

ЗАКЛЮЧЕНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО СОВЕТА Д 004.005.01,
СОЗДАННОГО НА БАЗЕ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО
БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ НАУКИ ИНСТИТУТА ЭКОЛОГИИ
РАСТЕНИЙ И ЖИВОТНЫХ УРАЛЬСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ РОССИЙСКОЙ
АКАДЕМИИ НАУК, ПО ДИССЕРТАЦИИ НА СОИСКАНИЕ УЧЁНОЙ
СТЕПЕНИ КАНДИДАТА НАУК

аттестационное дело № _____

решение диссертационного совета от 25.10.2022 г. №2

О присуждении Смирнову Георгию Юрьевичу, имеющему гражданство Российской Федерации, учёной степени кандидата биологических наук.

Диссертация «Влияние выбросов медеплавильных заводов на качество эпидидимальных сперматозоидов модельных видов грызунов» по специальностям 1.5.15. Экология (биологические науки) и 1.5.12. Зоология (биологические науки) принята к защите 15.08.2022 г. (протокол заседания №4), диссертационным советом Д 004.005.01, созданным на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института экологии растений и животных Уральского отделения Российской академии наук, адрес организации: 620144, г. Екатеринбург, ул. 8 Марта, дом 202, приказ о создании диссертационного совета № 105/нк от 11.04.2012 г.

Соискатель Смирнов Георгий Юрьевич, «01» октября 1990 года рождения, в 2012 г. окончил Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Уральский государственный аграрный университет», в 2021 году окончил обучение в аспирантуре в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Института экологии растений и животных УрО РАН, работает старшим инженером в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Института экологии растений и животных УрО РАН.

Диссертация выполнена в лаборатории экотоксикологии популяций и сообществ Федерального государственного бюджетного учреждения науки

Института экологии растений и животных УрО РАН.

Научный руководитель – кандидат биологических наук, Давыдова Юлия Алексеевна, старший научный сотрудник лаборатории экотоксикологии популяций и сообществ Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института экологии растений и животных УрО РАН.

Официальные оппоненты:

Осадчук Людмила Владимировна – доктор биологических наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Института цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», ведущий научный сотрудник сектора прикладных репродуктивных технологий человека,

Новиков Евгений Анатольевич – доктор биологических наук, доцент, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт систематики и экологии животных Сибирского отделения Российской академии наук, заведующий лабораторией структуры и динамики популяций животных дали положительные отзывы на диссертацию.

Ведущая организация Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова Российской академии наук, г. Москва, в своём положительном отзыве, подписанном доктором биологических наук, академиком РАН, заведующим лабораторией поведения и поведенческой экологии млекопитающих Рожновым Вячеславом Владимировичем и кандидатом биологических наук, старшим научным сотрудником той же лаборатории, Ерофеевой Марией Николаевной указала, что диссертация Смирнова Г.Ю. производит благоприятное впечатление и характеризует автора как состоявшегося специалиста, глубоко разбирающегося в проблеме исследований, способного решать теоретические и практические задачи на высоком методологическом уровне. Исследование Г.Ю. Смирнова вносит

существенный вклад в понимание механизмов устойчивости репродуктивных показателей самцов и прогнозирования судьбы популяций в условиях сильных токсических нагрузок. Новые результаты, полученные автором, достоверны и не только отвечают на поставленные вопросы, но и задают новые темы для исследований в этом направлении. Разработка и унификация методов исследования репродуктивных параметров мышевидных грызунов имеет очень важное значение не только для исследования степени нагрузки химического загрязнения на среду, но и для масштабного мониторинга состояния популяций грызунов в целом. Работа Г.Ю. Смирнова полностью отвечает требованиям, предъявляемым ВАК к кандидатским диссертациям, сформулированным в пунктах 9-11, 13-14 Постановления Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842 «О порядке присуждения ученых степеней», а ее автор Смирнов Георгий Юрьевич безусловно заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальностям 1.5.15. Экология и 1.5.12. Зоология (биологические науки).

