

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу Климовой Яна Станиславовны
**«ВЛИЯНИЕ ПРИРОДНЫХ И АНТРОПОГЕННЫХ ФАКТОРОВ СРЕДЫ НА
ПОКАЗАТЕЛИ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА ДВУСТВОРЧАТЫХ
МОЛЛЮСКОВ СЕМ. DREISSENIDAE»**, представленную на соискание ученой степени
кандидата биологических наук по специальности 03.02.10 – Гидробиология

Глобальное прогрессирующее антропогенное загрязнение водной среды – серьезная экологическая проблема современного общества. Поэтому изучение его влияния на гидробионтов и пресноводные экосистемы является одной из важнейших задач современной гидробиологии. Возникает реальная необходимость разрабатывать новые информативные показатели для оценки воздействия загрязнения на биоту пресноводных экосистем, среди которых биомаркеры – один из наиболее активно разрабатываемых в для этих целей инструментов. Исследованные в представленной работе показатели оксидативного стресса моллюсков сем. Dreissenidae потенциально могут быть использованы в качестве таких биомаркеров в экотоксикологической оценке пресноводной среды. В связи с этим актуальность представленной к защите диссертационной работы Я.С. Климовой очевидна.

Основная цель рассматриваемой работы – изучение влияния экологических факторов на показатели оксидативного стресса: параметры системы антиоксидантной защиты и процессы перекисного окисления липидов и белков у пресноводных двустворчатых моллюсков *Dreissena polymorpha* и *D. bugensis*.

Для достижения поставленной цели диссертантом решался ряд задачи, который ясно и четко сформулированы, и последовательно раскрываются в тексте диссертации.

Структура работы построена по традиционному плану. Она состоит из введения, пяти глав, заключения, выводов, перечня сокращений и списка использованной литературы. Список цитируемой литературы включает 236 источника, из которых 151 – на иностранных языках.

Во «Введении» кратко изложены актуальность избранной темы исследования, степень ее разработанности, цель и задачи, научная новизна, теоретическая и практическая значимость, выносимые на защиту положения, соответствие паспорту научной специальности, личный вклад соискателя, апробация работы, публикации по диссертации, объем и структура диссертации, а также благодарности автора.

Первая глава представляет собой исчерпывающий обзор литературы. Подробно рассматриваются основные показатели оксидативного стресса: параметры системы

антиоксидантной защиты и процессов перекисного окисления липидов и белков. Даются определения понятиям «биомаркер» и «биомониторинг». Описываются механизмы функционирования системы антиоксидантной защиты и анализируется ее роль в адаптивном потенциале организма. Приводится понятие «оксидативного стресса» и подробно рассматриваются процессы перекисного окисления липидов и белков. Особое внимание уделено характеристике показателей оксидативного стресса у двустворчатых моллюсков. Приведены литературные данные о различных внешних и внутренних факторах, влияющих на вариабельность показателей оксидативного стресса в природных условиях.

Детально анализируются причины развития оксидативного стресса при гипоксии. Раскрываются основные принципы использования показателей оксидативного стресса двустворчатых моллюсков в качестве биомаркеров в экотоксикологических исследованиях. Описывается биология и экология двух видов дрейссенид: *Dreissena polymorpha* и *D. bugensis*. Автор выполняет критический анализ по теме диссертации, который служит научной основой для дальнейших исследований.

Во второй главе подробно и всесторонне описываются физико-географические, климатические и гидрологические характеристики района исследований. Показано, что станции отбора моллюсков для исследования отличаются между собой по уровню антропогенной нагрузки. Приводится таблица с данными о содержании тяжелых металлов и стойких органических загрязняющих веществ в донных отложениях в районах исследования. Дается характеристика методики анализа конкретных показателей оксидативного стресса и статистической обработки полученных данных. Применялись разнообразные методы статистического анализа. Использовался критерий U-Манна–Уитни и двухфакторный дисперсионный анализ. Следует отметить, что исследования выполнены с применением современных методов анализа, которые позволяют адекватно решать поставленные задачи.

Следующие три главы являются одними из основных в диссертации.

В третьей главе представлены результаты 3-х летних исследований параметров оксидативного стресса у *D. polymorpha* и *D. bugensis* в нормальных природных условиях. Собран и обработан значительный материал. Впервые выявлены видовые различия в показателях системы антиоксидантной защиты и процессах перекисного окисления липидов и белков у *D. polymorpha* и *D. bugensis*. Изучены половые и возрастные особенности показателей оксидативного стресса моллюсков сем. Dreissenidae. Исследована сезонная динамика показателей окислительного стресса *D. polymorpha* и *D. bugensis*.

