. Результаты изучения сезонной изменчивости концентраций Т₃, особенно в преднерестово-нерестовый период, вносят вклад в развитие эндокринологии рыб. В практическом отношении, возможно использование результатов этой работы, полученных на промысловых видах рыб, при культивировании этих и других видов рыб, в первую очередь, путем манипулирования репродуктивным циклом.

Замечания по диссертационной работе

Курсивом дается цитата из работы, комментарий оппонента – ниже обычным шрифтом. Сначала приводятся содержательные замечания, затем – замечания по стилю.

Замечания по содержанию:

С. 13: *«Благодаря фенотипической пластичности популяция может выжить в среде, изменившейся неблагоприятным образом».*

Это утверждение не вполне корректно. Правильнее было бы написать «Благодаря ненаследственной фенотипической изменчивости популяция может выжить в среде, изменившейся неблагоприятным образом», поскольку ненаследственная изменчивость – более широкое понятие, чем фенотипическая пластичность и, кроме фенотипической пластичности включает также случайную изменчивость,

обусловленную нестабильностью развития (см. теорию в Lajus D.L., Graham JH, Kozhara AV. 2003. Developmental instability and the stochastic component of total phenotypic variance. Polak M (ed) Developmental instability: causes and consequences. Oxford University Press. 2003. P. 343-363). Роль нестабильности развития (но не фенотипической пластичности!) при выживании в неблагоприятной среде обсуждается в рамках концепции *bet hedging* (Simons, A. M. & Johnston, M. O. (1997). Developmental instability as a bet-hedging strategy. *Oikos* 80, 401–406). По-видимому, во многих случаях именно случайная изменчивость, а не фенотипическая пластичность доминирует в ненаследственной компоненте изменчивости в случае морфологических признаков (Lajus et al., 2003), а также признаков жизненного цикла (Lajus D.L., Alekseev V.R. 2004. Phenotypic variation and developmental instability of life-history traits: a theory and a case study on within-population variation of resting eggs formation in *Daphnia*. *Journal of Limnology*, 63 (Suppl. 1), 37-44).

С. 32: *“При исследовании анализов была обнаружена нелинейная зависимость концентрации гормона от кратности разведения образца. Для получения истинных концентраций мы провели анализ одной пробы с различными разведениями образцов. Затем построили график зависимости концентрации от кратности разведения и получили уравнения кривой, которое использовали для вычисления концентраций ТЗ в экспериментах”*.

В чем причина этого? Без понимания причины довольно трудно быть уверенным в надежности данных.

Рис. 3.3., 4.3, 4.4. – p не может быть равной 0 при конечном объеме выборки.

Таблица 3.1.

Число степеней свободы для фактора «температура» равно 3, для фактора «освещенность» - 2, что говорит о том, что эти факторы задавались дискретно (причем в случае температуры было 4 градации, а в случае освещенности – 3). При этом как именно – непонятно. Я не нашел объяснений этого в тексте. Единственное обнаруженное замечание – что температурный режим и освещенность – одинаковые во всех группах. Судя, например, по рис. 3.3., значений факторов было гораздо больше. Они как-то группировались? Если да, то каким образом? Абсолютно непонятно.

Почему приведены данные только о некоторых взаимодействиях. Взаимодействий при таком дизайне ANOVA должно быть больше.

С. 40: *«Возможно, это связано с тем, что в период наиболее короткого светового дня (календарного) водоём покрыт льдом, и освещенность в воде сильно снижена»*.

Если уровень гормона зависит, в первую очередь, от освещенности, должно наблюдаться довольно резкое возрастание уровня гормона в период распаления льда, приводящее к резкому повышению освещенности. Причем, распаление льда может приходиться в разные годы на разные календарные сроки, что может позволить понять, влияет ли именно оно, или что-то другое. Наблюдается ли такое явление? Известно ли о нем что-нибудь из литературы?

Табл. 5.1. – очень хорошая и понятная графика. Из нее я понимаю, что разница между правой и левой сторонами состоит в том, что на левой стороне зубов просто несколько больше – это может приводить и к тому, что больше и зубных

рядов. При этом я не заметил других различий. Похоже что разница исключительно количественная, как и разница между типами В и D Накаджимы.

С. 77. «В опытах по влиянию переменного электромагнитного поля (ЭМП) на раннее развитие плотвы отмечено увеличение морфологического разнообразия, в том числе частоты встречаемости формулы 6-6 (Чеботарёва и др., 2009). Интересно, что данная формула отмечалась чаще, когда воздействие ЭМП проводили в период с начала гастрюляции до вылупления предличинки».

