

ОТЗЫВ

официального оппонента Татьяны Борисовны Голубевой
на диссертацию Юлии Павловны Сапожниковой

«МОРФО-ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СЛУХОВОГО АППАРАТА У НЕКОТОРЫХ ВИДОВ РЫБ ОЗЕРА БАЙКАЛ В СВЯЗИ С ОСОБЕННОСТЯМИ ИХ ОБРАЗА ЖИЗНИ»,

представленной к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук
по специальности 03.02.06 - "ихтиология" в диссертационный совет Д 501.001.53
при Московском государственном университете имени М.В. Ломоносова

Актуальность работы и новизна полученных результатов.

Морфофункциональные характеристики слуховой системы рыб изучены хуже, чем у других классов позвоночных. Особенно актуальным остается вопрос о структурно-функциональных особенностях периферического отдела слуховой системы рыб в связи с акустически направляемым поведением. Цель работы определена как исследование ультраструктурных и функциональных особенностей периферического отдела слуховой системы байкальских рыб в зависимости от особенностей их экологии. Работа имеет большое теоретическое и практическое значение, и ее актуальность несомненна. Диссертация Ю.П.Сапожниковой – обширное многогранное исследование, решающее задачи сравнительного морфо функционального анализа основного отдела периферической слуховой систем – саккулюса, его сенсорного эпителия, его оттолита (сагитты) у рогатковидных и сиговых видов рыб, обитающих в различных экологических условиях. Рогатковидные и сиговые рыбы Байкала представляют отличный материал для сравнительного изучения адаптивных особенностей слуховой системы, поскольку четыре вида рогатковидных представляют спектр обитания от прибрежно-донных до вторично пелагических, среди 3х видов сиговых байкальский омуль имеет придонно-глубоководные и пелагические морфо-экологические группы, а сиг-пыжьян – мелководный озерно-речной. Кроме того, исследовали искусственно полученный гибрид сига-пыжьяна и байкальского омуля. Структура саккулюса и аудиограммы всех этих видов описаны впервые, тем самым работа обладает абсолютной новизной. У выбранных видов детально исследован сенсорный эпителий саккулярной макулы, строение рецепторного аппарата волосковых клеток и особенности их ориентации. Впервые показано, что особенности поляризации волосковых клеток саккулюса и его дирекционная чувствительность предопределены особенностями поведения данного вида. У исследованных видов на основании строения рецепторного аппарата выделены морфотипы волосковых клеток, критерием выделения являются длины киноцилии и стереоцилий. Экспериментально, с помощью разрушения клеток звуком определенной частоты и большой интенсивности, показано, что волосковые клетки с короткими стереоцилиями настроены на высокие частоты.

Механизм, позволяющий рыбам воспринимать звуковые сигналы, обусловлен прежде всего наличием оттолита. Описана морфология взаиморасположения саккулярной

макулы и оттолита, рассмотрены особенности формирования отолитов. Различными методами, в том числе рентгеновской фотоэлектронной спектроскопии и атомно-силовой микроскопии, исследованы химический состав саккулярных отолитов и их топография. Сделаны первые шаги в определении механизмов образования модификаций карбоната кальция, образующего отолит. Изменение процессов формирования отолита приводит к полиморфизму карбоната кальция - арагонита, ватерита или кальцита. Впервые показано, что арагонитовые отолиты байкальских рыб имеют преимущественно игольчатую топографию, а ватеритовые - аморфны.

Исследована акустическая чувствительность байкальских рыб, причем разработаны приемы, позволяющие оценивать одиночное и стайное поведение разных видов в эксперименте под воздействием акустических сигналов. Определены частотные диапазоны максимальной акустической чувствительности, построены аудиограммы для ряда видов рыб.