Соискатель имеет 17 опубликованных работ, в том числе по теме диссертации опубликовано 12 работ, из них в рецензируемых научных изданиях опубликовано 5 работ. В работах, выполненных в соавторстве, Г.Ю. Смирнов принимал непосредственное участие в сборе и обработке материала, обсуждении полученных результатов и написании текста. Общий объем публикаций составляет 61 страницу. Наиболее значимые научные работы по теме диссертации:

1. **Смирнов Г.Ю.** Влияние промышленного загрязнения среды обитания на встречаемость аномальных сперматозоидов у рыжей полевки (*Myodes glareolus*) / Г.Ю. Смирнов, Ю.А. Давыдова // Экология. – 2018. – № 5. – С. 403–408.

2. **Смирнов Г.Ю.** Онтогенетические изменения морфологии сперматозоидов рыжей полевки (*Clethrionomys glareolus*) / Г.Ю. Смирнов, Ю.А. Давыдова // Экология. – 2020. – № 2. – С. 156–159.

3. **Smirnov G.Yu.** Inter- and intraspecific variability of morphometric parameters of rodent spermatozoa / G.Yu. Smirnov, M.V. Modorov, Yu.A. Davydova // *Zoomorphology*. – 2021. – Vol. 140. – № 3. – P. 405–418.

4. **Смирнов Г.Ю.** Подвижность сперматозоидов рыжей (*Clethrionomys glareolus*) и красной (*Cl. rutilus*) полевков в условиях промышленного загрязнения / Г.Ю. Смирнов // *Экология*. – 2022. – № 1. – С. 74–84.

На диссертацию и автореферат поступили отзывы от д-ра биол. наук Амстиславского С.Я., д-ра биол. наук Ермаковой О.В., канд. биол. наук, доц. Кравченко Л.О., д-ра биол. наук, проф. Шевлюка Н.Н., д-ра биол. наук, ст. науч. сотр. Умновой Н.В., д-ра биол. наук Савельева А.П., канд. биол. наук Быховец Н.М.

В отзывах отмечено, что диссертационная работа выполнена на хорошем теоретическом и экспериментальном уровне. Наряду с результатами важными для репродуктивной токсикологии и экологии соискателем изучены базовые характеристики сперматозоидов нескольких видов грызунов, что важно для зоологии. Несомненным достоинством работы является репрезентативная выборка животных и большое число исследованных образцов. Диссертация является завершённой научно-квалификационной работой, в которой успешно решена актуальная задача по выяснению адаптивных возможностей репродуктивной системы грызунов в условиях действия негативных техногенных факторов. В отзывах приведены следующие замечания: отмечено неудачное использование диссертантом в выводах словосочетания «показатели морфологии...», вместо «морфологические показатели»; отмечено также, что полученные диссертантом данные о незначительных изменениях сперматозоидов грызунов в условиях токсической нагрузки, возможно, связаны с использованием в морфологическом анализе только световой микроскопии (а не электронной микроскопии и/или иммуногистохимии); автором не объяснен выбор короткоживущих видов мелких млекопитающих для исследования, а не видов с большей продолжительностью жизни (например,

беличьих).

Все отзывы имеют положительное заключение. В них указано, что диссертация соответствует требованиям пунктов 9–14 Положения о присуждении ученых степеней, утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а Смирнов Георгий Юрьевич заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 1.5.15 Экология (биологические науки) и 1.5.12. Зоология (биологические науки).

Выбор официальных оппонентов и ведущей организации обосновывается их компетенцией в области диссертационного исследования, что подтверждается наличием научных работ по теме диссертации.

Диссертационный совет отмечает, что на основании выполненных соискателем исследований:

разработана новая научная идея о неодинаковой чувствительности разных показателей сперматозоидов грызунов из природных популяций к токсическому воздействию (загрязнению тяжёлыми металлами);

предложены оригинальные суждения о видоспецифичности реакции (степень выраженности и направленность изменений) эпидидимальных сперматозоидов грызунов на выбросы медеплавильных заводов, полевки (сем. Cricetidae) сильнее реагируют на загрязнение по сравнению с малой лесной мышью (сем. Muridae);

доказано, что морфология, подвижность и концентрация эпидидимальных сперматозоидов трех видов грызунов бореальной зоны (*Clethrionomys glareolus*, *Clethrionomys rutilus* и *Sylvaemus uralensis*) не зависят от варианта онтогенеза, их параметры достигают дефинитивных значений у половозрелых сеголетов и перезимовавших особей, сделан вывод о равноценном вкладе этих групп в воспроизводство популяции;

введены новые сведения о референтных (фоновых) значениях показателей эпидидимальных сперматозоидов 3 видов грызунов (*Cl. glareolus*, *Cl. rutilus* и *S. uralensis*), включая морфологические (размеры клеток, доля аномальных клеток с дефектами головки и хвоста), подвижность (доля подвижных клеток, скорость и прямолинейность движения) и концентрацию.

