

Отзыв

официального оппонента на диссертацию Курочкиной Виктории Александровны «Внутрипопуляционная изменчивость функциональных и морфологических параметров водорослей *Contricribra weissflogii* и *Atteya ussurensis* при осмотическом стрессе», представленную к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.10 - гидробиология

Исследование процессов приспособления различных видов гидробионтов, в том числе и водорослей, к непредсказуемо меняющимся факторам внешней среды, как естественной, так и антропогенной природы, зачастую неблагоприятным для развития вида является актуальной проблемой современной гидробиологии. Существование в условиях, когда значение одного или совокупно нескольких факторов среды близки к сублетальным или летальным приводит организм или популяцию к состоянию напряжения или стресса, а факторы акклимации, позволяющие выживать в крайних условиях часто определяются внутрипопуляционной изменчивостью, связанной с динамикой отклика отдельных особей на факторы, приводящие к стрессу. Внутрипопуляционная изменчивость реакции водорослей на динамику разных факторов среды исследована крайне слабо. Соленость для морских видов водорослей является ведущим фактором среды, часто имеющим стохастическую природу, приводя к осмотическому стрессу и по разному определяя стратегию поглощения биогенных элементов и фотосинтетическую активность. В связи с этим выявление механизмов проявления неоднородности популяций отдельных видов водорослей на динамику солености среды как стрессового фактора **являются актуальными**. Этой актуальной проблеме и посвящена диссертация В.А. Курочкиной.

Автор ясно и четко формулирует **цель и задачи исследования**: анализ гетерогенности функциональных и морфологических показателей отдельных клеток в популяциях диатомовых водорослей *Atteya ussurensis* и *Contricribra weissflogii* при акклимации к гипо- и гиперосмотическому стрессу. В работе выдвигаются следующие задачи: охарактеризовать вариабельность объема и параметров флуоресценции отдельных клеток в условиях гипо- и гиперосмотического стресса при обеспеченности и недостатке биогенных элементов, на разных стадиях роста культур этих видов при накопительном культивировании в условиях монокультуры и при совместном росте двух видов.

Научная новизна исследования заключается в том, что впервые дана характеристика изменчивости параметров флуоресценции хлорофилла отдельных клеток и вариабельность их объема в популяциях диатомовых водорослей в ответ на осмотический стресс. Впервые проведено комплексное исследование влияния на степень гетерогенности функциональных и структурного показателей степени акклимации популяций к осмотическому стрессу, межвидового взаимодействия. Показано, что акклимация *Atteya ussurensis* к осмотическому стрессу была менее эффективна, чем у *Contricribra weissflogii*, а в условиях конкуренции она при всех вариантах совместного культивирования подвергалась конкурентному исключению.

Работа В.А. Курочкиной имеет определенную **теоретическую и практическую значимость**. Полученные данные о межвидовых различиях в отклике на изменения солености и о конкурентном исключении *Atteya ussurensis* при совместном

культивировании раскрывают механизмы акклиматации к осмотическому стрессу и характеризуют взаимодействия популяций разных видов диатомовых водорослей. Выявленное различие параметров флуоресценции означает различие метаболитов при акклиматации к осмотическому стрессу, что следует учитывать при разработке состава сред для выращивания культур с заданными свойствами.

Положения работы, выносимые на защиту, полностью отражают ее основные результаты, заключение и выводы. Результаты работы отражены в 4 статьях, опубликованных в рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК, положения и выводы обсуждены на 4 международных и всероссийских конференциях.

Диссертация построена по традиционному плану и состоит из введения, четырех глав, выводов и списка цитированной литературы, содержащего 223 источника, из которых 180 – на иностранных языках. Работа изложена на 131 странице и содержит 57 рисунков и 32 таблицы.