Обоснованность научных положений безупречна. В результате показано, что у рыб, обитающих в мелководной части Байкала, в саккулусе имеются преимущественно волосковые клетки с короткими стереоцилиями, воспринимающие относительно высокочастотные звуковые колебания, что подтверждается их аудиограммами и экспериментальным разрушением клеток, воспринимающих высокую частоту. У пелагических рыб преобладают клетки с высокими стереоцилиями, что обеспечивает восприятие низких частот. Большую роль в определении диапазона и максимальной чувствительности играет форма и размер отоконий отолита. У прибрежного бентического вида – каменной широколобки – и у бентопелагического вида – северобайкальской желтокрылки – выявлено доминирование вертикальной морфологической поляризации волосковых клеток. На саккулярной макуле сиговых рыб и голомянок горизонтальная ориентация волосковых клеток превалирует над вертикальной. Предполагается, что дирекционная чувствительность саккулуса у рогатковидных и сиговых рыб обусловлена особенностями морфологической поляризации волосковых клеток и предопределяет особенности их акустического поведения.

Структура и объем диссертации. Сама работа построена гармонично. Диссертация изложена на 160 страницах, состоит из Введения, 6 глав, заключения, выводов, списка литературы (268 источников, 160 из них на иностранных языках) и приложения. Главы, описывающие результаты работы, содержат детальное обсуждение. В приложении приведены алгоритмы анализа поведения рыб при звуковом воздействии. Диссертация содержит 8 таблиц и 58 рисунков, включающих 98 микрофотографий хорошего качества.

В разделе "Введение" приведено обоснование актуальности темы диссертации, четко сформулированы цель и задачи исследования, дано описание научной новизны, практической ценности работы, приведены основные положения, выносимые на защиту. Обзор литературы свидетельствует о высоком профессионализме автора, содержит сведения о слуховой системе рыб, роли слуха в их поведении и общие сведения о

рогатковидных и сиговых видах рыб, использованных в исследовании. Особенно впечатляют сведения о состоянии исследования слуха рыб в России по сравнению с таковым в мировых лабораториях. Исторический экскурс в середину прошлого века показывает, насколько сократилось число таких работ (что справедливо и в отношении изучения слуха других животных). Тем большую актуальность имеет диссертация Ю.П. Сапожниковой, и очень радует, что в Иркутске эти работы ведутся.

Профессионально и лаконично написана Глава 2 - Материал и методы. Главы 3 и 4 посвящены доскональному исследованию морфологии саккулярного аппарата рогатковидных и сиговых рыб соответственно. Описание типов волосковых клеток, их ориентации, данные о плотности распределения клеток для изученных автором видов, как уже было сказано, имеют приоритет несомненной новизны, а тщательность этого описания в совокупности с данными о структуре отолитов, изложенные в Главе 5, способствует пониманию механизма работы саккулярного органа. Убедительно показано, что вариабельность формы отолитов (продолговатой у прибрежных видов и объемной грибовидной у пелагических) имеет приспособительное значение и вызвана дирекционной чувствительностью, соответствующей месту обитания. В Главе 6 приведены данные о слуховой чувствительности исследованных рыб, полученные оригинальным методом как для одиночных особей, так и рыб в стае. Заключение обоснованно подводит итог работы. Рогатковидные и сиговые рыбы озера Байкал отличаются высокой пластичностью к действующим акустическим факторам среды обитания, а возникающие при этом адаптации формируются, прежде всего, на ультраструктурном уровне периферического отдела слуховой системы. Морфологические различия слухового саккулярного аппарата байкальских рыб отражают функциональные характеристики слуха: высота стереоцилей связана с частотно пороговыми характеристиками, ориентация стереоцилий может участвовать в определении направления источника акустических сигналов в воде.

Диссертация прекрасно иллюстрирована, материал статистически обработан. Выбор объектов исследования представляется оптимальным. Автореферат четко отражает содержание диссертации.

