

УТВЕРЖДАЮ

Первый проректор ФГАОУ ВО
«Тюменский государственный университет»
Канд. биол. наук, доцент

Андрей Викторович Толстиков

2021 г.



ОТЗЫВ

ведущей организации на диссертационную работу Завьялова Андрея Вениаминовича «Особенности функционирования паразитарной системы нематоды *Hysterothylacium aduncum* (Rudolphi, 1802) в Чёрном море», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.16 – гидробиология

Актуальность темы. Изучение механизмов взаимодействия и адаптаций в системе «паразит-хозяин» в водных экосистемах является одной из ключевых фундаментальных проблем современной гидробиологии. Преобразование гидросферы в связи с глобальными климатическими процессами и антропогенной активностью приводит к перестройке отношений, сложившихся в экосистемах в процессе эволюции. Эти процессы в значительной степени затрагивают гидробионтов и их паразитов, существенно влияют на их жизненный цикл, места обитания, локализацию в традиционных хозяевах, паразито-хозяинные отношения и, в конечном итоге, на их значение в сообществах. Помимо этого, учитывая широкое применение морепродуктов в пище человека, изучение их зараженности паразитами имеет первостепенное значение с точки зрения биологической безопасности. В то же время исследователям не хватает информативных индикаторов (в том числе и биологических) для предварительного прогноза негативных трансформаций экосистем и опасности морепродуктов. Такими индикаторами могут служить паразиты-генералисты, к которым относится *Hysterothylacium aduncum* (Rudolphi, 1802) – типичный представитель семейства анизакидных нематод, опасных паразитов человека, домашних животных и гидробионтов. Несмотря на интенсивные исследования этого вида, остаётся ряд нерешенных вопросов, касающихся систематики паразита, его патогенеза, онтогенеза, цикла развития и особенностей паразито-хозяинных отношений на различных уровнях биологической организации в разных регионах, а также его роли и значения в водных сообществах, в том числе в Чёрном море. В связи с этим цель и задачи, решаемые в диссертационной работе, являются актуальными как в теоретическом, так и в практическом плане.

Цель и задачи. Задачи, поставленные автором, актуальны и интересны. Не ставя перед собой амбициозной цели разработки окончательной версии концептуальной модели паразитарной системы паразита-генералиста в Чёрном море, А.В. Завьялов вносит большой вклад в дело популяризации и применения новых методических подходов к анализу паразитарных систем в условиях водных биоценозов.

Научная новизна полученных диссертантом результатов очевидна. На основе большого оригинального материала с применением современных методов впервые проведено комплексное исследование взаимодействия гемипопуляции *H. aduncum* и популяций хозяев нематоды в условиях Чёрного моря на разных уровнях биологической организации.

Практическая значимость. Полученные данные раскрывают некоторые механизмы формирования отношений паразит-хозяин и различные типы адаптаций двух организмов, существующих совместно. Данные об особенностях раннего онтогенеза нематоды могут быть использованы в разработке профилактических мер по преодолению экономических потерь на рыбоводческих фермах, связанных с бактериальной инфекцией, переносимой эндопаразитами, в частности, нематодами и их личинками.

Структура и содержание работы. Диссертация изложена на 177 страницах, из которых 155 страниц основного текста, 21 страница приложений и список литературы. Основная часть состоит из введения и шести глав, включает обзор литературы, материалы и методы исследования, четыре раздела с результатами исследования и их обсуждением, а также заключение и выводы. Основной текст иллюстрирован 18 таблицами и 36 рисунками. Объемные таблицы вынесены в 2 приложения. Библиографический список включает 192 источника, из которых 47 – на иностранном языке.

Содержание положений, выносимых на защиту, подтверждается проведенными исследованиями.

Содержание работы. В главе I (Обзор литературы) представлены современные данные о паразитарных системах и нематоды *H. aduncum*, как объекте для изучения их структуры и функционирования в условиях Чёрного моря. Дана характеристика особенностей взаимодействия паразитических организмов в биоценозе. Обобщены данные об экологических особенностях Чёрного моря, как среды обитания хозяев нематоды *H. aduncum*. Прослежены исторические этапы формирования взглядов естествоиспытателей на проблему анализа паразитарных систем. Описаны воззрения на методику анализа паразитарных систем с позиций Беклемишева В.Н. – применение морфофункционального подхода в двух его аспектах. По литературным данным приведена характеристика нематоды *H. aduncum*, которая включает описание систематического положения, морфологии, географического распространения, локализации в организме хозяев, особенностей развития, жизненного цикла и заражённости гидробионтов в различных экологических условиях. Рассмотрена роль молекулярных систем в защитных реакциях рыб, заражённых паразитами. Сформулирован ряд проблемных вопросов по изучению нематоды *H. aduncum*.