В главе 1 «Обзор литературы», состоящий из семи разделов, на основании подробного анализа публикаций, охарактеризована внутрипопуляционная изменчивость структурных и функциональных характеристик водорослей, рассмотрены возможные механизмы возникновения гетерогенности, охарактеризованы метаболические эффекты влияния стрессовых условий, механизмы осморегуляции и влияния солености на фотосинтез водорослей. Кроме функциональных реакций водорослей на стрессовые факторы среды продемонстрированы особенности формирования объема клеток у водорослей и воздействие солености воды на этот параметр у диатомовых водорослей. Изложена история изучения, а также причины возникновения функциональных и структурных различий отдельных клеток в популяции, такие как стохастичность, спонтанный мутагенез, генетическая изменчивость, эпигенетические факторы. Рассмотрен фактор солености и ее изменение в качестве стресс-фактора для одноклеточных водорослей. Описано влияние стресса и отклик на него фотоавтотрофных организмов, наиболее чувствительным сенсором у которых является состояние фотосинтетического аппарата. Рассмотрено влияние солености на фотосинтез водорослей и объем клеток диатомовых водорослей.

Глава 2 посвящена описанию объектов и методов исследования. В главе дается обоснование выбранных для культивирования двух видов морских диатомовых водорослей, планктонного эвригалинного и бентосного, способного акклимироваться к изменениям солености. Работа основана на большом фактическом материале, позволяющем адекватно оценить внутрипопуляционную изменчивость функциональных и морфологических характеристик выбранных видов диатомей в условиях раздельного и совместного культивирования при разных значениях солености и обеспеченности биогенными элементами. Общий объем проведенных экспериментов в трех сериях составил 54 опыта, которые включают 220 дат проведения измерений. Для решения поставленных задач оценивали широкий набор параметров (численность и объем клеток, содержание органического углерода в клетке, биомассу водорослей, показатели флуоресценции, интенсивность фотосинтетической фиксации углерода), которые определяли в интегральной пробе, получаемой объединением подпроб (10-100 мл в зависимости от требуемого объема) из каждой повторности варианта культуры.

Примененный автором статистический анализ позволил получить достоверные результаты, проанализировав которые сделать интересные выводы.

Глава 3. Результаты и обсуждение. Приводится описание результатов собственных экспериментов по культивированию выбранных видов водорослей в различных условиях солености, обеспеченности биогенными элементами в отсутствии и при наличии конкурирующего вида. Глава разбита на два раздела: 3.1. Изменчивость клеточных объемов и 3.2. Изменчивость параметров флуоресценции. В первом разделе дается оценка внутрипопуляционной гетерогенности объемов клеток *A. ussurensis* в условиях гипо- и гиперосмотического стрессов (подраздел 3.1.1) и при ее акклиматации к солевому стрессу в условиях совместного роста с популяцией *C. weissflogii* (подраздел 3.1.2).

Показано, что при всех значениях солености объем клетки уменьшался при дефиците биогенных элементов, что было известно ранее у других видов диатомей и может быть акклиматацией к их низкому содержанию. Четкой связи солености с величиной объема не установлено. В присутствие вида-конкурента снижение солености приводит к более равномерному распределению объемов клеток, а повышение наоборот усиливает неоднородность. Средний объем клеток в моно- и смешанной культуре не различался, а конкуренция проявлялась в подавлении роста численности при всех значениях солености.

Характеристика внутрипопуляционной гетерогенности объемов клеток *C. weissflogii* в условиях гипо- и гиперосмотического стрессов подраздел (3.1.3) и при акклиматации к солевому стрессу в условиях совместного роста с популяцией *A. ussurensis* (подраздел 3.1.4) показала, что на изменение объема клеток этого вида между фазами роста соленость также не оказала существенного влияния, а при наличии биогенов этот параметр возрастал. Установлено, в гипо- и гиперосмотических условиях усиливается неоднородность культуры по параметру объема клеток, что связано с различием механизмов акклиматации к снижению и к повышению солености, причем внутрипопуляционная гетерогенность, аналогично *A. ussurensis*, определялась преимущественно разнообразием объемов крупноразмерной фракции культуры. Установлено, что влияние солености на объем клеток этого вида проявляется в условиях конкуренции, когда двойной стресс – снижение солености и наличие конкурирующего вида уменьшает объем клетки и определяет более равномерное распределение этого параметра.