Автор непосредственно принимала участие в планировании этого многогранного исследования, ей полностью принадлежит формулировка и решение поставленных задач, обобщение результатов и обоснование примененных методов. Результаты работы изложены в 30 печатных работах, включая 6 статей в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК и доложены на многочисленных всероссийских и международных конференциях в 2003 - 2015 годах.

Серьезных замечаний у меня нет.

Разделы 3.1 и 4.1 озаглавлены: "Ультраструктура волосковых клеток саккулярного эпителия" – под ультраструктурой клетки обычно понимают структуру всей клетки.

Несмотря на то, что в работе есть данные трансмиссионной электромикроскопии, речь все-таки и там идет об ультраструктуре рецепторного аппарата волосковых клеток.

Таблицы в работе очень информативны. Но в таблицах 3 и 4 непонятно, какое значение имеет индекс "Отношение площади макулы к средней длине (TL) особей в выборке". Делим среднюю площадь макулы (мм^2) на TL (мм) и получаем некую совсем среднюю ширину макулы, которая может представлять интерес при сравнительном анализе. Если это так, тогда у этого показателя должна быть размерность - мм.

Рисунок 52, стр. 117 важен, но его трудно читать. Цветные значки лучше, чем черно-белые, но отчего бы и линии, значки соединяющие, не покрасить тем же цветом? Возможно, рисунок лучше бы читался, если бы ось абсцисс была логарифмической, что принято для аудиограмм представителей других классов позвоночных.

Работу Ю.П. Сапожниковой отличает актуальность поставленных проблем, адекватная методическая оснащенность и высокая эрудиция автора. Результаты работы следует широко использовать (собственно, они уже используются) в курсах лекций по зоологии, физиологии, и поведению животных для студентов университетов. Научная значимость представленных результатов, безукоризненная доказательность выводов, глубина анализа материала позволяют утверждать, что работа по своему объему и углубленному изучению затронутых проблем превышает требования, предъявляемые к кандидатским диссертациям.

Заключение. Диссертационная работа соответствует критериям, установленным "Положением о порядке присуждения ученых степеней" от 23.09.2013 №842 (пункт 9), а ее автор Юлия Павловна Сапожникова заслуживает присуждения степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.06 - ихтиология.

Ведущий научный сотрудник Кафедры зоологии позвоночных Биологического факультета
Московского Государственного Университета имени М.В. Ломоносова,
84959392757, tbgolubeva@list.ru
доктор биологических наук

T. B. Golubeva

Т. Б. Голубева

Подпись руки Т.Б. Голубевой заверяю
декан Биологического факультета, академик
М.П. Кирпичников

12.05.2016г.



M. P. Kirpichnikov

Let

В диссертационный совет Д 501.001.53
при Московском государственном
университете имени М.В. Ломоносова

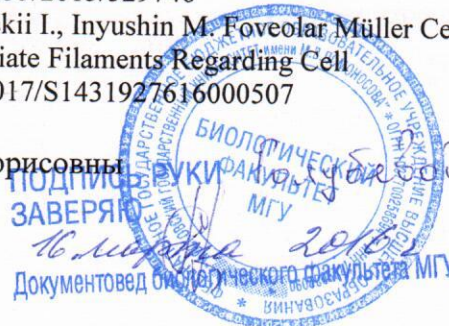
Сведения об официальном оппоненте по кандидатской/докторской диссертации *Сапожниковой Юлии Павловны «Морфофункциональная характеристика слухового сакулярного аппарата у некоторых видов рыб озера Байкал в связи с особенностями их образа жизни»*

Фамилия, имя, отчество (полностью)	Голубева Татьяна Борисовна
Ученая степень, отрасль науки, шифр и наименование научной специальности	доктор биологических наук, биологические науки, 03.02.04 (зоология)
Ученое звание	Ст. научн сотр. /доцент
Место работы, занимаемая должность	Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В Ломоносова» (ФГБОУ ВО) «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»), ведущий научный сотрудник кафедры зоологии позвоночных
Адрес почтовый учреждения	119991, Российская Федерация, Москва, Ленинские горы, д. 1, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова
Адрес электронной почты учреждения	info@rector.msu.ru
Телефон учреждения	тел. (495) 939-10-00

Список публикаций *Голубевой Т.Б.* по теме диссертации *Сапожникова Ю.П.* в рецензируемых научных изданиях за последние 5 лет.

