

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу **КУЗНЕЦОВОЙ Елизаветы Викторовны** «Микробное сообщество прибрежных мелководий Рыбинского водохранилища в условиях влияния жизнедеятельности колониальных птиц», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.10 – гидробиология

Диссертационная работа Е.В. Кузнецовой посвящена интересному и важному для развития гидробиологии вопросу – изучению воздействия на микробные сообщества прибрежных вод водохранилища такого характерного для многих водоемов биологического фактора, как крупные сезонные поселения колониальных гидрофильных птиц. Хорошо известно, что длительное, до полугода, пребывание таких колоний на побережье водоемов приводит к накоплению в этих местах большого количества продуктов жизнедеятельности птиц, значительная часть которых в конечном итоге поступает в водоем. Высокое содержание в этих продуктах легкодоступных соединений азота и фосфора приводит к обогащению этими биогенными элементами прибрежных вод. Это в первую очередь может оказывать влияние на микробные сообщества, а через их посредство – и на всю экосистему водоема. Оценке этого влияния на ключевые звенья микробного сообщества – бактериопланктон, вирусы и гетеротрофных нанофлагеллят и посвящена рецензируемая работа. С учетом слабой изученности данного вопроса и его важного значения для функционирования прибрежных экосистем многих крупных пресноводных водоемов считаю эту тему вполне актуальной.

Работа Е.В. Кузнецовой построена по традиционному плану и состоит из введения, обзора литературы, объектов и методов исследования, списка сокращений, заключения, выводов и списка литературы. Результаты и их обсуждение в работе тоже естественно имеются, однако они не выделены в отдельный раздел под таким же названием, а присутствуют в виде отдельных глав, которые расположены в диссертации после раздела "Объекты и методы исследований". Я обратил на это внимание, поскольку в диссертациях, которые обычно защищаются на биологическом факультете МГУ, присутствие разделов под названием "Результаты" и "Обсуждение" является обязательным. Посмотрел я с этой целью и другие диссертации, которые были защищены на совете ИБВВ

РАН и обнаружил, что в них также отсутствуют разделы под названием "Результаты" и "Обсуждение". На мой взгляд это не совсем удобно для тех, кто знакомится с диссертациями, поскольку бывает непросто с ходу определить, где же начинается изложение полученных в работе данных. Что касается статистических сведений о диссертации Е.В. Кузнецовой, то она сравнительно невелика по объему и изложена на 132 страницах машинописного текста, список литературы к диссертации включает 152 источника, в том числе 100 из них – на иностранных языках. В тексте диссертации имеется 16 таблиц и 16 рисунков.

В разделе «Введение» кратко изложены актуальность избранной темы исследований, степень ее разработанности, цели и задачи, положения, выносимые на защиту, а также научная новизна, теоретическое и практическое значение работы.

Обзор литературы, представленный в диссертации Е.В. Кузнецовой, по объему сравнительно невелик и изложен на 29 страницах. Тем не менее, в нем затронут широкий круг вопросов, связанных с тематикой выполненной работы. Основное внимание в обзоре уделено бактериопланктону, как основному компоненту микробного сообщества. Подробно рассмотрена роль бактериопланктона в "микробной петле", его размерно-морфологическая структура и физиологическая активность. Пространственное распределение бактериопланктона и его сезонная изменчивость рассмотрены на примере Рыбинского водохранилища, что в данном случае совершенно оправдано. Существенное внимание в обзоре заслуженно уделено функциональной роли гетеротрофного бактериопланктона в пресноводном водоеме и факторам, регулирующим его численность. Среди абиотических факторов вполне логично более подробно рассмотрены такие важные параметры, как температура и концентрация органического вещества, а среди биологических - гетеротрофные флагелляты, которые являются основными потребителями бактерий в водоемах, а также вирусы-бактериофаги, которые элиминируют значительную часть бактериопланктона. В последующих разделах обзора литературы рассматривается литораль водоема как экотонная зона и средообразующая роль гидрофильных птиц. В целом, обзор неплохо характеризует один из основных объектов исследования - бактериопланктон прибрежных вод и среду его обитания, причем как обычную, фоновую, так и подверженную влиянию колониальных гидрофильных птиц. В качестве замечания могу отметить, что

