

Отзыв

официального оппонента на диссертационную работу
**Зеленникова Олега Владимировича «Влияние процессов раннего
оогенеза на развитие воспроизводительной системы у рыб»,**
представляемую на соискание ученой степени доктора биологических наук
по специальности 03.02.06 – ихтиология

Представленная диссертационная работа посвящена изучению и уточнению одного из наиболее значимых разделов ихтиологии – репродуктивной биологии хозяйственно ценных видов рыб, прежде всего – лососевых. Однако, влияние процессов раннего оогенеза на развитие воспроизводительной системы, процессы дифференцировки пола, особенности формирования абсолютной плодовитости и т.д. у молоди лососевых и других видов рыб как в природных популяциях, так и в условиях аквакультуры, до сих пор было изучено, в основном, фрагментарно и бессистемно, несмотря на достаточное количество подобных исследований в России и в мире.

Завершённое монографическое исследование полностью соответствует Доктрине обеспечения национальной безопасности государства (в соответствии с указом Президента РФ от 30.01.2010 г. № 120) в части снабжения населения безопасной рыбной продукцией, а так же сохранения рыбопродуктивности внутренних водоёмов и водотоков.

Диссертационная работа Зеленникова Олега Владимировича выполнена на основе длительной серии экспериментов, а также на достаточном количестве собранного природного материала с применением классических методов ихтиологического исследования, современных гистологических и цитологических методик и стандартного статистического анализа, что не позволяет сомневаться в полноте и достоверности представленных результатов, которые прекрасно проиллюстрированы.

Важность для ихтиологии гистофизиологических и цитологических исследований, широко применяемых автором при изучении особенностей дифференцировки пола, формировании фонда половых клеток и последствий экспериментальных температурных и гормональных воздействий на данные процессы у молоди хозяйственно ценных видов рыб, невозможно переоценить.

Структура диссертации построена по классической схеме. Рукопись изложена на 371 странице машинописного текста, состоит из введения, 8 глав, выводов и списка литературы. Работа содержит 41 таблицу, 31 график и схему, а также 249 микрофотографий. Список цитированной литературы включает 812 публикаций – 464 русскоязычных и 348 зарубежных.

По теме диссертации подготовлено 118 публикаций – 68 статей и 50 тезисных сообщений. Из них 43 статьи опубликованы в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК.

Результаты исследования широко представлены на многочисленных Всероссийских и международных конференциях, симпозиумах, совещаниях и научных сессиях.

Автореферат в полной мере отражает структуру и наиболее значимые результаты исследований, изложенные соискателем в диссертации.

Текст диссертации и автореферата изложен высоконаучным языком, практически не содержит опечаток и пунктуационных ошибок.

Раздел **Введение** построен по стандартному плану, раскрывает актуальность, цели и задачи исследования, основные положения, выносимые на защиту, описывает и характеризует объекты исследования, раскрывает научную новизну, практическую значимость, степень разработанности научного направления, дает представление о структуре и объеме диссертации.

Актуальность исследования.

Гонадо- и гаметогенез у молоди рыб является одной из наименее изученных областей репродуктивной биологии и физиологии низших позвоночных.

Детерминация в раннем возрасте дефинитивных параметров воспроизводительной системы у круглоротых и рыб, а именно: закономерности дифференцировки пола, развитие стероидсекреторных клеток, динамика пополнения и структурирования фонда ооцитов периода превителлогенеза, аспекты влияния токсических веществ и соединений на темп развития гонад, изучению которых посвящена представленная диссертация, до настоящего времени были изучены крайне неравномерно.

Актуальность исследования не вызывает сомнений, так как обширный научный материал, представленный соискателем, позволяет в достаточной степени раскрыть и уточнить особенности развития воспроизводительной системы рыб в период раннего оогенеза.

Соискателем определена соответствующая цель исследования, сформулированы пять задач и четыре основных положения, выносимых на защиту.