Необходимо отметить, что изменения зубной формулы может происходить вследствие двух процессов. Первое – изменение среднего числа зубов и второе – изменение уровня их изменчивости. В большинстве случаев, судя по результатам работы, это происходит из-за изменения среднего числа зубов. Но цитата выше говорит о том, что возможен и второй вариант. В связи с этим, мне хотелось бы отметить, что используемое описание изменений зубной формулы с использованием частоты разных вариантов (справа слева и в разных рядах) мне не представляется очень информативным из-за того, что с его использованием довольно сложно отличить эти два варианта. Возможно, имеет смысл использовать также среднее арифметическое и дисперсию, которое также могут быть достаточно информативны.

С 94: «Помимо этого, в наших экспериментах воздействие T_3 во время развития плотвы и леца приводило к увеличению числа аномалий осевого скелета».

Есть ли оценки статистической достоверности этого эффекта?

С. 94: «В эксперименте IV у леца в ТИО-группах зафиксировано статистически значимое уменьшение в Vt и в Vc относительно ТГ-группы. Причиной этого может быть ограниченное число особей в выборках из этих групп».

Я понимаю, когда отсутствие различий связано с малым объемом выборки, но как малый объем выборки может привести к достоверным различиям – не понимаю. Возможно, автор имел в виду, что результат случайно попал за пределы используемого доверительного интервала.

Замечания по стилю:

С. 9: «Доля личного участия автора в совместных публикациях пропорциональна числу соавторов». Думаю, имелось в виду, что эта пропорциональность обратная.

С. 26: «билатерально симметрическая» -

надо «билатерально симметричная».

С. 28: «Воздействие веществ продолжали до достижения дефинитивной морфологии».

и

С. 28: «Помимо экспериментов по влиянию ТГ на морфологию рыб».

«Морфология» - это, строго говоря, наука о форме. Поэтому употребление этого термина в таком контексте – это жаргон.

С. 54. Хотя развитие озубления глоточных костей у этих видов изучали ранее (Гриб, 1930; Чепракова, 1958; Белогуров, 1948), однако онтогенез глоточного аппарата реконструировали по гистологическим срезам.

Неудачная фраза.

С. 70: «В данном эксперименте вследствие высокой концентрации экзогенного гормона произошло массовое вымирание рыб на определенной стадии развития».

Термин «вымирание» обычно используется в палеонтологии. Здесь лучше – «гибель».

С. 9: «Доля личного участия автора в совместных публикациях пропорциональна числу соавторов».

Думаю, имелось в виду, что эта пропорциональность обратная.

Автореферат: С. 6: «Рыб кормили природным зоопланктоном, науплиями артемии и сухим кормом для аквариумных рыб. Зоопланктон и артемию давали в избытке».

Артемия – тоже зоопланктон.

Данные замечания не влияют на общую высокую оценку работы. Мне представляется, что наиболее важным результатом ее является то, что автору удалось показать, используя как эксперименты, так и исследования в полевых условиях, что разный статус тироидных гормонов может влиять на важные таксономические признаки карповых рыб, что раскрывает некоторые механизмы влияния факторов окружающей среды на морфологическую изменчивость. Работа написана хорошим языком и хорошо структурирована.

Диссертация соответствует квалификационным требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям и критериям, установленным пп. 9-11, 13, 14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», принятых Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 г, а ее автор, Алексей Александрович Болотовский, несомненно, заслуживает присвоения степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.04 - зоология».

Д.Л. Лайус, к.б.н.,

доцент кафедры ихтиологии и гидробиологии

Биологический факультет

Санкт-Петербургского государственного университета

16-я линия В.О. д. 29, Тел. +7(812) 3213279

Email: dlajus@gmail.com

Лайус
14.05.2018

ЛИЧНУЮ ПОДПИСЬ

Лайус Д.Л.

ЗАВЕРЯЮ



Заместитель начальника
Управления кадров СПбГУ
Н.К. КОРЕЛЬСКАЯ

Я, Дмитрий Людвигович Лайус, 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

- 1.1. Учёная степень – кандидат биологических наук
- 1.2. Учёное звание – нет
- 1.3. Отрасль науки и научная специальность, по которой защищена диссертация: 03.00.08 – Зоология.
2. Место работы (полное наименование организации): Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования "Санкт-Петербургский государственный университет».
3. Сокращённое наименование организации: СПбГУ...
4. Почтовый адрес организации с указанием индекса: Россия, 199034, Санкт-Петербург, Университетская набережная 7–9.
5. Адрес официального сайта в сети Интернет: <https://spbu.ru>
6. Название структурного подразделения: кафедра ихтиологии и гидробиологии Биологического факультета
7. Должность: доцент
8. Телефон с указанием кода города: +79217910368
9. Адрес электронной почты: dlajus@gmail.com.
10. Список основных публикаций по профилю оппонируемой диссертации в рецензируемых научных изданиях за последние 5 лет (не более 15):