Теоретическая значимость исследования обоснована тем, что:

доказано, что выбросы медеплавильных заводов слабо влияют на сперматозоиды *Cl. glareolus*, *Cl. rutilus* и *S. uralensis* из природных популяций (фактор «зона загрязнения» объяснял только 9 % общей дисперсии для доли подвижных клеток и 8 % – для скорости движения клетки (VCL)). При этом на импактных участках доля аномальных клеток и подвижность изменялись однонаправленно – в сторону ухудшения качества сперматозоидов. Такая согласованность реакции на химическое загрязнение может приводить к суммации многих слабых эффектов, что делает «итоговый популяционный» эффект существенным;

применительно к проблематике диссертации результативно использован метод комплексного анализа эпидидимальных сперматозоидов. Разные способы оценки качества мужских половых клеток (в том числе с применением специализированного программного обеспечения MouseTraхх v12.3) позволяют сделать объективные и разносторонние выводы о влиянии естественных и антропогенных факторов на фертильность самцов мышевидных грызунов из природных популяций;

изложены факты видоспецифичности реакции показателей сперматозоидов исследованных видов на химическое загрязнение: полевки сильнее реагируют на загрязнение по сравнению с малой лесной мышью; выраженность эффектов уменьшается в ряду *Cl. glareolus* > *Cl. rutilus* > *S. uralensis*. Устойчивость малой лесной мыши к загрязнению может быть обусловлена особенностями ее биологии, в частности большей подвижностью и преимущественным питанием семенами;

раскрыты причины слабого проявления эффектов загрязнения. К ним можно отнести: наличие гомеостатических барьеров, в первую очередь гематотестикулярного, надежно защищающих репродуктивную функцию животных, пространственную мозаичность токсической нагрузки, подвижность грызунов, которая позволяет избегать неблагоприятных местообитаний. Кроме того, нельзя исключить, что уровень загрязнения был недостаточен для существенного сдвига репродуктивных показателей;

изучена меж- и внутривидовая изменчивость морфометрических параметров нормальных сперматозоидов. Основной вклад в изменчивость размерных признаков вносил вид животного. Доля изменчивости, связанной с принадлежностью к разным популяционным группам, оказалась незначительной (в 5–10 раз меньше индивидуальной и в 15–20 раз меньше межвидовой изменчивости). Вклад индивидуальной изменчивости в общую изменчивость был существенным, поэтому ее необходимо учитывать при формировании выборок и анализе данных;

проведена модернизация представлений, касающихся биоиндикационной роли мужских половых клеток грызунов в условиях химического загрязнения, вызванного выбросами медеплавильных предприятий: показатели подвижности эпидидимальных сперматозоидов грызунов оказались более чувствительными к загрязнению по сравнению с морфологическими параметрами, что согласуется с представлениями о консервативности клеточных структур.

Значение полученных соискателем результатов исследования для практики подтверждается тем, что:

разработаны новые универсальные методики отбора и измерения качества эпидидимальных сперматозоидов у мышевидных грызунов, результаты исследования могут быть внедрены в курсы лекций по экотоксикологии, зоологии, репродуктивной биологии;

определены подходы для оптимизации протокола анализа качества

сперматозоидов, исключены малоинформативные параметры морфологии и концентрации клеток; методы комплексного обследования сперматозоидов, апробированные для разных видов грызунов, могут стать основой для разработки универсальной схемы анализа фертильности самцов с возможностью ее использования широким кругом специалистов в области экотоксикологии, популяционной экологии и зоологии;

создана обширная информационная база, включающая данные об отловленных животных и состоящая из нескольких блоков: 1) регистрационный (место, время, способ отлова, репродуктивно-возрастной статус грызунов); 2) популяционный (численность, репродуктивно-возрастная структура популяций); 3) морфофизиологический (масса и длина тела, масса органов, различные индексы); 4) сперматологический (показатели морфологии, подвижности и концентрации сперматозоидов); 5) токсикологический (концентрации Cu, Zn, Cd, Pb в печени); 6) одонтологический (абсолютный возраст грызунов, определенный по возрастным изменениям зубов). База может служить основой для дальнейших экотоксикологических, репродуктивных, зоологических и экологических исследований;

представлены данные о влиянии химического загрязнения на потенциальную фертильность грызунов из природных популяций, которые могут быть использованы для понимания механизмов устойчивости репродуктивной функции самцов и прогнозирования судьбы популяций в условиях токсических нагрузок.