Научная новизна. Автором впервые показано, что невозможен полноценный переход ооцитов в период превителлогенеза у самцов ювенильных протогинических гермафродитов, а также выявлена волновая динамика формирования фонда ооцитов периода превителлогенеза при полициклическом типе воспроизводства.

Приведены доказательства того, что в раннем онтогенезе у самок моноциклических лососевых осуществляется значительное перепроизводство половых клеток, которые в массе подвергаются резорбции, а стимулирование митотической активности гониев осуществляется пребыванием рыб в пресной воде.

Показана возможность увеличения числа половых клеток у самок полициклических рыб при стимулировании гормональным воздействием или содержанием рыб при умеренной токсичности. При этом особенно важным представляется тот факт, что подобные воздействия, оказанные до начала

превителлогенного роста ооцитов, могут привести к увеличению абсолютной плодовитости особей, а оказанные в момент начала роста ооцитов, напротив, к её уменьшению.

Выявлена степень разнокачественности в состоянии ооцитов у молоди горбуши и кеты естественного и заводского происхождения и установлена прямая связь между состоянием гонад у самок кеты в период катадромной миграции и возрастом полового созревания производителей.

Полученные результаты расширяют **теоретические представления** о закономерностях процессов формирования репродуктивной системы, особенностях дифференцировки пола у круглоротых и рыб как в природных популяциях, так и в условиях аквакультуры, и могут быть в дальнейшем использованы как фундаментальная основа для оптимизации процессов заводского воспроизводства хозяйственно ценных видов рыб, а так же для восстановления и поддержания утраченных природных популяций как аспекта сохранения природного биоразнообразия.

Материалы диссертации и сформулированные на их основе выводы могут найти **практическое** применение в работе рыборазводных предприятий при прогнозировании как непосредственных, так и отсроченных последствий внешнего воздействия на репродуктивную функцию рыб, а также в деятельности природоохранных организаций по контролю за состоянием рыбных ресурсов и разработке рекомендаций по их восстановлению и рациональному использованию.

Материалы, представленные в диссертации О. В. Зеленникова, позволяют существенно дополнить, улучшить и сделать более рациональными методы рыборазведения в части определения периодизации раннего гаметогенеза с применением спектра температурных и гормональных воздействий у молоди горбуши и кеты – основных объектов лососевого промысла и разведения. Полученный автором большой фактический материал по выращиванию радужной форели, каспийской кумжи и онежского лосося в процессе формирования маточных стад может быть успешно применен на практике при совершенствовании биотехники их заводского разведения и выращивания.

В **Главе 1 «МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ»** в достаточной степени охарактеризованы модельные объекты для проведения исследований, программа экспериментальных работ и опытов в числе 62 экспериментов (включая контроль) на молоди разных видов рыб по различным видам воздействий: гормональному, температурному и кислотному, а также география и сроки сбора материала на рыбоводных заводах и в полевых условиях.

Особое внимание автором уделено методикам обработки материала и анализа полученных данных и теоретическим аспектам и способам количественного исследования фонда половых клеток в раннем онтогенезе

Для решения обозначенных проблем соискателем успешно и в достаточной степени применены современные цито- и гистологические

методики и методы статистической обработки материала, представленные в данной главе.

Глава 2 «РАЗВИТИЕ ФОНДА ПОЛОВЫХ КЛЕТОК У КРУГЛОРОТЫХ И РЫБ В СВЯЗИ С ЕСТЕСТВЕННОЙ И ИНДУЦИРОВАННОЙ ИНВЕРСИЕЙ ПОЛА» посвящена изучению гистологического и ультраструктурного анализа развития фонда половых клеток в ходе дифференцировки пола у ювенильных протогинических гермафродитов круглоротых и рыб.

В этом разделе автор подробно рассматривает закономерности дифференцировки и инверсии пола у рыб и на основе собственных экспериментальных данных осуществляет гистологический и ультраструктурный анализ развития фонда половых клеток в ходе дифференцировки пола у ювенильных протогинических гермафродитов на примере горбуши, симы, ручьевой миноги и данно перно.

