

ОТЗЫВ

на диссертацию Небесных Ивана Александровича «Исследование распространения Diplomonadida в лососевидных рыбах Восточной Сибири: экологический и молекулярно-генетический аспекты», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.08–Экология в диссертационный совет Д212.074.07 при Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Иркутский государственный университет»

Диссертация изложена на 128 страницах формата А-4 и включает: Введение, 4 главы, Заключение и Выводы. Работа иллюстрирована 24 рисунками, 8 таблицами и 3 приложениями. Список литературы состоит из 181 наименования, включая 103 работы на иностранных языках.

Введение (стр. 3-9), показывает актуальность, цель и задачи проведенного исследования. И.А.Небесных обосновывает необходимость изучения жгутиковых простейших, паразитирующих на лососевидных рыбах, выяснение их систематического положения и ареалов распространения. Автор диссертации четко определил цель необходимых исследований – изучить распространение, генетическое разнообразие Diplomonadida и разработать систему молекулярно-генетической их детекции в лососевидных рыбах Восточной Сибири с учетом экологических особенностей последних.

И.А.Небесных выносит на защиту следующие положения:

1. Использование молекулярно-генетических методов для изучения представителей отряда Diplomonadida в пищеварительной системе различных видов рыб является решением проблемы их идентификации и зараженности.

2. В составе микробиоценоза пищеварительной системы рыб родов *Thymallus* и *Coregonus* Восточной Сибири присутствует единственный вид отряда Diplomonadida – *S. barkhanus*. Вид представлен двумя генотипами, космополитным для лососевидных и родоспецифичным для сиговых рыб.

Глава 1 (стр. 10-35) «Обзор литературы» проведен по двум направлениям:

В подглаве 1.1. – «Характеристика представителей отряда Diplomonadida», автор приводит сведения о филогении, эволюционном положении, таксономическом

статусе, морфологии, разнообразии мест обитания, жизненном цикле, истории изучения в рыбах, о патологиях, связанных с зараженностью дипломонадами рыб вообще и рыб Восточной Сибири, в частности. У большинства исследованных рыб водоемов бассейна Байкала дипломонады обнаруживались паразитологами в желчном пузыре.

В подглаве 1.2. «Особенности экологии лососевидных рыб Восточной Сибири» приводится краткая характеристика наиболее многочисленных видов рыб, обитающих в разных биотопах Байкала и других водоемов Прибайкалья и Забайкалья (байкальского омуля, черного байкальского хариуса, байкалоленского хариуса, валька, тугуна, ленка, сига-пыжьяна).

Замечание 1. По какой - то причине в подглаве ничего не сказано об экологических особенностях озерного байкальского сига и белого байкальского хариуса, хотя по ним имеется достаточно много публикаций и эти рыбы в количестве 28 экз. (первый) и 25 экз. (второй) изучены автором на предмет их зараженности дипломонадами.

Глава 2. (стр. 36-49) «Объекты и методы исследований» также написана по двум направлениям:

2.1. «Характеристика объектов исследования и пробоподготовка». В подглаве дается описание отбора проб для исследования питания различных видов лососевидных рыб, отбора проб рыб и их кормовых организмов для исследования зараженности дипломонадами. В работе были использованы пробы хариуса из озер Байкал и Хубсугул, ленка, хариуса, сига-пыжьяна и валька из р.Чечуй (правый приток р. Лена), озерного сига (из Малого Моря и Чивыркуйского залива), байкальского омуля (120 особей, принадлежащих к трем морфо-экологическим группам), белого байкальского хариуса (из Селенгинского района Байкала), голомянок и пелагических бычков из уловов донным тралом на разных глубинах в Байкале. Приводятся рисунки и таблицы с описаниями мест и количества исследованных видов рыб.

В подглаве 2.2. «Методы исследования» описаны применявшиеся автором разные методики (биологического анализа рыб и их питания, выделения суммарной

ДНК на сорбентах и путем химического лизиса с фенолхлороформной экстракцией, выделения плазменной ДНК и другие). Использовались методы микроскопического анализа. Определение микроорганизмов проводили и с помощью световой и трансмиссионной микроскопии.

Глава 3 (стр. 50-73) «Определение зараженности лососевидных рыб Восточной Сибири представителями отряда Diplomonadida содержит 7 подглав:

В подглаве 3.1. «Разработка и апробация метода молекулярно-генетической детекции представителей отряда Diplomonadida» проведено определение видовой принадлежности организмов с помощью трансмиссионного микроскопа.