приводимые в диссертации общие сведения о вирусах и гетеротрофных жгутиконосцах пресных водоемов следовало бы дополнить данными о сезонной динамике численности этих групп микроорганизмов непосредственно в Рыбинском водохранилище. Также недостатком обзора литературы на мой взгляд является и отсутствие в нем общего заключения, в котором были бы отмечены наиболее важные выводы, которые из этого обзора следуют, причем с акцентом на те моменты, которые до сих пор остаются неизученными или слабо изученными. Не хватает подобных обобщений также и в большинстве отдельных разделов обзора литературы диссертации.

Вторая глава диссертации Е.В. Кузнецовой посвящена объектам и методам исследования. В первом разделе этой главы приводится краткая характеристика мест исследования, расположенных в прибрежно-мелководной части Рыбинского водохранилища, а также приводится описание характерных для этих мест физико-химических и биологических процессов. Второй раздел методической части диссертации содержит краткие сведения о технике отбора проб. В последующих трех разделах этой части работы описаны методы учета количественных параметров бактериопланктона, гетеротрофных флагеллят и вириопланктона. В целом, объекты и методы в диссертации в основном описаны достаточно подробно, а из приведенных описаний методов можно заключить, что работа выполнена на современном методическом уровне. Однако имеются к этой части работы и несколько замечаний. Первое замечание касается раздела 2.1, в котором содержится характеристика мест исследования. В этом разделе в таблице 2.2. приведены географические координаты станций отбора проб, их всего четыре — это станции, обозначенные буквенными индексами ЦФ, ЦК, ЧФ и ЧК. Далее приводится карта расположения этих станций, на которой станции ЦК и ЧК почему-то отсутствуют, а вместо них появляются станции под индексами Ц и Ч. Ниже в тексте диссертации в таблице 2.3. снова появляются названия станций ЦК и ЧК. В дальнейшем эти названия станций из текста диссертации исчезают и вместо них опять появляются названия этих же двух станций, но уже опять состоящие из одной буквы каждое, а именно - Ц и Ч. Следующее замечание касается компоновки содержания данной главы диссертации: - по непонятным для меня причинам в раздел, посвященный технике отбора проб попали подробные сведения о времени гнездования колониальных гидрофильных птиц, сроках выведения птенцов и т.п. Все эти сведения на мой взгляд следовало бы

разместить в предыдущем разделе, посвященном описанию мест исследования, кроме того, часть этих сведений уже была приведена в обзоре литературы в разделе 1.4.2 и их едва ли следовало повторять. Еще одно замечание касается формулы для расчета общей численности бактериопланктона, приведенной в разделе 2.3. В ней фигурирует некий коэффициент "Olympus". Стоило бы дать объяснение, что он обозначает и как вычисляется. Также имеется у меня замечание к разделу, посвященному определению продукции бактерий. В нем говорится о том, что диссертант использовал в качестве емкостей для инкубации проб воды некие "кислородки". Если речь идет о кислородных склянках, то лучше называть вещи своими именами, поскольку "кислородками" чаще всего именуют станции, на которых производится кислород. И, наконец, в качестве последнего замечания к методическому разделу диссертации должен отметить, что в описании базового метода, использованного в диссертации, а именно - эпифлуоресцентной микроскопии, отсутствуют какие-либо цифровые характеристики использованных в работе возбуждающих и запирающих фильтров или хотя бы марки фильтровых кубов, использованных при микроскопии окрашенных препаратов. Диссертантка при этом ограничивается лишь названием цветовой характеристики возбуждающего люминесценцию света, а именно - голубой, ультрафиолетовый и т.д.

