

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор
Федерального государственного
бюджетного учреждения науки
Института проблем экологии и
эволюции им. А.Н. Северцова
Российской академии наук
член-корреспондент РАН д.б.н.
С.В. Найденко

« 05 »

2022 г.
М.П.



ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ
на диссертационную работу Смирнова Георгия Юрьевича
«Влияние выбросов медеплавильных заводов на качество эпидидимальных
сперматозоидов модельных видов грызунов», представленную на соискание
ученой степени кандидата биологических наук по специальности
1.5.15. Экология, 1.5.12. Зоология.

Исследование влияния химического загрязнения на потенциальную фертильность животных – одно из наиболее актуальных и активно развивающихся направлений современной экологии. Устойчивость популяций млекопитающих к токсической нагрузке во многом определяется эффективностью воспроизводства, поэтому его различные параметры, в том числе показатели репродуктивной системы, всегда привлекали внимание экотоксикологов. Знание о влиянии экотоксикантов (в том числе тяжелых металлов) на потенциальную фертильность животных из природных популяций важны для понимания механизмов устойчивости репродуктивных показателей самцов и прогнозирования судьбы популяций в условиях сильных токсических нагрузок. Несмотря на это, до сих пор нет отработанных и четко структурированных протоколов исследования репродуктивных показателей для исследования млекопитающих в районах подверженных химическим загрязнениям. Экотоксикологические аспекты функционирования репродуктивной системы самцов исследованы фрагментарно даже у хорошо изученных видов мышевидных грызунов, а устойчивость различных ее параметров к действию экотоксикантов (в том числе тяжелых металлов) до сих пор дискуссионна. Как следствие разработка и унификация методов исследования репродуктивных показателей млекопитающих в природных популяциях подверженных химическим загрязнениям представляется чрезвычайно важным для мониторинга и прогнозирования состояния таких популяций. Единый протокол исследования позволит проводить масштабный

Общий отдел ИЭР
Уро РАН
Вх. № 187
От 10.05.2022

мониторинг млекопитающих на территориях подверженных химическим загрязнениям и оценивать уровень нагрузки токсикантов на эти популяции. Именно в этом направлении выполнена диссертационная работа Георгия Юрьевича Смирнова, в которой он проводит детальный анализ репродуктивных показателей у мышевидных грызунов на территориях двух крупных медеплавильных заводов, используя все современные методы исследования этих параметров, и предлагает свой подход к оптимизации протокола исследования репродуктивных показателей у мышевидных грызунов.

Диссертация (175 с. текста, 23 рисунка и 22 таблицы) состоит из введения, 7 глав (обзора литературы, раздела материалы и методы исследования, и 5 глав описывающих полученные результаты и их обсуждение), заключения, выводов и списка литературы, который включает 352 источника, из них 225 на английском языке.

В первой главе Г.Ю. Смирнов описывает историю возникновения экотоксикологии, как самостоятельного направления экологии. Показывает современное состояние дел в изучение влияния химического загрязнения на сперматозоиды млекопитающих. Исследования сперматозоидов животных из природных популяций вообще малочисленны, тем более они редки в контексте исследования влияния химического загрязнения на репродуктивные показатели животных. В подавляющем большинстве такие исследования представляют собой лабораторные эксперименты с использованием затравки отдельными токсинами. При этом величину измерения параметров сложно интерпретировать (поскольку нет референтных значений) и такие исследования редко исследуют весь комплекс параметров сперматозоидов, чаще всего – только морфологию половых клеток.

Во второй части первой главы автор описывает современные методы анализа сперматозоидов. С учетом того, что данная работа во многом носит методологический характер – это очень важный раздел литературного обзора. Г.Ю. Смирнов убедительно показал свою осведомленность в современных методах анализа репродуктивных показателей самцов млекопитающих. Однако на мой взгляд эта часть литературного обзора слишком сильно перегружена перечислением методов, которые никак не используются в данной работе и нигде не обсуждается их преимущества и недостатки. При этом описанию метода (CASA (computer-aided sperm analysis) – автоматическое измерение морфологии, подвижности и концентрации сперматозоидов), который автор использовал в работе, посвящен отдельный подраздел, больше напоминающий хороший рекламный проспект, а не часть литературного обзора. Подробное описание использованных методов, в том числе их преимуществ и недостатков все-таки должно быть отражено в разделе *Материалы и методы исследования*.