В подглаве 3.2. «Определение зараженности рыб семейства Thymallidae представителями отряда Diplomonadida» показано, что «обнаружен ярко выраженный тренд зараженности хариусов в водосборном бассейне р. Ангара: минимальная в оз. Хубсугул (38,5%), в р. Баргузин и оз. Байкал значительная (80,0 и 85,2%, соответственно), и максимальная в р. Ангара (100%) (рис. 13,14)» (стр.55).

Замечание 2. Бассейн р. Баргузин и бассейн всего озера Байкал автор относит к бассейну р. Ангара (стр. 55), хотя вытекающая из Байкала р. Ангара не входит в бассейн Байкала, а является одной из крупных рек, формирующих бассейн р. Енисей.

Далее автор диссертации делает вывод о том, что зараженность дипломонадидами белого байкальского хариуса, «предпочитающего илистые грунты Селенгинского мелководья не отличается от таковой черного байкальского хариуса, основные места нагула которого – каменистые грунты прибрежной зоны» (стр.55-56).

Замечание 3. В этом абзаце автор утверждает, что «белый байкальский хариус предпочитает илистые грунты» (стр.55), в то время как по данным П.Я.Тугариной ареал белого байкальского хариуса охватывает в Селенгинском районе Байкала глубины от 5 до 30-40 м (Тугарина, 1958), на которых распространены пески (Голдырев, Выхристюк, Лазо, 1971, стр. 44 в книге «Лимнология придельтовых пространств Байкала»).

В подглаве 3.3. «Детекция *Diplomonadida* у байкальского омуля» показан большой процент инфицированных рыб у селенгинской популяции (пелагическая морфо-экологическая группа), по сравнению с омулем северобайкальской популяции (прибрежно-пелагическая морфо-экологическая группа) и посольской популяции (придонно-глубоководная экологическая группа). Большой процент инфицированных рыб в группе пелагического омуля автор связывает со способностью многотычинкового (частотычинкового) селенгинского омуля отцеживать во время питания более мелкий корм (рачка эпишуру), минимальная длина тела науплиальных стадий которого составляет 100 мкм. Автор диссертации считает, что, по-видимому, попутно с эпишурой в желудочно-кишечный тракт омуля селенгинской популяции отцеживаются и свободно двигающиеся в воде трофозоиты паразитов, имеющие длину 60 мкм и более.

В подглаве 3.4. «Детекция *S.barkhanus* у прибрежно-пелагических и пелагических коттоидных рыб оз. Байкал» автор пишет, что несмотря на существенное перекрывание экологических ниш пелагических коттоидных рыб и лососевидных рыб (омуль, хариус) обмена анализируемыми паразитами между ними не происходит... Проведенный анализ не выявил присутствия ДНК *S. Barkhanus* в исследованных образцах ДНК коттоидных рыб» (стр. 62).

Замечание 4. Приводимые автором причины отсутствия обмена анализируемыми паразитами между омулем и желтокрылкой скорее всего надуманны. Автор заявляет, что «желтокрылка является наиболее многочисленным и важным представителем ихтиоценоза коттоидных рыб мелководной зоны оз. Байкал» и тут же противоречит себе «вид распространен по всей акватории открытой части озера с некоторым преобладанием в южной котловине» (стр. 62). Приводимые И.А.Небесных ссылки на Д.Н.Талиев(1955) и Е.А.Корякова(1972) не объясняют причин найденной автором диссертации закономерности поскольку они свидетельствуют только о внутривидовой экологической структуре «желтокрылки- типичного литофила, в качестве субстрата для нереста использующие многоярусные каменистые грунты в

прибрежной зоне озера... и откладывающие икру в разные сроки» (стр. 63 диссертации).

Замечание 5. На стр. 62 приводится выражение «Ихтиоценоз коттоидных рыб»). В природе нет ни карповых, ни голомянковых, ни коттоидных ихтиоценозов, ни ихтиоценозов, вообще. Экологический термин «биоценоз» обозначает биотопическую принадлежность популяций разных видов животных тому или иному биоценозу. Подглаву 3.5. «Детекция *S.barkhanus* у других видов лососевидных рыб Восточной Сибири» Небесных И.А. заканчивает утверждением, что зараженность сигов существенно ниже, чем у хариусов и байкальского омуля.

В подглаве 3.6. «Краткая характеристика пищевых взаимоотношений лососевидных рыб р. Чечуй» автор приводит результаты детального исследования пищевых взаимоотношений лососевидных рыб.

В подглаве 3.7. «Детекция *S.barkhanus* у кормовых объектов лососевидных рыб Восточной Сибири» И.А. Небесных говорит об отсутствии ДНК этого паразита в ДНК беспозвоночных животных – объектах питания исследованных рыб.