Теперь об основной части диссертации, в которой приводятся результаты исследований, их обсуждение и сделанные на этом основании выводы. Этим вопросам посвящены третья, четвертая и пятая главы диссертации. В третьей главе рассматривается динамика численности и биомассы бактериопланктона и ее связь с некоторыми физико-химическими характеристиками окружающей водной среды. Исследования Е.В. Кузнецовой проводились в течении четырех лет, с 2009 по 2013 г.г., однако наиболее полный объем наблюдений, как она сама отмечает в диссертации, был выполнен в 2010 году, этот цикл наблюдений продолжался с апреля по август. Поэтому не случайно именно эти наблюдения были положены в основу главы, посвященной рассмотрению динамики численности и биомассы бактериопланктона в места гнездовий птиц и на фоновых станциях за их пределами. Если верить автореферату, то в 2010 году в защищенном мелководье в зоне поселения колонии птиц сем. чайковых по сравнению с фоновым участком бактериопланктон отличался по числу, срокам наступления и величине пиков общей численности, среднего объема клеток и

биомассы. Однако из рисунка 3.1, размещенного в начале третьей главы диссертации, на котором представлены средние значения и их доверительные интервалы по таким показателям, как численность и биомасса бактериопланктона на участках гнездовой птиц и за их пределами, следует, что достоверных различий между этими разнотипными участками побережья не наблюдается. Для меня осталось неясным, чем можно объяснить эти расхождения в толковании результатов. Что касается динамики биогенных элементов, то вполне ожидаемо на участках, где находились гнездовия птиц, были обнаружены более высокие концентрации общего азота и растворенного углерода по сравнению с фоновыми станциями, однако, как справедливо указано в выводах диссертации, это привело лишь к тому, что в зонах влияния птиц изменились сроки наступления весеннего и летнего пиков развития, кроме того - увеличилась вариабельность биомассы бактериопланктона. Таким образом, ни численность, ни биомасса бактериопланктона под влиянием воздействия гнездовой птиц по величине достоверно не изменились. Аналогичный вывод был сделан и на основании исследований межгодовой изменчивости бактериопланктона, полученных за четырехлетний период наблюдений на станциях, подверженных влиянию птиц и на фоновых станциях.

Глава четвертая диссертации посвящена изучению влияния гнездовой птиц на размерно-морфологическую структуру бактериопланктона и численность его активной фракции. Из этой главы следует, что в составе бактериопланктона всех исследованных биотопов литорали Рыбинского водохранилища доминировали мелкие (линейные размеры менее 2 мкм) одиночные клетки, составлявшие от 75 до 98% его численности. Среди них автор выделил три размерные группы клеток, однако описание этих групп в диссертации и в автореферате различается. Согласно диссертации, в первую группу были включены мелкие кокки и крупные палочки, а согласно автореферату в первую группу вошли палочки и вибрионы длиной 1–2 мкм и мелкие кокки диаметром менее 0.35 мкм. Во вторую группу согласно диссертации вошли крупные кокки и мелкие палочки, а согласно автореферату – среднеразмерные кокки и коккобациллы диаметром 0.35 – 0.45 мкм. В третью группу согласно диссертации вошли среднеразмерные кокки, а согласно автореферату – крупные кокки диаметром более 0,5 мкм. Чем объяснить такую разницу в описаниях размерных групп в автореферате и диссертации – не совсем непонятно. Далее никаких существенных различий при описании соотношений

размерных групп в биотопах, находящихся под влиянием птиц и фоновых в тексте диссертации не отмечается. В то же время в автореферате отмечается, что «в биотопах защищенной литорали постоянно наиболее многочисленными были среднеразмерные кокки и коккобациллы, объемы клеток которых не превышали 0.05 мкм^3 . Их доля в бактериопланктоне была выше в зоне влияния птиц по сравнению с фоновым биотопом. Встречаемость в сообществах крупных палочек и вибрионов, и мелких кокков изменялась синхронно, причем более интенсивно на заселенных птицами участках». Чему верить в данном случае – автореферату или диссертации – остается неясным. Последний раздел четвертой главы посвящен оценке влияния колоний гидрофильных птиц на численность жизнеспособной и активной фракций бактериопланктона. О численности жизнеспособных бактерий судили по количеству клеток с неповрежденным нуклеоидом, а о величине активной их фракции – по доле в составе бактериопланктона клеток, находящихся в стадии деления. Результат оказался довольно неожиданным – доля жизнеспособных клеток в составе БП оказалась выше на фоновом участке, чем на участке, заселенном птицами. Что касается доли делящихся клеток в составе бактериопланктона, то она колебалась от 3% до 7%. При этом средняя доля делящихся бактерий на заселенном чайками участке была опять же меньше, чем в фоновом биотопе. Наиболее вероятное объяснение этим наблюдениям автору диссертации удастся найти лишь в результате исследований взаимоотношений бактериопланктона с другими группами гидробионтов, а именно – фитопланктоном и гетеротрофными наноплагеллятами, а также с вирусами.

