

ОТЗЫВ

официального оппонента кандидата биологических наук Соколова С.Г.
на диссертационную работу **Небесных Ивана Александровича**
«Исследование распространения Diplomonadida в лососевидных рыбах Восточной
Сибири: экологический и молекулярно-генетический аспекты»,
представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по
специальности 03.02.08.- экология.

Актуальность темы исследования. В настоящее время активно изучаются симбиотические протисты (как паразиты, так и комменсалы) и разрабатываются надежные способы их определения. Диссертационная работа посвящена исследованию представителей отряда Diplomonadida в лососевидных рыбах. Среди представителей данного отряда встречаются как комменсалы пищеварительного тракта рыб, так и патогенные микроорганизмы. Следовательно, разработка тонких методов диагностики этих организмов, несомненно, актуальна, особенно для аквакультуры (в том числе и для индустриального рыбоводства).

Исследования протозойной микрофлоры рыб расширяют представления о эволюции и функционировании систем паразит - хозяин и важны для оценки рисков заражения рыб как при искусственном зарыблении открытых водоемов, так и развитии аквакультуры.

В качестве модельного хозяина выбраны лососевидные рыбы из разных водосборных бассейнов Восточной Сибири, в том числе основной промысловый вид оз. Байкал – байкальский омуль. Исследования протозойной микрофлоры рыб в данном регионе немногочисленны. До настоящего времени изучение представителей отряда Diplomonadida в лососевидных рыбах Восточной Сибири с помощью молекулярно-генетических методов не проводилось.

Научная новизна работы. Научная новизна этой работы несомненна: впервые с использованием молекулярно-генетических методов достоверно показано, что в лососевидных рыбах Восточной Сибири присутствует дипломонадида *Spironucleus barkhanus*. С помощью разработанной диагностической системы определена зараженность дипломонадами представителей рода *Thymallus* из разных водосборных бассейнов Восточной Сибири и байкальского омуля *Coregonus migratorius* разных морфо-экологических групп. Выявлена связь морфо-экологических характеристик байкальского омуля с зараженностью. Определено генетическое разнообразие *S. barkhanus* в лососевидных рыбах Восточной Сибири

по гену малой субъединицы рибосомальной РНК; у сиговых рыб оз. Байкал выявлен специфический генотип, достоверно отличающийся от космополитного генотипа, описанного ранее.

Структура и объем работы. Содержание диссертации изложено на 127 страницах и состоит из Введения, четырех глав, Заключения, Выводов, Списка литературы, включающего 181 наименование, и Приложений. Диссертация содержит 8 таблиц и 24 рисунка. Текст диссертации изложен в хорошем научном стиле.

Во «Введении» автор дает представление об объектах исследования, обосновывает актуальность и практическую значимость работы, её научную новизну, формулирует цели и задачи работы. На основании этого автор определяет основные научные положения работы, выносимые на защиту.

Первая глава представляет собой литературный обзор по теме диссертационного исследования. В главе приведена краткая характеристика отряда Diplomonadida с освещением филогенетических, таксономических, морфологических и экологических аспектов. Представлены данные по истории изучения представителей отряда Diplomonadida в рыбах, в том числе и рыбах Восточной Сибири. Особое внимание автор уделяет патологиям рыб, связанным с зараженностью дипломонадами, локализации и формах поражений при инвазиях различными видами дипломонад в аквакультуре и при экспериментальном заражении. Помимо этого, представлены сведения о лососевидных рыбах Восточной Сибири: видовой состав и краткие экологические характеристики.

Во второй главе автором рассматриваются материал и методы исследования. Дана характеристика обследованных хозяйств: численность, биологические параметры, места, сроки и способы лова. Методы описаны кратко, но в целом достаточно информативно и пригодны для воспроизведения. Автором применены как классические биологические (биологический анализ и анализ питания), так и молекулярно-биологические методы (выделение ДНК, ПЦР, клонирование, секвенирование и анализ нуклеотидных последовательностей).