Оценка достоверности результатов исследования выявила, что:

для экспериментальных работ использовано современное аттестованное оборудование Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института экологии растений и животных (лаборатория экотоксикологии популяций и сообществ). Тяжелые металлы определяли с помощью атомно-абсорбционного спектрометра ContrAA 700 vario (Analytik

Jena, Germany) с использованием пламенного (для Cu и Zn) и электротермического (для Cd и Pb) варианта атомизации, измерения подвижности клеток осуществляли системой CEROS CASA, для оценки морфологии клеток использован микроскоп Leica DM1000 LED и цифровая камера Leica DFC 295;

выявленные закономерности изменений показателей фертильности животных из природных популяций под влиянием антропогенной нагрузки согласуются с опубликованными экспериментальными данными (Ieradi et al., 2003; Tannenbaum et al., 2003, 2007; Давыдова 2007; Давыдова и др., 2009; Miska-Schramm et al., 2014, 2017; Amuno et al., 2016);

идея диссертационного исследования базируется на анализе и обобщении имеющихся данных о влиянии тяжелых металлов (Cu, Zn, Cd, Pb) на репродуктивную систему мышевидных грызунов в условиях хронической химической интоксикации;

использованы для сравнения результаты исследований влияния химического загрязнения на состояние репродуктивной системы самцов мышевидных грызунов (в том числе на эпидидимальные сперматозоиды) из природных популяций (Tannenbaum et al., 2003, 2007, 2009, 2016; Kotula-Balak et al., 2014) и из лабораторных колоний (Miska-Schramm et al., 2014, 2017), а также данные многолетних мониторинговых исследований, включающих данные о концентрации тяжелых металлов в организмах грызунов (Мухачева, Безель, 1995; Воробейчик и др., 2006; Мухачева, 2017, 2020),

установлено качественное и количественное совпадение полученных оценок индивидуальной токсической нагрузки у грызунов из фоновых и импактных территорий с представленными в литературе, что подтверждает установленные другими авторами закономерности: животные на загрязненных территориях накапливают больше токсикантов, чем на фоновых территориях (Hunter et al., 1987; Heske, 2008; Безель, Мухачева, 2020); накопление токсикантов связано с возрастом (их концентрации выше у

взрослых животных, чем у молодых) (Rogival et al., 2007; Wijnhoven et al., 2007); разные виды/таксоны мелких млекопитающих по-разному накапливают токсиканты (Talmage, Walton, 1991; Heske et al., 2003; Schipper et al., 2008);

использованы обширные данные полевых и экспериментальных работ, обработанные с помощью современных статистических методов. Поймано 570 особей модельных видов грызунов, отловленных в ходе 5 полевых сезонов (отработано 5099 ловушко-суток), в анализ включено 307 мазковых препаратов эпидидимальных сперматозоидов, 141 определение показателей подвижности и концентрации сперматозоидов на автоматическом анализаторе спермы, выполнено более 1000 элементо-определений тяжелых металлов. Все лабораторные работы выполнены на современном аттестованном оборудовании. Статистический анализ проведен с использованием программного обеспечения STATISTICA 8 (StatSoft, 2007) и среды программирования R (R Core Team, 2021). Для оценки влияния факторов использованы *t*-критерий Стьюдента, одно- и многофакторный дисперсионный анализ, обобщенные линейные модели (GLM), иерархические модели дисперсионного анализа (Nested ANOVA). Ключевые показатели выбраны с помощью анализа главных компонент (PCA). Множественные сравнения выполнены с помощью критерия Тьюки.

Личный вклад соискателя состоит в: непосредственном участии во всех этапах исследования, в том числе в разработке общего плана исследования, формулировании целей и задач, в сборе полевого материала (отлов животных) и камеральной подготовке образцов (отбор и анализ биологических образцов, определение абсолютного возраста животных, измерение морфометрических параметров сперматозоидов, их концентрации и подвижности, пробоподготовка образцов для химического анализа), в поиске и систематизации литературных данных, в статистической обработке и интерпретации экспериментальных данных, подготовке публикаций по выполненной работе и представлении результатов на научных конференциях,

написании диссертационной работы.