Установлено, что исследованные виды дрейссенид различаются по показателям оксидативного стресса. У *D. bugensis* процессы ПОЛ и активность ферментов системы АОЗ, в целом, выше, чем у *D. polymorpha*. Разделение дрейссенид по полу и размеру в размерном диапазоне 15-35 мм не показало каких-либо закономерных различий по большинству исследуемых показателей, кроме ГЛТ, концентрация которого в весенний период у самок обоих видов значимо выше, чем у самцов. Однако, показатели оксидативного стресса обоих видов моллюсков подвержены сезонным изменениям. Активность антиоксидантных ферментов и содержание ГЛТ у них имеют максимальные значения в весенне-летний период года. Однако интенсивность процессов ПОЛ и ПОБ демонстрируют разнонаправленные тенденции: у *D. polymorpha* содержание МДА и КГ нарастают в весенне-летний период, у *D. bugensis* – осенью. Исследуемые показатели оксидативного стресса у обоих видов дрейссенид достаточно стабильны в течение ряда лет. Эти наблюдения значительно облегчают сбор и анализ данных при проведении экотоксикологических исследований.

Анализ полученных данных позволяет утверждать, что при использовании показателей оксидативного стресса дрейссенид в качестве биомаркеров водной среды необходимо учитывать видовую принадлежность и сезон проведения работ. При этом, моллюсков можно не разделять по размеру и полу и лишь весной у обоих видов следует учитывать половые различия в содержании ГЛТ.

Полученные автором результаты исследований о биологической вариабельности показателей оксидативного стресса дрейссенид очень важны для корректной интерпретации данных биомаркеров при их использовании для экотоксикологической оценки водной среды.

В четвертой главе Я.С. Климова поставила оригинальный эксперимент по влиянию острой гипоксии в течении 72 ч на динамику показателей оксидативного стресса у двух видов дрейссенид. Для изучения адаптивного потенциала моллюсков сем. Dreissenidae к условиям недостатка кислорода использовался комплексный подход. Чтобы характеризовать функциональное состояние организма моллюсков оценивался целый ряд показателей: смертность, поведенческая реакция – закрытие и открытие створок раковины, на физиологическо-биохимическом уровне – реакция системы антиоксидантной защиты и интенсивность процесс перекисного окисления липидов. Показано, что реакция параметров оксидативного стресса у *D. polymorpha* и *D. bugensis* на действие гипоксии различалась. У *D. polymorpha* на начальном этапе опыта (48 ч) была обнаружена инактивация КАТ, но в дальнейшем наблюдался устойчивый рост всех основных показателей оксидативного стресса за исключением активности ГСТ, которая в течение всего периода наблюдений

была стабильной. У *D. bugensis* основные исследуемые параметры не изменялись, за исключением кратковременного повышения активности GST и GP через 48 ч нахождения моллюсков в гипоксических условиях. Автор впервые определил общие принципы физиолого-биохимической адаптации на уровне системы антиоксидантной защиты *D. polymorpha* и *D. bugensis* к условиям гипоксии и связал полученные данные с общей экологической характеристикой видов.

В пятой главе исследуется реакция показателей состояния оксидативного стресса у *D. polymorpha* и *D. bugensis* на комплексное загрязнение водной среды в естественной условиях и проводится оценка эффективности этих показателей как биомаркеров антропогенного загрязнения. У *D. polymorpha* на 4-х станциях Рыбинского водохранилища с различным уровнем антропогенной нагрузки были изучены показатели системы антиоксидантной защиты, процессы перекисного окисления липидов и белков, а также содержание ТМ в их мягких тканях. Было установлено, что накопление ТМ в мягких тканях *D. polymorpha* не зависит от пола моллюсков. При этом выявлены различия в уровнях биоаккумуляции ТМ в моллюсков на различных станциях Рыбинского водохранилища: на станциях с повышенной антропогенной нагрузкой наблюдались максимальные концентрации всех измеряемых ТМ, на относительно чистой станции эти значения были минимальны. Основные параметры оксидативного стресса также имеют более высокие значения у моллюсков со станций, подверженных антропогенному воздействию. На этих станциях у моллюсков, несмотря на активацию системы АОЗ, в тканях накапливается МДА, что свидетельствует о развитии у них процессов ПОЛ. Автор установил корреляцию (R Спирмена, $p = 0.05$) между показателями оксидативного стресса и содержанием ТМ в мягких тканях *D. polymorpha* в парах: КАТ – Mn; ГЛТ – Cu; МДА – Cd. Из этого следует, что в данном случае ТМ играют важную роль в развитии процессов перекисного окисления липидов у моллюсков на станциях с высокой антропогенной нагрузкой.