Вторая глава диссертационной работы посвящена детальному описанию материалов и методов исследования. Очень подробно описаны 2 района, где проводились исследования по влиянию химического загрязнения на репродуктивные показатели самцов мышевидных грызунов. Приведено биотопическое описание местности, показаны данные по количеству выбросов токсинов в этих районах, обоснован подход к принципу выделения участков с фоновым и импактным загрязнением (однако не хватает количественной оценки степени загрязнения этих участков). Приведена характеристика исследуемых видов мышевидных грызунов – рыжей полевки (*Clethrionomys glareolus* Schreber, 1780) и красной полевки (*Clethrionomys rutilus* Pallas, 1779) подсемейства Arvicolinae семейства Cricetidae, и малой лесной мыши (*Sylvaemus uralensis* Pallas, 1811) подсемейства Murinae семейства Muridae. Г.Ю. Смирнов хорошо обосновывает, почему эти виды выделены как модельные для данного исследования. Подробно описан способ отлова, содержания и обследования животных. Показана структура и численность исследуемых популяций. Отдельно хотелось бы отметить описание методов исследования всех репродуктивных показателей самцов мышевидных грызунов. Этот раздел написан понятным языком, а подробность изложения позволяет любому исследователю полностью воспроизвести данное исследование.

Однако есть и критическое замечание к данному разделу. Описание объема и структуры выборки представлено таким образом, что даже после нескольких прочтений очень сложно понять каких животных и на каких этапах исследования использовали в данной работе. В начале (2.3 *Отлов, содержание и обследование грызунов*) Г.Ю. Смирнов пишет, что отлов проводили в районах СУМЗ и КМК в 2018–2021 гг. и указывает объем выборки. Эти районы очень хорошо представлены в диссертации, показана структура исследуемой популяции, очень подробно описано, как и на каком этапе работали с этими животными. Но далее оказывается (подраздел 2.6.3 *Объем и структура выборок*), что для исследования меж- и внутривидовой (популяционной и индивидуальной) изменчивости морфометрических показателей сперматозоидов были использованы животные с совершенно других, незагрязненных, территорий Среднего и Южного Урала, отловленных в 2007-2016 гг. При этом автор упоминает об этом вскользь и не приводит никаких подробностей характера районов отлова и структуры популяции животных, не приводит описания методов работы с животными. Онтогенетическую изменчивость морфологических показателей сперматозоидов исследовали на примере рыжей полевки с фоновых территорий одного из исследуемых районов, однако на выборке животных, отловленных в 2007-2017 гг. Тогда как исследования, связанные с влиянием химического загрязнения на репродуктивные показатели самцов, по словам Г.Ю. Смирнова, были

проведены на «основной» выборке. Однако и в этой части работы для разных показателей было использовано разное количество животных. Например, для оценки влияния химического загрязнения на морфологические показатели сперматозоидов исследовали только на рыжей полевки ($n = 55$), отловленной в 2014 и 2016 гг. в районе СУМЗ; влияние химического загрязнения на встречаемость аномальных сперматозоидов исследовали у всех трех модельных видов ($n = 141$), отловленных в 2018–2020 гг. в районах СУМЗ и КМК и т.д. При этом автор никак не обосновывает такой подход. В подразделе 2.8 *Измерение концентраций металлов в организме* в исследуемой выборке появляются самки, однако в тексте отсутствует объяснение, с какой целью они были включены в этот анализ.

Главы с третьей по седьмую посвящены собственным результатам и их обсуждению. Третья глава диссертации посвящена детальному анализу морфологических показателей сперматозоидов: естественной изменчивости (меж- и внутривидовой, а также онтогенетической изменчивости) и влиянию химического загрязнения на морфологические показатели сперматозоидов. Благодаря детальному анализу меж- и внутривидовой, а также онтогенетической изменчивости, проведенному, по-видимому, на «не основной» выборке, показано какие факторы необходимо учитывать при анализе влияния химического загрязнения на морфологические показатели сперматозоидов, а какими можно пренебречь. Г.Ю. Смирнов убедительно показал, что вид, индивидуальная и онтогенетическую изменчивость вносят существенный вклад в размерные признаки сперматозоидов. Тогда как популяционной изменчивости можно пренебречь. Затем автор анализирует «основную» выборку, опираясь на выделенные им значимые факторы, показывая слабое влияние химического загрязнения на морфологические показатели сперматозоидов у мышевидных грызунов.