Этим взаимоотношениям посвящена пятая, заключительная глава диссертации. Что касается фитопланктона, то относительно слабые отрицательные корреляции численности бактерио- и фитопланктона были обнаружены только в 2011 году, причем как на участке побережья, находящемся под воздействием колоний птиц, так и на фоновом участке. В 2010 и 2013 значимых корреляций между численностью бактерио- и фитопланктона обнаружено не было. Не вполне понятно, почему на этом основании автором диссертации сделано предположение, о том, что «в зоне влияния птиц наблюдалась равновесная конкуренция за биогенные элементы между бактерио- и фитопланктоном, а в фоновом биотопе – множество сложных взаимоотношений характер которых мог быть разным: от комменсализма до конкуренции». Судя по

представленным данным, на мой взгляд можно отметить лишь то, что тесной связи между численностью фито- и бактериопланктона не наблюдается. В данном случае нельзя не согласиться с приводимым в этом же разделе мнением автора диссертации о том, что «защищенное зарастающее мелководье Рыбинского водохранилища характеризуется высоким трофическим статусом. В этих условиях трудно выявить влияние колониально гнездящихся птиц, как поставщиков субстратов и биогенных элементов на развитие гидробионтов». К этому необходимо добавить, что и в условиях открытого мелководья водохранилища, где автором диссертации исследовалось влияние на микробные сообщества массовых гнездовых цапель, выявить какие-либо заметные изменения исследованных микробиологических параметров по сравнению с фоновым биотопом оказалось не менее сложной задачей, но уже по совсем другим причинам.

И наконец последний подраздел пятой главы диссертации посвящен исследованию двух важнейших процессов, ведущих к элиминации бактерий в исследованных биотопах. Оба эти процесса относятся к контролю численности бактериопланктона сверху. Это процессы потребления бактерий гетеротрофными нанофлагеллятами и это лизис клеток бактериопланктона вирусами. Можно полагать, что по технике исполнения это самый технически сложный для исследователя раздел диссертации, поскольку наряду с численностью бактерий было необходимо исследовать численность крупных и мелких гетеротрофных жгутиконосцев, а также вирусов. Кроме того, с использованием сканирующей электронной микроскопии была учтена также и численность бактерий, инфицированных вирусами. Как и в остальных случаях, резких различий исследованных показателей на станциях, находящихся в зонах поселения птиц и на контрольных участках, находящихся за пределами этих зон, установить не удалось. Тем не менее, полученные Е.В. Кузнецовой количественные результаты позволили ей с большой долей вероятности утверждать, что в защищенной литорали Рыбинского водохранилища гетеротрофные нанофлагелляты предпочтительно выедают крупные палочки и вибрионы, в том числе одиночные клетки размером 1–2 мкм, а по численности в сообществе доминируют клетки, линейные размеры которых составляют менее 0.5 мкм. Причем это предпочтение особенно четко проявлялось в фоновом биотопе. В то же время в биотопе, заселенном водными птицами, потребление протистами крупных палочек и

вибрионов было менее избирательным. Также можно отметить важное заключение автора диссертации о том, что в зоне влияния птиц увеличивалась роль вирусного лизиса в смертности бактериопланктона, поскольку бактериофаги контролируют количественное развитие не только мелких и среднеразмерных кокков, но и крупных палочковидных бактерий, которые обычно являются наиболее активными. Что касается такого показателя, как количество инфицированных вирусами бактерий и вирус-индуцированная смертность бактерий, то он был выше в зоне влияния птиц, чем на фоновом участке. Однако различия между этими биотопами по средним значениям данного параметра составили всего около одного процента. В связи с этим у меня возникает вопрос о том, является это различие значимым или нет.