В главе II (Материалы и методы) дана краткая характеристика объектов исследования, приведены размерно-массовые и морфофизиологические показатели рыб из

районов отбора проб. Были исследованы 4 массовых вида черноморских рыб – представителей разных экологических групп: донная – камбала-калкан (окончательный хозяин), придонно-пелагические – черноморский шпрот (второй промежуточный-дополнительный хозяин, мерланг окончательный хозяин), пелагическая – ставрида (второй промежуточный и окончательный хозяин). Описаны выборки для разного вида анализа. В частности, неполный паразитологический анализ выполнен для 22470, из них морфометрический (с определением возраста по отолитам) – для 14970. Материалом для экспериментальных исследований (*in vitro*) ранних стадий развития паразита служили нематоды из пищевода камбалы-калкан (64 экземпляра). Для изучения стадий развития личинок нематоды в организме хозяина (*in vivo*) была использована копепода *Acartia tonsa*.

В работе удачно сочетаются традиционные методы паразитологических, ихтиологических, гидробиологических, экологических исследований, дополненные качественной статистической обработкой данных, с современными биохимическими подходами, которым дана расширенная характеристика. Качество написания этой главы диссертации соответствует стандартам публикации в международном журнале и характеризует ее автора как полностью сформировавшегося исследователя.

Результаты собственных исследований приведены автором в главах 3-5, а в главе 6 автор представил обсуждение полученных результатов.

В главе III рассмотрен ряд особенностей жизненного цикла паразита в экспериментальном формате. В первой серии эксперимента диссертант исследовал процессы вымета яиц нематодами в различных средах (морской воде и морской воде с добавлением пепсина), во второй – проследил и хронометрически зафиксировал этапы раннего эмбрионального развития личинки паразита в оболочке яйца. В третьей серии был проведён эксперимент по искусственному заражению копепод яйцами нематоды в лабораторных условиях. Результаты экспериментов позволили решить ряд спорных вопросов, возникших в течение двух минувших десятилетий у отечественных и зарубежных исследователей, изучавших жизненный цикл данной нематоды из разных регионов Мирового океана. В частности, речь идёт о вопросах: 1) происходит ли эмбриогенез личинки в яйце, находящемся в организме самки нематоды или же это развитие начинается в организме копеподы или морской воде (как во внешней среде первого порядка)? 2) Сколько линек у личинки в яичной оболочке? 3) Развивается ли личинка нематоды после выхода её из организма копеподы в морскую воду или её развитие прекращается?

В процессе работы автором впервые было установлено, что яйца одного вымета как в экспериментальной, так и в контрольной среде развиваются асинхронно. Экспериментально доказано, что копепода *Acartia tonsa* – вселенец в Чёрном море является первым

промежуточным хозяином *H. aduncum*, принимающим участие в реализации жизненного цикла паразита. Заражения личинок калкана инвазированными копеподами не происходит.

Глава IV посвящена популяционным взаимодействиям паразита и его хозяев в границах паразитарной системы нематоды в условиях черноморских биоценозов. Прежде всего, автор акцентирует внимание на прямой зависимости колебания показателей заражённости рыб от динамики возрастных характеристик популяции хозяев паразита.

В главе приводятся данные о сезонных изменениях размерно-возрастной структуры популяций шпрота, мерланга в разные годы в разных акваториях у берегов Крыма. Также приводятся данные о межгодовых колебаниях возрастной структуры популяции ставриды и соответственно зависимости заражённости ставриды северного стада (доминирующих возрастных групп) от ряда биотических, абиотических и антропогенных факторов. Далее представлены данные о колебаниях популяционных показателей камбалы-калкана в разные годы у юго-западного побережья Крыма, полученные сотрудниками ФИЦ ИнБЮМ им. А.О. Ковалевского. Проанализированы причины колебаний таких популяционных показателей, как средний размер, масса рыбы, её возраст и соотношение в популяции самцов и самок. Проведен анализ колебания заражённости паразитом доминирующих возрастных групп как у самок, так и у самцов в разные годы.