Соискателем установлено, что у самцов всех исследованных видов естественная инверсия пола завершалась не раньше, чем в гонадах всех особей появлялись ооциты периода превителлогенеза. При этом у самцов миноги, как и у самцов горбуши стероидсекреторные клетки при наличии ооцитов периода превителлогенеза не выявлялись в их оболочках. Автор предполагает, что в естественных условиях не только у самцов горбуши, но и у самцов других видов – ювенильных протогинических гермафродитов, полноценное вступление ооцитов периода ранней профазы мейоза в превителлогенез оказывается невозможно.

В разделе 2.3 данной главы соискатель рассматривает разновыраженное гормональное воздействие на инверсию пола у молоди горбуши и делает важное заключение, оформленное в отдельный вывод. А именно: применение экзогенного эстрадиола предотвращает резорбцию ооцитов периода превителлогенеза у генотипических самцов горбуши и вследствие этого, процесс естественной инверсии пола может быть остановлен на любом этапе его реализации. При этом последующие различия в состоянии гонад у таких самцов и интактных самок нивелируются, и у всех особей происходит развитие обычных яичников.

Однако автор не раскрывает, влиянием каких внутренних физиологических факторов можно объяснить то, что воздействие тестостерона (даже в максимальной концентрации) на зародышей горбуши с гонадами в индифферентном состоянии не предотвратило тотальную феминизацию гонад (раздел 2.3, стр. 64)?

И не является ли очевидным тот факт, что при воздействии тестостерона на подопытных самок горбуши у них яичники менее развиты, чем в контроле, а у самцов, напротив, по сравнению с контролем более развиты семенники (раздел 2.3, стр. 70)?

Некоторые замечания есть к оформлению иллюстративного материала главы 2. Так на рисунке 2.12 (страница 72) непонятно, какие позиции диаграммы на рисунке 2.12В выделены тремя разными цветами – различное число гониев, мейоцитов, превителлогенных ооцитов?

В подрисуночной подписи рисунка 2.13 (страница 73) для контрольной группы особей возраста 126 суток ошибочно указана буква «А» вместо «В», а для подопытной группы того же возраста – «Б» вместо «Г». Иными словами – в подписи к рисунку 2.13 нет информации о фрагментах диаграммы «В» и «Г».

В Главе 3 соискателем рассматриваются закономерности формирования фонда половых клеток у молоди круглоротых и рыб при становлении цикличности воспроизводства на примере полициклической радужной форели и моноциклических миног и тихоокеанских лососей. Установлено, что формирование фонда ооцитов при поли- и моноциклической стратегии развития в раннем онтогенезе круглоротых и рыб является принципиально сходным.

Автором впервые установлено, что при полициклие мейоциты переходят в период превителлогенеза группами, определяя волновой характер формирования фонда ооцитов, а у моноциклических круглоротых и рыб в раннем онтогенезе неизменно осуществляется формирование избыточной генерации половых клеток начальных этапов развития – гониев и ооцитов периода ранней профазы мейоза.

Особенно важным для заводского разведения моноциклических лососевых является тот факт, установленный соискателем, что тотальную резорбцию половых клеток, не вошедших в единственную генерацию ооцитов на этапах ранней профазы мейоза и начала превителлогенеза, можно предотвратить внешним эстрогенным воздействием, тем самым увеличив общий фонд половых ооцитов.

Однако непонятно, чем можно объяснить снижение темпов и показателей оогенеза при воздействии эстрадиола в серии опытов кроме как следствием зафиксированного понижения активности стероидсекреторных клеток в теке фолликулов ооцитов, если при этом не зафиксировано подобного снижения цитологических параметров и активности СК в строме гонад и СК в составе гранулезы, где секреторная активность, наоборот, возрастала? Данные закономерности описаны соискателем в разделе 3.2.2. для кижуча в возрасте от 58 суток в первой серии опытов (кроме стадии завершения дифференцировки пола).