Раздел 3.2 посвящен характеристике неоднородности параметров флуоресценции *A. ussurensis* (подраздел 3.2.1) и *C. weissflogii* (3.2.3) в условиях гипо- и гиперосмотического стрессов и при солевой акклиматации в условиях совместного роста с популяцией вида-конкурента (*C. weissflogii* - 3.2.2, и *A. ussurensis* - 3.2.4).

Убедительно показано присутствие неоднородности клеток в культурах *A. ussurensis* и *C. weissflogii* по параметрам флуоресценции и ее независимости от наличия или отсутствия осмотического стресса. В условиях биогенного лимитирования в отсутствии осмотического стресса вариабельность параметров флуоресценции возрасала, а интенсивность фиксации углерода в начале культивирования возрасала в сравнении с гипоосмотическими условиями. Наличие внутрипопуляционной изменчивости физиологических параметров клеток связывается с генотипической неоднородностью

клеток в популяциях водорослей, определяемой спонтанным мутагенезом, стохастическими процессами и эпигенетическими факторами.

. Глава 4. Заключение. Результаты проведенных исследований выявили неоднородность как объема клеток, так и параметров флуоресценции отдельных клеток в популяциях диатомовых водорослей *A. ussurensis* и *C. weissflogii*. На внутрипопуляционную гетерогенность оказывают влияние как эндогенные факторы (наличие и степень выраженности стрессовых условий, межвидовое взаимодействие), так и эндогенные (видоспецифичность отклика планктонных водорослей на изменение солености, стохастические процессы). Неоднородность в пределах популяции, которая в большей степени проявляется в стрессовых условиях, показывает, что следует с осторожностью интерпретировать основную массу измерений тех или иных переменных, связанных с клеточными откликами. Работа отлично оформлена, содержит большое количество табличного материала и рисунков. Выводы диссертации хорошо обоснованы, четко сформулированы и отражают ее содержание. Автorefерат соответствует содержанию рукописи диссертации.

Как и к любой хорошей работе, имеются определенные замечания, многие из которых носят рекомендательный характер, не умаляют достоинств работы и могут быть легко устранимы.

1. Автор уверенно применяет термин «популяция» к совокупности клеток одного или разных видов водорослей, образующейся в процессе моно – или совместного культивирования в условиях лаборатории. Отличаются ли, и если да, то чем параметры природных популяций и лабораторных?
2. Литературный обзор не содержит общего заключения по главе, которое в концентрированном виде отразило бы состояние изученности вопроса и подчеркнуло актуальность исследований автора.
3. Соотношение, по которому проводили расчет биомассы водорослей, по-видимому, приведено с ошибкой (с. 39). Согласно приведенной формуле, должны быть получены единицы пг С/мл, а не мг/мл.
4. Следует указать на не информативность рисунков, на которых приведено «Распределение объемов клеток» (рис.3.4; 3.7; 3.12; 3.16; 3.20; 3.23; 3.28; 3.32). Ось абсцисс названа «Общее количество клеток», что неправильно, поскольку это просто порядковый номер измеренной клетки. На аналогичном рисунке по распределенной относительной переменной флуоресценции клеток (рис. 3.52) ось абсцисс вообще не имеет названия.
5. В работе автор рассматривает динамику и вариабельность флуоресценции при открытых реакционных центрах (Fo). При этом приводятся данные то по средней величине этого параметра (например, рис. 3.35; 3.39; 3.43), то по максимальным значениям (3.36; 3.40; 3.47). Аргументация, почему рассматриваются два параметра, в работе отсутствует.
6. Заключение к работе очень краткое. Его следовало бы расширить, подготовив, таким образом, восприятие основных выводов работы.
7. При анализе параметров исследования серий I и II из начального объема 250 мл в процессе эксперимента (35 сут.) и 13 кратном отборе подпроб (по 10 мл), объем культуры, по-видимому, постепенно снижался как в опыте, так и в контроле почти

- в 2 раза к концу опыта. Как вы считаете, влияет ли как фактор роста сам объем среды, в которой он происходит или нет? Что было бы, если бы он был постоянным, повлияло бы это на результаты, или нет?
8. В автореферате во введении есть раздел «Личный вклад соискателя», в рукописи диссертации – нет. В автореферате раздел главы 3 - 3.1. называется «Неоднородность клеточных объемов», в рукописи диссертации – «Изменчивость клеточных объемов», 3.2. «Неоднородность параметров флуоресценции», в диссертации», «Изменчивость параметров флуоресценции». Имеются опечатки, неудачные (сленговые) выражения например, «питательный» стресс (с. 116), не совсем правильное употребление терминов (экологическая ниша вида – это не только пространство в пределах которого его можно обнаружить). И совсем неправильное – «кремневый» панцирь диатомовых, вместо кремнеземного.