1. Korneeva E.V., Tiunova A.A., Aleksandrov L.I., Golubeva T.B., Anokhin K.V. 2011. Activation of the Tectofugal Visual System in Pied Flycatcher Nestlings at the Early Stages of Development of Feeding Behavior Guided by Diffuse Photosensitivity. *Neurosc. Behav. Physiol.* - 2011. - V. 41. – №. 8. - P. 765-77.
2. Корнеева Е.В., Тиунова А.А., Александров Л.И., Голубева Т.Б., Анохин К.В. 2014. Зрительная афферентация влияет на экспрессию ранних генов *c-Fos* и *ZENK* в слуховых теленцефалических центрах птенцов мухоловки-пеструшки при акустически направляемой реакции затаивания. *Журнал высшей нервной деятельности*, Т. 64. № 3. С. 324-333.
3. Zueva L., Makarov V., Zayas-Santiago A., Golubeva T., Korneeva E., Savvinov A., Eaton M., Skatchkov S., Inyushin M. Müller cell alignment in bird fovea: possible role in vision // *Journal of Neuroscience and Neuroengineering.* - 2014. - Vol. 3. - P. 1-7.
4. Makarov V., Zueva L., Sanabria P., Wessinger W. D., Golubeva T., Khmelinskii I., Inyushin M. 2015. On the role of the blood vessel endothelial microvilli in the blood flow in small capillaries // *Journal of Biophysics.* - 2015. - Vol. 2015. - P. 1-6. <http://dx.doi.org/10.1155/2015/529746>
5. Zueva L., Golubeva T., Korneeva L., Makarov V., Khmelinskii I., Inyushin M. Foveolar Müller Cells of the Pied Flycatcher: Morphology and Distribution of Intermediate Filaments Regarding Cell Transparency // *Microsc. Microanal.* - 2016 - P. 1- 8. doi:10.1017/S1431927616000507

Подпись Голубева Голубевой Татьяны Борисовны



ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию **Сапожниковой Юлии Павловны** на тему «*Морфофункциональная характеристика слухового саккулярного аппарата у некоторых видов рыб озера Байкал в связи с особенностями их образа жизни*», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.06 (ихтиология).

Рецензируемое исследование связано с изучением особенностей морфологической организации акустико-гравитационной системы у рыб генетически близких видов - группы байкальских рогатковидных (Cottoidei) и сиговых (Coregonidae), различающихся условиями обитания в озере Байкал. Актуальность заявленной темы определяется многими разнообразными факторами.

В первую очередь – это уникальность самого ареала исследований – озеро Байкал, озеро тектонического происхождения в южной части Восточной Сибири, самое глубокое озеро на планете, крупнейший природный резервуар пресной воды.

Далее поражает исключительно высокий уровень эндемичности населяющих этот ареал животных. К эндемикам Байкала относятся около 1000 видов, 96 родов, 11 семейств и подсемейств. Около 30 (27) видов рыб, обитающих в озере, нигде более не встречаются, при этом здесь водятся хариус, сиг, байкальский омуль, байкальский осётр (*Acipenser baeri baicalensis*), налим, таймень, щука и другие. Наиболее интересна в Байкале живородящая рыба голомянка, тело которой содержит до 30 % жира. Она удивляет биологов ежедневными вертикальными кормовыми миграциями из глубин на мелководье.