Четвертая и пятая главы построены по единой схеме. В начале Г.Ю. Смирнов выявляет референтные значения подвижности и концентрации сперматозоидов у грызунов с фоновых участков, сопоставляет их с литературными данными. Затем, опираясь на эти данные, анализирует всю «основную» выборку, оценивая влияние химического загрязнения на показатели сперматозоидов. Эти характеристики качества спермы мышевидных грызунов также были слабо подвержены химическому загрязнению. Однако остается не ясным, почему автор не использовал для определения референтных значений выборку животных, выловленных на незагрязненных территориях, как это было сделано при анализе морфологических показателей? Также Г.Ю. Смирнов, обсуждая межвидовые различия в характеристиках сперматозоидов (на протяжении 3-5 главы), очень часто предполагает, что они могут быть связаны с разной степенью конкуренции, при этом даже

не пытаются проанализировать, а на сколько сильно различаются репродуктивные стратегии у исследуемых видов?

Шестая глава рассматривает влияние индивидуальной токсической нагрузки на сперматозоиды. Г.Ю. Смирнов приводит очень подробный анализ факторов накопления тяжелых металлов грызунами и сравнивает индивидуальную степень накопления тяжелых металлов с качеством сперматозоидов у мышевидных грызунов. У рыжей и красной полевок была показана слабая отрицательная связь между концентрацией токсичных элементов и подвижностью сперматозоидов.

В последней, седьмой, главе автор исследует связи между морфологией, подвижностью и концентрацией сперматозоидов. Такой комплексный анализ показателей сперматозоидов представляется важным, поскольку позволяет оценить согласованность их изменений под влиянием загрязнения. Согласованность реакции на загрязнение была обнаружена только у одного вида, *Cl. glareolus*, однако, несмотря на статистическую значимость, все обнаруженные эффекты оказались слабыми.

В целом, все главы, посвященные собственным результатам и их обсуждению, написаны понятным языком и очень хорошо структурированы. Г.Ю. Смирнов демонстрирует очень высокий уровень анализа полученных результатов и знания изучаемой проблематики. Им проделана титаническая работа по апробации существующих и разработке собственных подходов к исследованию репродуктивных показателей самцов мышевидных грызунов. Благодаря чему автору удалось показать связь некоторых показателей спермы у грызунов с химическим загрязнением. Несмотря на то, что в основном эти эффекты проявлялись слабо, обнаруженная однонаправленность может суммировать эти эффекты и приводить к существенным изменениям в репродукции таких видов.

Раздел Заключение суммирует все полученные автором результаты, а Выводы соответствуют поставленным задачам.

В целом представленная диссертация производит весьма 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. Выявленные недостатки не влияют на результаты исследования, а замечания легко могут быть устранены и носят, в основном, редакторский характер.

Основные положения диссертации отражены в 12 научных работах, из них 5 статей в журналах из Перечня ВАК. Содержание автореферата соответствует содержанию диссертации; выводы обоснованы.

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, 1.5.12. Зоология.

Отзыв на диссертацию и автореферат заслушан, обсужден и утвержден на заседании лаборатории поведения и поведенческой экологии млекопитающих ИПЭЭ РАН, протокол заседания №4 от 28 сентября 2022г: присутствовали на заседании 22 человека, результат голосования: «ЗА» – 22 человека, против и воздержавшихся – нет.

Отзыв составил:

старший научный сотрудник
лаборатории поведения и поведенческой
экологии млекопитающих ИПЭЭ РАН
кандидат биологических наук

erofeevamariya@yandex.ru

Ерофеева Мария Николаевна

Председатель заседания лаборатории,
заведующий лабораторией поведения и
поведенческой экологии млекопитающих ИПЭЭ РАН
академик РАН

rozhnov-v-2015@yandex.ru

Рожнов Вячеслав Владимирович

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова Российской академии наук (ИПЭЭ РАН)

Адрес: Россия, 119071, Москва, Ленинский проспект, д. 33

Телефон: 8 (495) 633-09-22, E-mail: admin@sevin.ru; www.sev-in.ru



Подпись
Заведующий, зав. канц. ИПЭЭ РАН
"30" 09 2022г.