Глава V. В данной главе автор с целью исследования ответных реакций рыб на внедрение паразита провёл сравнительный анализ активности антиоксидантных ферментов в мышечных тканях незараженных и зараженных особей черноморского шпрота с разной степенью инвазии. Результаты исследований позволили установить определенные различия активности ферментов тканей шпрота с разным уровнем заражённости личинками и взрослыми особями *H. aduncum*. На втором этапе эксперимента, учитывая тот факт, что метаболиты паразита попадают в кровь хозяина и затем разносятся к органам и тканям, представляло интерес провести сравнительный анализ активности антиоксидантных ферментов в эритроцитах здоровых и зараженных особей мерланга. Результаты исследований позволили установить определенные различия биохимических параметров крови мерланга, инвазированного нематодами

Таким образом, исследования автора показали, что влияние инвазии на антиоксидантную систему хозяина имеет выраженное тканеспецифическое проявление, что необходимо учитывать при анализе патогенеза паразита. Логично предположить, что данный эффект проявляется и на состоянии всей популяции хозяина/хозяев, участвующих в организации паразитарной системы *H. aduncum* в биоценозах крымских вод. Учитывая высокую степень биологического загрязнения Чёрного моря, включая патогенные микроорганизмы, вирусы и гельминты, крайне негативно влияющие на здоровье

гидробионтов, исследованные параметры позволяют оценить состояние рыб и могут быть использованы в качестве индикаторов влияния на них биотических факторов, для планирования рыболовства и оценки качества рыбной продукции.

Глава VI (Обсуждение полученных результатов) В данной главе автор, ссылаясь на данные других авторов, рассмотрел организменный уровень, который показывает проявление системных свойств двух взаимодействующих организмов – паразита и хозяина – на примере особенностей жизненного цикла нематоды. Далее приведена оценка популяционных аспектов отношений и регуляторных механизмов, которые действуют при взаимодействии популяции паразита и хозяина. В связи с этим были рассмотрены отношения в системе паразит–хозяин на уровне биоценоза, то есть системы более высокого ранга или паразитарной системы с позиций морфофункционального подхода. Основная задача данного подхода в изучении паразитарной системы – выявление функциональных комплексов, особенностей их взаимодействия в двух аспектах: 1) чередование морфофункциональных фаз в жизненном цикле нематоды (метаструктура); 2) многообразии взаимодействий популяций паразитических хозяев с гемипопуляциями гельминта.

Автор, опираясь на современные методические и методологические разработки отечественных исследователей, сделал логичное заключение о том, что ценотический уровень включает в себя всё многообразие взаимодействий в биоценозе в виде взаимодействия трёх блоков паразитарной системы: интегрирующего, трофического и компенсаторного. Эти блоки образованы шестью подсистемами, включающими в себя элементы как метаструктуры, так и параструктуры.

В конечном итоге автор, опираясь на пять критериев формирования подсистем, разработанных в 1994 году А. А. Добровольским и соавторами, подошёл к необходимости описания концептуальной модели паразитарной системы *H. aduncum* в Чёрном море, состоящей из шести взаимодействующих во времени и пространстве подсистем.

В **Заключении** автор еще раз подчеркивает высокую экологическую пластичность *H. aduncum* как паразита-генералиста, нашедшую своё отражение в результатах многолетних исследований отношений нематоды *H. aduncum* и её хозяев в акватории прибрежных вод Крыма на различных уровнях биологической организации (молекулярный, организменный, популяционный и надпопуляционный).

На молекулярном уровне выявлен характер ответных реакций организма (среда первого порядка) второго промежуточного и окончательного хозяев на вторжение паразита (гемипопуляции), в частности, реакции антиоксидантной системы, которая проявляется в изменении активности антиоксидантных ферментов при различной степени заражённости паразитом.

На популяционном уровне изучены механизмы взаимодействия гемипопуляций личинок и взрослых нематод с популяциями основных, массовых вторых промежуточных и окончательных хозяев паразита. Выявлены и обоснованы факторы, определяющие закономерности сезонной, межгодовой и пространственной динамики показателей заражённости ключевых сочленов паразитарной системы.

На популяционном и надпопуляционном уровнях обобщены последние теоретические разработки в области методологии анализа паразитарных систем и практически апробированы на примере паразитарной системы гельминта-генералиста в конкретных экологических условиях.

Выводы в целом соответствуют поставленным задачам и отражают содержание работы. Большой объем исследованного полевого и экспериментального материала, корректное применение гидробиологических, ихтиологических, паразитологических, экологических и биохимических методов, детальный анализ полученных данных и их статистическая обработка не оставляют сомнений в достоверности результатов и обоснованности выводов.