Таким образом, несмотря на указанные замечания, считаю, что докторская диссертация Курочкиной Виктории Александровны «Внутрипопуляционная изменчивость функциональных и морфологических параметров водорослей *Contricribra weissflogii* и *Atteya ussurensis* при осмотическом стрессе», представленная к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.10 - гидробиология, посвящена актуальной проблеме оценки внутрипопуляционной изменчивости физиологических и морфологических параметров клеток диатомовых водорослей в различных условиях солености и биогенной обеспеченности при отсутствии и наличии конкуренции. Диссертация выполнена на высоком научном уровне, по своему содержанию, предмету и методам исследования соответствует заявленной специальности. Положения и выводы работы полностью обоснованы, имеют несомненную научную новизну и практическое значение. Докторская диссертация работы полностью соответствует критериям, установленным в пунктах 9-11, 13, 14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением правительства Российской Федерации от 24.09.2013 года № 842, а ее автор, несомненно, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.10 – Гидробиология.

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского», г. Нижний Новгород, пр. Гагарина, д. 23, корп. 1, ГСП-20, 603950, Тел. 8(831) 462-32-03, e-mail: okhapkin@bio.unn.ru

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Нижегородский

университет им. Н.И. Лобачевского», Институт биологии и биомедицины, адрес: 603950, Россия, Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23; тел.: 8 (831) 462-30-90 e-mail: unn@unn.ru.

Заведующий кафедрой ботаники и зоологии

доктор биологических наук (03.02.01 – ботаника)

Подпись	<i>Охапкина А.Г.</i>
Завед. Ученый секретарь ННГУ	<i>Меркулова Е.А.</i>
Л.Ю. Черноморская	
Тел. 462-30-21	



Охапкин Александр Геннадьевич

10.04.19-

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

Я, Охапкин Александр Геннадьевич, даю согласие выступить официальным оппонентом по диссертации Курочкиной Виктории Александровны на тему «Внутрипопуляционная изменчивость функциональных и морфологических параметров водорослей *Conticriba weissflogii* и *Attheya ussurensis* при осмотическом стрессе», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.10, гидробиология.