Общий вопрос к данной главе может быть сформулирован следующим образом: Чем можно объяснить, что динамика формирования потенциальной плодовитости и состояние гонад у горбуши, а именно – меньшее количество ооцитов периода превителлогенеза, более синхронное развитие превителлогенных ооцитов, более высокая скорость роста ооцитов, несколько отличается от такового у других исследованных видов рыб (чавычи, симы, кижуча, нерки и кеты)?

Можно ли это объяснить видовыми особенностями физиологии и гормональной активности, общими особенностями экологии вида, эколого-географическими особенностями конкретной части ареала, или ещё какими-либо факторами?

Является ли особенностью расположения (в теке, гранулезе фолликулов и строме) и уровень активности стероидсекреторных клеток (СК) основным фактором (или одним из основных факторов) выявленных межвидовых различий формирования потенциальной плодовитости у разных видов рыб?

В разделе 3.2.1. (страница 97) присутствует стилистическая ошибка, полностью меняющая смысл фразы «значение тихоокеанских лососей ... трудно преуменьшить», правильное – «... трудно переоценить».

На рисунке 3.18 Б (страница 140) отсутствуют обозначения осей диаграммы и расшифровка цветовой дифференциации столбцов.

Глава 4 подробно и в достаточной степени раскрывает закономерности развития гонад и фонда ооцитов при закислении воды, влиянии пониженной температуры (на примере молоди кеты) и при воздействии других онтогенетических и эндокринных факторов (на примере горбуши).

В итоге соискателем установлено, что два фактора различной природы – кислотное и гормональное воздействия – оказали на развитие фонда ооцитов у молоди рыб сходное влияние – значительное увеличение фонда половых клеток, при условии, что воздействие оказано до перехода мейоцитов в стадию превителлогенеза. В то же время показано, что пониженная температура воды в среднесрочной перспективе не оказала заметного влияния на формирование репродуктивного фонда у самок, независимо от состояния половых желез в момент воздействия.

При этом обнаружено противоречие в том, что автор указывает в качестве выбранного экспериментального токсического воздействия пониженную кислотность воды (раздел 4.1, страница 144, абзац 3), тогда как далее речь идет о воздействии закисления, то есть о повышении кислотности воды (ацидофикации) и его воздействии на формирование фонда половых клеток у молоди рыб. Видимо, речь должна идти не о пониженной кислотности, а о пониженном pH.

В подрисуночной подписи к рисунку 4.9 (раздел 4.3, страница 97) отсутствует обозначение диаграммы «В» перед расшифровкой её легенды.

В материалах **Главы 5** соискателем на основе собственных экспериментальных данных подробно анализируются особенности раннего гаметогенеза у молоди кеты и горбуши в условиях искусственного воспроизводства. Подробно исследовано также состояние гонад у природной молоди кеты и горбуши в ходе катадромной миграции.

Одним из главных достоинств не только данной главы, но и всей диссертации в целом, является то, что соискателем усовершенствована методика анализа половой структуры у молоди горбуши (и других промысловых видов рыб) с целью повышения продуктивности производственного процесса как в условиях ЛРЗ, так и в природных популяциях.

В то же время непонятно, каким образом, и по какой методике определялся возраст (в сутках) молоди рыб, отловленной в природных водотоках? Ведь именно разновозрастным составом исследованных особей

объясняются различия в динамике гаметогенеза и состоянии гонад у молоди из природных популяций в период катадромных миграций.

Так же в разделе 5.2 автором не объясняется, какими факторами (внешними или внутренними) можно объяснить явно замедленные темпы оогенеза у единичных самок горбуши, у которых фонд половых клеток при бо́льшей навеске, чем у основной массы особей, представлен только гониями и мейоцитами в стадии зиготены? Это наблюдалось соискателем на Китовом ЛРЗ среди рыб, выращенных в экспериментальном режиме. Могут ли такие особи являться генотипическими самцами, гонады которых в силу каких-либо причин стали развиваться по пути оогенеза?