Глава 4 (стр. 74-79) «Определение генетического разнообразия *S. barkhanus* в лососевидных рыбах восточной Сибири» показало, что при сравнении со всеми данными, имеющимися в международной базе, «все полученные автором последовательности с вероятностью 100% вошли в кладу *S.barkhanus* (рис. 23)». Однако последовательности образцов из байкальского омуля № 45 и байкальского сига № 10 с вероятностью 100 % формируют отдельный кластер в кладе *S.barkhanus*». Проведенный анализ позволил автору сформулировать вывод о том, что у рыб рода *Coregonus* генотип, значительно отличающийся от генотипа всех *Salmonoidei* Голарктики.

Взключения (стр. 80-81) обобщаются все результаты работы, представленные в главах 1-4.

Выводы (стр. 82) включают 6 пунктов.

Список литературы (стр. 83-102) состоит из 181 процитированных автором работ отечественных и зарубежных исследователей.

Приложения 1 и 2 (представлены на стр.105-128)

Заключение по диссертации:

Детальный анализ результатов научных исследований, изложенный в представленной рукописи позволяет считать И.А.Небесных высококвалифицированным специалистом по вопросам экологии жгутиковых простейших, паразитирующих на лососевидных рыбах Байкала и водоемов Восточной Сибири. Работа изложена хорошим литературным языком. Актуальность темы диссертации «Исследование распространения Diplomonadida в лососевидных рыбах Восточной Сибири: экологический и молекулярно-генетический аспекты» не вызывает сомнений.

Работа автора имеет большое научное и практическое значение. И.А.Небесных разработана молекулярно-генетическая методика обнаружения в пищеварительной системе рыб представителей паразитических простейших отряда Diplomonadida и вида *Spiroucleus barkhanus*. С помощью этой методики в лососевидных рыбах Восточной Сибири автором в отряде Diplomonadida найден единственный вид – *S. Barkhanus*. Выявлен тренд увеличения зараженности этим паразитом хариуса от оз. Хубсугул (38, 5%) до р. Ангара (100 %). Определена разная степень зараженности паразитом *Spiroucleus barkhanus* байкальского омуля разных морфо-экологических групп, с возрастанием от 29 % (прибрежно-пелагическая – северобайкальская и баргузинская популяции) до 34% (придонно-глубоководная – посольская популяция) и 80 % (пелагическая – селенгинская популяция). Наряду с космополитным генотипом *Spiroucleus barkhanus*, характерным для большинства лососевидных рыб, выявлен новый родоспецифичный генотип этого паразита у сиговых видов рыб Восточной Сибири, достоверно отличающийся по последовательности гена малой субъединицы рРНК. В кормовых объектах рыб ДНК *S. Barkhanus* не обнаружена. Методические разработки детекции паразитических Diplomonadida рекомендованы к использованию в рыбоводстве. Для предотвращения массовой гибели разводимых рыб особенно важны тонкие методы диагностики инфекций.

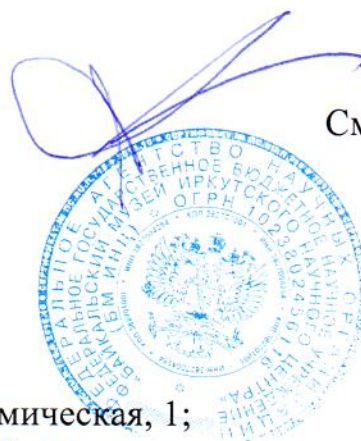
С результатами своих работ И.А.Небесных выступал на шести Международных и Российских конференциях. Они опубликованы в 16 научных работах, 2 из которых – в списке, рекомендованном ВАК.

Содержание автореферата полностью отвечает содержанию и структуре самой диссертации.

Автор лично участвовал в сборе и обработке необходимых материалов. Научные выводы полностью принадлежат автору.

Судя по содержанию диссертации, автореферата, опубликованных работ и сделанным выводам, представленная к защите рукопись «Исследование распространения Diplomonadida в лососевидных рыбах Восточной Сибири: экологический и молекулярно-генетический аспекты» полностью отвечает требованиям кандидатских диссертаций. И.А.Небесных, автор представленной диссертации, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.08 – экология.

Смирнов Василий Васильевич, д.б.н.
(03.02.06, 03.02.08), главный научн. сотр.
Федерального государственного бюджетного
научного учреждения Байкальский музей
Иркутского научного центра (БМ ИНЦ),
почетный работник рыбного хозяйства России.



Смирнов В.В.

664520, п. Листвянка Иркутской обл., ул. Академическая, 1;
тел/факс: (3952)45-31-45; e-mail: bmsmirnov@mail.ru

2 ноября 2017 г.

*Подпись Смирнова В.В., д.б.н., н.и.с. Байкальского
музея мне удовлетворяю.*

специальное по кадровому С. В. Д. Лошакова