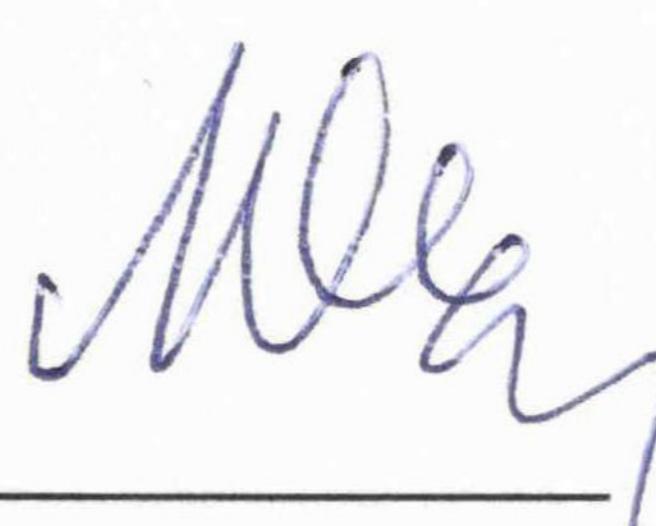
СВЕДЕНИЯ ОБ ОППОНЕНТЕ

1. Ученая степень, ученое звание, отрасль науки и научная специальность, по которой защищена диссертация: доктор биологических наук, биологические науки; специальности – экология, профессор.
2. Место работы (полное наименование организации): Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского».
3. Сокращенное наименование организации: Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского.
4. Почтовый адрес организации с указанием индекса: 603950, г. Нижний Новгород, проспект Гагарина, дом 23.
5. Адрес официального сайта в сети Интернет: <http://www.unn.ru/>
6. Название структурного подразделения: кафедра ботаники и зоологии Института биологии и биомедицины.
7. Должность: заведующий кафедрой.
8. Телефон с указанием кода города: 8-831-462-32-03.
9. Адрес электронной почты: okhapkin@bio.unn.ru
10. Список основных публикаций по профилю оппонируемой диссертации в рецензируемых научных изданиях за последние 5 лет (не более 15):
 1. Okhapkin A.G., S.I. Genkal, E.M. Sharagina, E.L. Vodeneeva. Structure and dynamics of phytoplankton in the River Oka mouth at the beginning of the 21th century // Inland Water Biology, 2014. Vol.7. No 4. P. 357-365.
 2. Генкал С.И., Охапкин А.Г. Материалы к флоре диатомовых водорослей (Centrophyceae) карстового озера Святое Дедовское (Нижегородская область) // Поволжский экологический журнал. 2014. № 3. С. 311-319.

3. Охапкин А.Г., Воденеева Е.Л., Бондарев О.О. Видовой состав синезеленых водорослей планктона Чебоксарского водохранилища (Нижегородская область) // *Algologia*, 2015. Т. 25. № 3. С. 265-277. <http://dx.doi.org/10.15407/alg25.03.265>.
4. Okhapkin A.G., Genkal S.I., Vodeneeva E.L., Sharagina E.N., Bondarev O.O. To ecology and morphology of *Thalassiosira incerta* Makarova (Bacillariophyta) // *Inland Water Biology*. 2016. Vol. 9. No 2. P. 126-134).
5. Genkal S.I., Okhapkin A.G. Plankton Centrophyceae (Bacillariophyta) of the Klyazma River (Russian Federation)// *Hydrobiological Journal*. 2016. V.52. Issue 2. P. 35-48.
6. Воденеева Е.Л., Кулизин П.В., Охапкин А.Г. О развитии инвазийного вида *Peridiniopsis kevei* Grigor. et Vasas (Dinophyta) в среднем течении р. Керженец (Нижегородская область) // Тр. Гос. природн. биосферного заповедника «Керженский». Т.8. Нижний Новгород, 2016. С. 68-72.
7. Beliakov E.A., E.V. Garin, A.G. Okhapkin. Flora of karst lakes in the Pustynsky State Nature Reserve (Nizhny Novgorod oblast)// *Biosystems Diversity*. 2017. V. 25(3)/ P/ 174-180. Doi: 10.15421/011726.
8. Gluschenko A., Kulikovskiy M., Okhapkin A., Kociolek J.P. *Aneumastus laosica* sp.nov. and *A. genkalii* sp.nov. – Two New Diatom Species from Laos (Southeast Asia) with Comments on the Biogeography of the Genus// *Cryptogamie Algologie*/ 2017. V. 38(3). P. 183-199.
9. Гусев Е.С., Перминова О.С., Старцева Н.А. Охапкин А.Г. Род *Synura* (*Synurales, Synurophyceae*) в малых городских реках Нижнего Новгорода // Новости систематики низших растений. *Novosti Sist. Nizsh. Rast.* 2017. N 51. С. 57-70.
10. Шурганова Г.В., Охапкин А.Г., Гаврилко Д.Е., Воденеева Е.Л., Кудрин И.А., Пухнаевич Д.А., Нижегородцев А.А., Гелашвили Д.Б. Современное состояние и прогноз изменения сообществ гидробионтов в зоне строительства Нижегородского низконапорного гидроузла // Самарский научный вестник. 2017. Т.6. № 4 (21).С. 103-109.

Д.б.н., проф., заведующий кафедрой
ботаники и зоологии
Института биологии и биомедицины
Нижегородского государственного
университета им. Н.И. Лобачевского.

А.Г. Охапкин



подпись