Таким образом, из полученных результатов Я.С. Климова делает вывод, что, изученные биомаркеры окислительного стресса *D. polymorpha* являются чувствительными и объективными показателями антропогенного загрязнения и могут быть рекомендованы при экотоксикологической оценки пресноводных экосистем.

В следующем далее разделе «Заключение» делается краткое обобщение полученных результатов и подводится итог исследования параметров оксидативного стресса у *D. polymorpha* и *D. bugensis*. Раздел представляет собой логический переход к выводам. Выводы полностью соответствуют поставленной цели и задачам и вытекают из полученных данных.

Цели и задачи, поставленные автором, успешно решены, результаты получены на основе корректных натуральных наблюдений и лабораторных исследований, обработаны статистически, удачно проиллюстрированы и их достоверность не вызывает сомнений. Работа представляет целостное, законченное исследование.

Все этапы исследования выполнены на высоком методическом уровне и подробно описаны в диссертационной работе. Вместе с тем, при ознакомлении с диссертацией возникает несколько вопросов и замечаний:

1. Количество животных и проб тканей, использованных в экспериментах и выловленных в природных условиях, описывается в разделе Объекты и методы исследования. Вместе с тем, эта информация отдельно не представлена в некоторых таблицах (табл.3, 4) и рисунках (рис. 7-14), описывающих результаты работы, что несколько затрудняет анализ полученных данных, т.к. каждый раз приходится обращаться к методическому разделу.
2. При описании метода определения активности глутатионредуктазы (с.54) указаны разные температуры инкубации: 25 и 20-22°C. Какое из двух значений использовалось в работе?
3. Было бы более информативно, если бы в работе для определения биохимических показателей использовались не мягкие ткани в целом, а конкретные органы, например, жабры, пищеварительная железа, нога и др. Почему не использован такой подход?
4. На рис.7 и 8 нет пояснения, что указывают цифры по оси абсцисс.
5. В заголовке к таблице 6, видимо, ошибочно указаны два вида моллюсков, *Dreissena polymorpha* и *D. bugensis*, хотя, как следует из описания приведенных в таблице данных, речь идет только о *D. polymorpha*.
6. В тексте имеются некоторые технические погрешности: опечатки, пропуски букв, грамматические и орфографические ошибки.

Однако указанные замечания и вопросы не снижают достоинств диссертационной работы Я. С Климовой. По теме исследования опубликовано 3 статьи в журналах, входящих в список, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России. Результаты многократно докладывались на всероссийских и международных конференциях Автореферат отражает основные результаты диссертационного исследования.

Выполненная работа является оригинальным исследованием влияния экологических факторов на показатели оксидативного стресса двустворчатых моллюсков *Dreissena polymorpha* и *D. Bugensis*, представляет научную новизну. Практическая ценность работы – применение показателей оксидативного стресса моллюсков *D. polymorpha* и *D. bugensis* в

качестве биологических маркеров при оценке воздействия антропогенной нагрузки на пресноводные экосистемы - не вызывает сомнений.

Диссертационная работа Климовой Яны Станиславовны «Влияние природных и антропогенных факторов среды на показатели оксидативного стресса двустворчатых моллюсков сем. Dreissenidae» по актуальности, новизне, методическому уровню и научно-практической ценности соответствует требованиям согласно пунктам 9-11, 13 и 14 "Положения о присуждении ученых степеней", предъявляемых к кандидатским диссертациям, и является достойной научно-квалификационной работой, а ее автор, Яна Станиславовна Климова, без сомнения, заслуживает присуждения степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.10 – Гидробиология.

член-корреспондент РАН,
д. б. н., профессор,
заведующий отделом биогеохимии
и геоэкологии
Федерального государственного
бюджетного учреждения науки
Институт геохимии и аналитической
химии им. В.И. Вернадского РАН

Моисеенко Татьяна Ивановна

ул. Косыгина, 19, Москва, 119334.

Тел. +7 495 939 38 10

e mail: moiseenko@geokhi.ru



Моисеенко Татьяна Ивановна
Зав. канцелярией