- Makhrov A.A. and Lajus D.L. In press, 2018. Postglacial introduction of fish and lamprey from Pacific ocean to seas of the North Europe. Contemporary problems of Ecology.
- Rybkina E.V., Ivanova T.S., Ivanov M.V., Kucheryavyu A.V., Lajus D.L. 2017. Habitat preference of three-spined stickleback juveniles in experimental conditions and in the wild eelgrass. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom 97(7): 1437-1445. doi.org/10.1017/S0025315416000825
- Ivanova T.S., Ivanov M.V., Golovin P.V., Polyakova N.V., Lajus D.L. 2016. The White Sea threespine stickleback population: spawning habitats, mortality, abundance. Evolutionary ecology research, 17 (3): 301-315.
- Rybkina E.V., Demchuk A.S., Lajus D.L., Ivanova T.S., Ivanov M.V., Galaktionov K.V. 2016. Dynamics of parasite community during early ontogenesis of marine threespine stickleback, *Gasterosteus aculeatus*. Evolutionary ecology research, 17 (3): 335-354.
- Rybkina E.V., Ivanova T.S., Ivanov M.V., Kucheryavyu A.V., Lajus D.L. 2016. Habitat preference of three-spined stickleback juveniles in experimental conditions and in the wild eelgrass. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom. <http://dx.doi.org/10.1017/S0025315416000825>. Published online 9 June 2016.
- Bakhvalova A.E., Ivanova T.S., Ivanov M.V., Demchuk A.S., Movchan E.A., Lajus D.L. 2016. Long-term changes in the role of threespine stickleback *Gasterosteus aculeatus* in the White Sea: predatory fish consumption reflects fluctuating stickleback abundance during the last century. Evolutionary ecology research, 17 (3): 317-334.
- Lajus, D., A. Yurtseva, G. Birch, D. Booth. 2015. Fluctuating asymmetry as a pollution monitor: The Australian estuarine smooth toadfish *Tetractenos glaber* (Teleostei: Tetraodontidae). Marine Pollution Bulletin, 101(2): 758-767
- Demchuk A.S., Ivanov M.V., Ivanova T.S., Polaykova N.V., Mas-Marti E., Lajus D.L. 2015. Feeding patterns in seagrass beds of three-spined stickleback *Gasterosteus aculeatus* juveniles at different growth stages // Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom, Vol. 95, — № 08. — P. 1635-1643.
- Lajus D.L., Sukhikh N.M., Alekseev V.R. 2015. Cryptic or pseudo-cryptic: can morphological methods inform copepod taxonomy? An analysis of publications and a case study of the *Eurytemora affinis* species complex // Ecology and Evolution, 2015. — Vol. 5, — № 12. — P. 2374-2385
- Lajus, D., Katolikova, M., Strelkov, P., Hummel, H. 2015. Fluctuating and directional asymmetry of the blue mussel (*Mytilus edulis*): improving methods of morphological analysis to explore species performance at the northern border of its range // Symmetry, 2015. — № 7. — P. 488-514

- Laakkonen, H.M., Strelkov, P., Lajus, D.L., Väinölä R. 2015. Introgressive hybridization between the Atlantic and Pacific herrings (*Clupea harengus* and *C. pallasii*) in the north of Europe // *Marine Biology*, 2015. — Vol. 162, — № 1. — P. 39-54
- Yurtseva A.O., Lajus D.L., Berg A., Fjellidal P.G., Hansen T. 2014. Developmental stability in vaccinated Atlantic salmon (*Salmo salar* L.): Deformities and fluctuating asymmetry of bone structures // *Paleontological Journal*, 2014. — Vol. 48. — № 12. — P. 1266-1274.
- Lajus D., Yurtseva A., Arshavsky D. 2014. Radioactive contamination causes only minor effect on fluctuating asymmetry of two fish species from Chernobyl area // *Journal of Applied Ichthyology*, 2014. — Vol. 30, — № 4. — P. 740-745
- Yurtseva A., D. Lajus, A. Makhrov, V. Artamonova. 2014. Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) in the border of distribution range: patterns of osteological variation // *Journal of Applied Ichthyology*, 2014. — Vol. 4, — № 30. — P. 721-727.
- Laakkonen, H.M., Lajus, D.L., Strelkov, P., Väinölä R. 2013. Phylogeography of amphi-boreal fish: tracing the history of the Pacific herring *Clupea pallasii* in North-East European seas // *BMC Evolutionary Biology*, 2013. — Vol. 13, — № 67. — P. 1-16.

К.б.н., доцент
Кафедра ихтиологии и гидробиологии

Лайус Дмитрий Людвигович

Лайус

21.05.2018