Автором данной работы для проведения исследований выбраны представители 4-х видов рогатковидных рыб и 3-х видов сиговых, а также гибриды баргузинского сига-пыжьяна ♀ и байкальского омуля ♂, искусственно полученные в контролируемых условиях ЦКП ПАК ЛИН СО РАН. При этом весьма актуальным аспектом представляется тот факт, что изучаются не только ключевые виды в экосистеме озера Байкал, но и основной промысловый вид - байкальский омуль.

Еще одной важной особенностью работы является исследование многоуровневой структуры внутривидового фенотипического полиморфизма сиговых рыб, разделенных внутри одного вида в пространстве и времени на морфо-экологические группы, популяции и субпопуляции, а также большое разнообразие

видов у рогатковидных рыб, обусловленное многочисленностью ниш в глубоком олиготрофном водоеме.

В задачи диссертационной работы Ю.П.Сапожниковой входило изучение ультраструктурных и функциональных особенностей периферического отдела слуховой системы байкальских рыб, обитающих в различных условиях акустической среды. В связи с этим в работе у разных рогатковидных и сиговых видов байкальских рыб прослежена зависимость морфологических и физиологических различий саккулярного аппарата с их поведенческой активностью. Изучены также особенности формирования и химический состав отолитов разных форм при участии слухового саккулярного эпителия у разных видов байкальских рыб. Проведен анализ функциональных возможностей сенсорной слуховой системы (диапазонов слухового восприятия и максимальной акустической чувствительности, направленной чувствительности саккулюса).

Выносимые на защиту положения научно обоснованы, а полученные экспериментальные данные впервые сопоставлены с результатами электронно-микроскопического изучения строения слуховой системы байкальских рыб. Показано, что особенности слуховой чувствительности, ориентации в пространстве и акустического поведения сиговых и рогатковидных рыб обусловлены особенностями макро- и ультраструктуры их акустического аппарата.

Автором данной работы в полной мере применены современные методики исследований, адекватно отвечающие поставленным задачам. Так, экспериментальная методика определения слуховой чувствительности рыб использована с применением условно-рефлекторных тестов; применена также рентгеновская фотоэлектронная спектроскопия отолитов; при исследовании топографии отолитов использован метод атомно-силовой микроскопии (АСМ); методы электронной микроскопии использованы для исследования сенсорного слухового эпителия.

У рыб, занимающих разные экологические ниши, отмечена значительная вариация в организации сенсорного слухового эпителия. Предполагается, что разнородные морфотипы волосковых клеток могут отвечать на частоты разных диапазонов. Экспериментально показано, что волосковые клетки с короткими стереоцилиями преимущественно настроены на более высокие частоты. Установлено, что для слухового эпителия рыб мелководной зоны озера Байкал характерно наличие волосковых клеток с преимущественно короткими стереоцилиями, воспринимающими более высокочастотные звуковые колебания, которые легче идентифицируются на фоне низкочастотного шума в

прибрежной зоне. Для пелагических видов характерны большие площади на макуле, занимаемые волосковыми клетками с удлинёнными стереоцилиями, что, в свою очередь, способствует наиболее адекватному восприятию низкочастотных акустических волн. Впервые показано, что направленная чувствительность саккулюса и особенности морфологической поляризации волосковых клеток у рогатковидных и сиговых рыб предопределяются особенностями их акустического поведения.

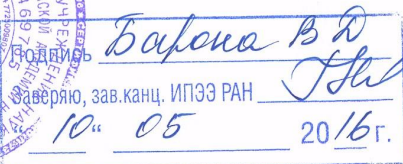
Основной материал диссертационной работы достаточно информационно проиллюстрирован высокого качества микрофотографиями и таблицами. При этом автор не ограничивается только качественным изложением результатов, а приводит также и конкретные цифровые данные. Так, показано, что у рогатковидных беспузырных рыб максимальная акустическая чувствительность находится в более низкочастотном диапазоне (каменная широколобка – 300–700 Гц, северобайкальская желтокрылка – 300–500 Гц) по сравнению с пузырьными сиговыми рыбами (байкальский омуль – 400–800 Гц, гибриды сига-пыжьяна ♀ и байкальского омуля ♂ – 500–800 Гц, сиг-пыжьян – 600–800 Гц, байкальский сиг – 600–1500 Гц), что предопределяется морфологией саккулярного аппарата, в частности, наличием у рогатковидных рыб волосковых клеток с более высокими стереоцилиями, а также отсутствием у них плавательного пузыря.