Замечания по работе.

1. В работе отсутствует описание полного систематического положения как паразита, так и основных видов хозяев. В отношении нематоды лишь упоминается во введении, что она является «типичным представителем семейства анизакидных нематод». В разделе 6.1 упоминается о наличии подвидов, при этом сами подвиды не указаны. Если это политипичный вид, хотелось бы знать, к какому подвиду относится изучаемые автором экземпляры нематод. При описании видов рыб указано, что они относятся к разным экологическим группам, но не отмечено, к каким систематическим группам они относятся.
2. Раздел «Статистическая обработка данных» описан очень скудно, поэтому возникает много вопросов по математической обработке данных. В частности, не понятно, как производился подсчет яиц (таблица 1.3), значения округлены до сотен, а то и до тысяч. Оценивалась ли статистическая значимость полученных результатов при изучении зависимости числа яиц (рис. 3.1.) от размеров самки? От какого хозяина получен материал? Каков объем выборки для самок нематод каждой размерной группы? Какая ошибка среднего? Что обозначено точками на рис. 3.1? В таблице 3.1 интервалы перекрываются. Это ошибка. Коэффициент детерминации 98%, а данных о дисперсии нет.
3. Судя по данным рисунков 5.1 и 5.2, зависимость активности ферментов от количества личинок отрицательная, следовательно, и коэффициенты корреляции должны принимать

отрицательные значения, а не положительные, как указано в тексте. В разделе 5.2. (5 абзац) указано, что полученные данные согласуются с данными других авторов, однако они противоположны для такого фермента как каталаза (рис. 5.3).

4. В работе цитируется устаревшая литература, особенно посвящённая особенностям жизненного цикла, исследованного посредством искусственного заражения хозяев паразита. Не считая работ самого автора диссертации, во всем библиографическом списке количество источников после 2010-го года не превышает десяти. Также хотелось бы видеть в обзоре больше ссылок на современные работы зарубежных авторов.
5. Имеется несоответствие задач и выводов: решение второй задачи раскрывается в трех выводах (2, 3 и 4), в то время как решение пятой задачи никак не отражено в выводах.
6. В тексте имеются опечатки, грамматические и орфографические ошибки.

Тем не менее, отмеченные недостатки достоинств самой работы ни в коем случае не умаляют.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертация Завьялова Андрея Вениаминовича является полноценным законченным трудом, выполненным автором самостоятельно на высоком научном уровне, написана хорошим литературным языком, стиль изложения – доказательный. Работа содержит достаточное количество исходных данных, иллюстрирована таблицами и рисунками. Основные этапы работы, значимость проведенного исследования, результаты и выводы представлены в автореферате, который соответствует содержанию диссертации.

Оценивая рецензируемую работу в целом, следует отметить высокую значимость представленных научных материалов, их фундаментальную ценность и практическую направленность. Результаты работы апробированы в форме докладов на международных и всероссийских конференциях и достаточно полно отражены в 15 публикациях, из которых 5 – в журналах из списка, рекомендованного ВАК.

Диссертационная работа «Особенности функционирования паразитарной системы нематоды *Hysterothylacium aduncum* (Rudolphi, 1802) в Чёрном море» соответствует требованиям пп. 9-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор, Завьялов Андрей Вениаминович, заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.16 – гидробиология.

Диссертационная работа Завьялова Андрея Вениаминовича рассмотрена на расширенном заседании кафедры зоологии и эволюционной экологии животных (протокол № 10 от 15 июля 2021 г.).

Зав.кафедрой зоологии и эволюционной
экологии животных Института биологии
федерального государственного
автономного образовательного учреждения
высшего образования
«Тюменский государственный университет»,
д-р биол. наук, профессор

Гашев Сергей Николаевич

Профессор кафедры экологии и генетики
Института биологии
федерального государственного
автономного образовательного учреждения
высшего образования
«Тюменский государственный университет»,
д-р биол. наук, доцент

Жигилева Оксана Николаевна

625003, г. Тюмень, ул. Володарского, 6
Тел.: 8 (3452) 59-74-29
8 (3452) 59-75-59 (факс)
<https://www.utmn.ru>
Адрес электронной почты: rector@utmn.ru

Подписи С.Н. Гашева и О.Н. Жигилевой удостоверяю

Ученый секретарь
федерального государственного
автономного образовательного учреждения
высшего образования
«Тюменский государственный университет»
канд. экон. наук, доцент

15 июля 2021 г.



Лимонова Эмма Михайловна