Третья глава посвящена характеристике зараженности лососевидных рыб Восточной Сибири представителями отряда Diplomonadida: описана разработка и апробация метода молекулярно-генетической детекции представителей отряда Diplomonadida и конкретно *Spironucleus barkhanus*, представлены данные о зараженности рыб сем. Thymallidae из разных водосборных бассейнов, байкальского

омуля и других видов лососевидных рыб Восточной Сибири, прибрежно-пелагических и пелагических коттоидных рыб оз. Байкал. Дана краткая характеристика пищевых взаимоотношений лососевидных рыб реки Чечуй и анализ основных кормовых объектов лососевидных рыб Восточной Сибири на присутствие *S. barkhanus*.

В четвертой главе приведены результаты определения генетического разнообразия *S. barkhanus* в лососевидных рыбах Восточной Сибири. Продемонстрировано существование двух достоверно отличающихся генотипов: космополитного и специфичного для сиговых рыб оз. Байкал. Высказана гипотеза о коэволюции сиговых рыб и диплононад.

Рецензируемая работа хорошо иллюстрирована рисунками и таблицами.

Обоснованность и достоверность научных положений и выводов. Работа Небесных И.А. выполнена на высоком научно-методическом уровне. Поставленные задачи диссертант решал с использованием адекватных, информативных современных методов исследования. Полученные результаты документированы таблицами и рисунками, их достоверность не вызывает сомнений.

На основе анализа полученных результатов Небесных И.А. обосновал основные выводы и положения, которые отражают содержание диссертационной работы и соответствуют поставленным задачам. Результаты исследований диссертанта имеют большое научно-практическое значение и важны для решения многих экологических вопросов (география и фенология зараженности хозяйев, трофические связи гидробионтов, симбиотические взаимоотношения организмов и др.), что определяет правомочность защиты диссертация по специальности 03.02.08. - экология. Диссертационная работа характеризует Небесных И.А., как квалифицированного специалиста, способного грамотно формулировать цели исследований, успешно решать поставленные экспериментальные задачи и анализировать полученные результаты, применяя разнообразные методы.

Результаты исследования опубликованы в 16 научных работах, 3 из которых включены в список ВАК и одна коллективная монография. Результаты исследований были доложены и обсуждены на международных и российских конференциях. Автореферат диссертации отражает основное содержание проведенных научных исследований, содержание автореферата совпадает с содержанием диссертации.

Работа диссертанта интересна и содержательна, но при оценке работы возникли следующие замечания.

1. В диссертации нет информации о сопоставимости обследованных выборок хариуса по сезонам года, что снижает обоснованность выявленных автором географических трендов зараженности хариуса спиронуклеусами. Не исключено, что интенсивность инвазии дипломонадами, а, соответственно и количество ДНК паразита, к которому чувствителен используемый диссертантом метод, может меняться в сезонной шкале.

2. Вызывает сомнение адекватность таксономической интерпретации генотипа дипломонад, приуроченного к сиговым рыбам. На филогенетическом дереве клада, объединяющая эти генотипы, занимает базальное положение по отношению к космополитным генотипам *S. barkhanus* и без дополнительной аргументации её таксономический статус не может быть однозначно определен.

3. Положение автора об отсутствии связи между концентрацией жизнеспособных цист дипломонад и типом грунта основано на отсутствии различий в зараженности взрослых особей белого и черного байкальских хариусов, приуроченных к разным местообитаниям. Однако не стоит забывать, что носительство дипломонад сопряжено с воспроизводством этих протистов в теле хозяина и, по-видимому, длится многие годы, что затушевывает связь зараженности с характеристиками биотопа хозяина. Вероятно, корректный ответ на интересующий автора вопрос может быть получен только при исследовании сеголеток, не имеющих возрастного груза зараженности дипломонадами.

Заключение. В целом, высказанные замечания не снижают общего благоприятного впечатления о работе и не затрагивают научную и практическую значимость полученных диссертантом результатов.

Учитывая актуальность избранной темы, методический уровень и объем проведенных исследований, новизну основных положений диссертации, их значимость для науки и практики, обоснованность и достоверность выводов, считаю, что диссертационная работа Небесных Ивана Александровича «Исследование распространения Diplomonadida в лососевидных рыбах Восточной Сибири: экологический и молекулярно-генетический аспекты», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук, является завершённым исследованием и полностью соответствует требованиям «Положения о порядке