В ходе защиты диссертации были высказаны следующие критические замечания:

1. Д-р биол. наук, проф., акад. РАН В.Н. Большаков: Вы постоянно используете термин «популяционные группы», поясните, что это за группы? Как Вы их выделяете? Кто придумал этот термин, разъясните, пожалуйста.

2. Д-р биол. наук, проф. В.С. Безель: Исходные данные, которые были предпосылками Ваших исследований, это экспериментальные данные, где в строго контролируемых условиях при известной дозе токсикантов наблюдали дефекты. Очевидно, заслуживает одобрение то, что Вы попытались это всё перенести на природные популяции животных. Скажите, наблюдали ли Вы тот же перечень морфологических дефектов сперматозоидов, или Вы обнаружили какие-то новые формы дефектов у грызунов из природных популяций, которых не обнаруживали раньше у лабораторных животных? И еще один вопрос, способны ли к оплодотворению сперматозоиды с морфологическими дефектами?

3. Д-р биол. наук, проф. С.А. Шавнин: У каждого животного (самца) для измерения уровня загрязнения Вы отбирали одновременно и сперматозоиды, и печень. Доза (нагрузки) может определяться как уровень накопления токсикантов в печени, а эффект – как характеристики сперматозоидов. И хотя содержание токсикантов меняется в определённом диапазоне, я не увидел графиков, демонстрирующих зависимость дозы-эффекта.

Соискатель Смирнов Г.Ю. ответил на задаваемые ему в ходе заседания вопросы и привёл собственную аргументацию:

1. Ответ на замечание д-ра биол. наук, проф., акад. РАН В.Н. Большакова: Под популяционными группами мы понимали репродуктивно-возрастные или функционально-физиологические группы (согласно определению Г.В. Оленева). Все перечисленные названия этих групп

валидны и отражают структуру популяций, состоящих из сеголеток и перезимовавших особей.

2. Ответ на замечание д-ра биол. наук, проф. В.С. Безеля: Спектр дефектов сперматозоидов зависит от задач исследователя и используемых им методик, которые, в свою очередь, не унифицированы. Например, исследователи могут выделять до 10 вариантов дефектов головок и при этом не рассматривать дефекты хвоста. Каких-то новых дефектов половых клеток, которых не наблюдали у грызунов в лабораторных экспериментах, я не обнаружил. Вообще, в природных популяциях, величина дефектов сперматозоидов крайне мала по сравнению с величиной, определяемой у лабораторных животных. Морфологические дефекты клеток действительно влияют на оплодотворение, поскольку они могут не обладать подходящей подвижностью. Они не смогут оплодотворить яйцеклетку, а различные дефекты головок (дефекты акросом, макро-, микроцефалия) могут свидетельствовать о фрагментации ДНК, и соответственно, снижать процент беременных самок, влиять на ранние летали (повышать доимплантационные потери).

3. Ответ на замечание д-ра биол. наук, проф. С.А. Шавнина: Мы показали связь между уровнем накопления токсикантов в печени и показателями сперматозоидов в виде корреляций, а не в виде графиков дозы-эффекта.

На заседании 25.10.2022 диссертационный совет принял решение:

за решение научной задачи, имеющей значение для развития экологии и зоологии в целом и понимания процессов, связанных с функционированием репродуктивной системы млекопитающих в условиях химического загрязнения в частности, присудить Смирнову Г.Ю. учёную степень кандидата биологических наук.

При проведении тайного голосования диссертационный совет в количестве 23 человека, из них 8 докторов наук по специальности 1.5.15.

Экология (биологические науки) и 7 докторов наук по специальности 1.5.12. Зоология (биологические науки), участвовавших в заседании, из 25 человек, входящих в состав совета, дополнительно введены на разовую защиту 0 человек, проголосовали: за – 23, против – 0, недействительных бюллетеней – 0.

Председатель диссертационного совета

Д-р биол. наук, чл.-корр. РАН

Смирнов Николай Георгиевич



Учёный секретарь диссертационного совета

канд. биол. наук

Золотарёва Наталья Валерьевна



Дата оформления заключения 26.10.2022