В Главе 6 соискателем доказана наиболее оптимальная температура в 15–17 °С для формирования фонда половых клеток у радужной форели.

Анализируя различия в гаметогенезе радужной форели, выращиваемой при температурах 15–17 °С и 19,5–20,5 °С, автор отмечает, что присутствует фактор возможного отрицательного воздействия на гаметогенез корма «Биомар», не предназначенного для кормления молоди при повышенных температурах (19,5–20,5 °С). Возможно, именно этот фактор приводит к нарушениям липидного баланса при оогенезе у молоди при повышенных температурах. Не корректней ли было бы в этом случае сравнивать особенности гаметогенеза у молоди форели, выращиваемой при разных температурных режимах, в условиях соблюдения оптимальных показателей других воздействующих факторов, в том числе и параметров кормления?

В разделе 6.2 представлены результаты исследований гаметогенеза каспийского лосося в условиях рыбоводного завода «Ропша», позволяющие расширить теоретическую основу искусственного формирования (воссоздания) природных популяций этого вида в Каспийском регионе. Одним из достоинств представленной диссертации является то, что полученные результаты могут быть успешно применены на практике для сохранения каспийского лосося во всех его разнообразных формах в естественном ареале обитания и при его реинтродукции в те реки, где его популяции оказались утраченными. Те же утверждения справедливы и для онежской популяции атлантического лосося (раздел 6.3).

В Главе 7 репродуктивная система рыб и развитие половых клеток как интегральный показатель ее развития, рассматриваются в аспекте исследований экологической направленности. А сам раздел имеет больше обзорный характер, несмотря на достаточное обоснование сделанных утверждений собственными материалами соискателя. Рассматриваются различные причины, механизмы и закономерности резорбции ооцитов как механизма сокращения числа клеток у различных видов рыб.

Показано что для ряда непаразитических миног массовая резорбция превителлогенных ооцитов является начальным этап формирования величины абсолютной плодовитости. А для дальневосточной сардины – вида с циклической динамикой численности, массовая резорбция превителлогенных ооцитов это естественный механизм регуляции численности.

Соискателем сделано предположение, с которым, отчасти, можно согласиться, что факторы определяющие нежизнеспособность превителлогенных и вителлогенных ооцитов, могут иметь, например, генетическую природу, а различные внешние воздействия и связанный с ним энергетический дефицит лишь ускоряют процесс их деструкции.

Глава 8 представляет собой общее заключение диссертационной работы, где подводится логичный итог всего исследования и суммируются основные результаты.

Диссертантом сформулированы десять выводов, полностью подтверждённых материалами исследования, соответствующих поставленным цели и задачам, положениям, выносимым на защиту, корректно раскрывающих основные результаты диссертационной работы.

Заключение: Диссертационная работа Зеленникова Олега Владимировича является самостоятельным завершённым научным исследованием, в котором детально исследованы различные аспекты и закономерности влияния процессов раннего оогенеза на развитие воспроизводительной системы у хозяйственно ценных видов круглоротых и рыб в условиях аквакультуры и в природных популяциях.

По своей актуальности, научной новизне, теоретической и практической значимости, содержанию и объёму проведенных исследований диссертационная работа «Влияние процессов раннего оогенеза на развитие воспроизводительной системы у рыб» соответствует требованиям, согласно пп. 9-11, 13, 14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора биологических наук, а её автор – Зеленников Олег Владимирович заслуживает присуждения искомой степени доктора биологических наук по специальности 03.02.06 – ихтиология.

Минеев Александр Константинович, старший научный сотрудник лаборатории популяционной экологии, ФГБУН Самарский федеральный исследовательский центр РАН, Институт экологии Волжского бассейна РАН, доктор биологических наук (специальность «Экология (биологические науки)» – 03.02.08).

Адрес организации: Россия, 445003, г. Тольятти, ул. Комзина, д. 10. Рабочий телефон (8482) 48-99-77. Адрес электронной почты mineey7676@mail.ru.

22 марта 2021 г.



Минеев

Минеев Александр Константинович