Рассмотрение диссертационной работы **Сапожниковой Юлии Павловны** на тему *«Морфофункциональная характеристика слухового саккулярного аппарата у некоторых видов рыб озера Байкал в связи с особенностями их образа жизни»*, представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.06 (ихтиология), показывает, что она полностью соответствует критериям, установленным «Положением о порядке присуждения ученых степеней» от 23.09.2013 г. № 842 (п.9), а Сапожникова Ю.П. заслуживает присуждения ей искомой степени.

Доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник Института проблем экологии и эволюции им. А.Н.Северцова РАН

БАРОН Владимир Давыдович

 /Барон В.Д./



В диссертационный совет Д 501.001.53
при Московском государственном
университете имени М.В. Ломоносова

Сведения об официальном оппоненте по кандидатской диссертации
*Сапожниковой Юлии Павловны «Морфофункциональная
характеристика слухового саккулярного аппарата у некоторых
видов рыб озера Байкал в связи с особенностями их образа жизни»*

Фамилия, имя, отчество (полностью)	Барон Владимир Давыдович
Ученая степень, отрасль науки, шифр и наименование научной специальности	доктор биологических наук, биологические науки, 03.01.02 (биофизика) и 03.02.06 (ихтиология)
Ученое звание	-
Место работы, занимаемая должность	Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт проблем экологии и эволюции имени А.Н. Северцова РАН, ведущий научный сотрудник, руководитель группы сенсорных систем рыб лаборатории поведения низших позвоночных
Адрес почтовый учреждения	Россия, 119071, Москва, Ленинский проспект, д. 33.
Адрес электронной почты учреждения	admin@sevin.ru
Телефон учреждения	тел. (495) 954-75-53

Список публикаций Барона В.Д. по теме диссертации Сапожниковой Ю.П. в рецензируемых научных изданиях за последние 5 лет.

1. Orlov A.A., Golubtsov A.S., Baron V.D., Pavlov D.S. Bioelectric Fields of the African Marbled Lungfish *Protopterus aethiopicus* (Sarcopterygii: Protopteridae), African (Heterotis niloticus) and South American Silver (Osteoglossum bicirrhosum) Arowanas (Actinopterygii: Osteoglossidae): Primitive Electrogenesis? // Journal of Ichthyology. - 2015. - Vol. 55. - № 6. - pp. 874–878.
2. Orlov A.A., Baron V.D., Golubtsov A.S. Electric discharges of two African catfishes of the genus *Auchenoglanis* (Claroteidae, Siluriformes) // Doklady Akademii Nauk. - 2015. - Vol. 462. - pp. 138–140.
3. Golubtsov A.S., Orlov A.A., Levin B.A., Dgebuadze Y.Y., Baron V.D. Electric organ discharges in the dark and light forms of speckled stonebasher *Pollimyrus isidori* (Mormyridae, Mormyriiformes) of the Nile basin // Dokl Biol Sci. - 2012. - Vol. 444. - pp. 184-187. doi: 10.1134/S001249661203012X. Epub 2012 Jul 5.
4. Baron V. D., A. A. Orlov, and A. S. Golubtsov Polyphasic Discharges of the Electric Organ of the Speckled Stonebasher *Pollimyrus isidori* (Mormyridae, Mormyriiformes) from the Nile Basin // Doklady Biological Sciences, 2012, Vol. 443, pp. 1–3.



Подпись
Барона В.Д.
Зав. канц. ИПЭЭ РАН
"15" марта 2016г.

В.Д. Барон

В.Д.Барон