Еще одно мое замечание касается гидрохимических показателей, которые были использованы Е.В. Кузнецовой при выполнении диссертационной работы. На мой взгляд, выбор в качестве таких показателей общего азота и растворенного органического и неорганического углерода не является удачным. Хорошо известно, что лишь небольшая доля растворенного и взвешенного углерода, также, как и общего азота, доступна для микроорганизмов. Гораздо более эффективным в данном случае могло быть определение содержания в воде таких доступных для бактерио- и фитопланктона базовых форм азота и фосфора, как нитраты, аммиачный азот и фосфаты.

Завершая обзор экспериментальной части работы, должен отметить, что диссертация Е.В. Кузнецовой была бы значительно более информативной, если бы в ней присутствовали сводные таблицы с результатами всех выполненных наблюдений. Обычно такие таблицы приводятся в приложении к работе и это позволяет любому заинтересованному специалисту извлечь конкретную, выраженную в цифрах, информацию о величине каждого исследуемого параметра для каждой конкретной даты наблюдений.

Выводы диссертации в основном соответствуют полученным результатам, хотя на мой взгляд наиболее удачно и обоснованно выводы из проделанной диссертанткой большой и кропотливой работы, содержатся в положениях, которые были вынесены Е.В. Кузнецовой на защиту. Они приведены во введении к диссертационной работе, их всего три и каждое из этих положений в полной мере подтверждено полученными Е.В. Кузнецовой результатами и потому не вызывает у меня никаких сомнений.

К оформлению диссертации замечаний у меня нет. В работе практически нет опечаток, она изложена очень грамотным и понятным языком. Не могу не отметить лишь вероятно забытую автором диссертации приписку к подрисуночной подписи на стр. 97 диссертации, которая гласит: «года на рисунке надо подписать». Однако этого диссертанткой так и не было сделано.

В заключении, походя к общей оценке диссертации в целом, должен отметить, что сделанные мною замечания не умаляют ценности полученных Е.В. Кузнецовой данных. Ею выполнен большой объем полевых наблюдений и лабораторных анализов, в ходе которых были использованы общепринятые в мировой практике методы и современное оборудование. Это позволило впервые в течении нескольких весенне-летних сезонов провести наблюдения за динамикой количественных параметров микробных сообществ как на открытых, так и на защищенных участках прибрежных мелководий крупного равнинного водохранилища умеренных широт, причем как испытывающих влияние колониальных поселений птиц, так и свободных от их присутствия. Особо в качестве заслуги диссертантки хочу отметить, что в ходе исследований Е.В. Кузнецова не ограничилась только изучением бактериопланктона, ею были исследованы его взаимоотношения с другими компонентами микробного сообщества, а именно - с гетеротрофными нанофлагеллятами, фитопланктоном и вирусами. Полученные Е.В. Кузнецовой результаты, приведенные в диссертации, безусловно имеют практическое и теоретическое значение, они вносят вклад в развитие пресноводного направления гидробиологии. Выполненная Е.В. Кузнецовой работа соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям (пп. 9-11, 13, 14 Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением правительства РФ № 842 от 24 сентября 2013 г.), а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.10 – гидробиология.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова» (МГУ), Биологический факультет, доктор биологических наук, профессор, и.о. заведующего кафедрой гидробиологии

119234, Россия, Москва, Ленинские горы, д. 1,
стр. 12, Биологический факультет МГУ.
Тел. 8 495 939 11 48
vladilinskiy@gmail.com, [http:// www.bio.msu.ru](http://www.bio.msu.ru)



Ильинский В.В.

ПОДПИСЬ РУКИ
ЗАВЕРЯЮ

Документовед биологического факультета МГУ

СВЕДЕНИЯ

об официальном оппоненте

по диссертационной работе Кузнецовой Елизаветы Викторовны
«Микробное сообщество прибрежных мелководий Рыбинского
водохранилища в условиях влияния жизнедеятельности колониальных
птиц», представленной на соискание ученой степени кандидата
биологических наук по специальности – 03.02.10 – гидробиология

Фамилия, имя, отчество (полностью)	Место основной работы – полное наименование организации (с указанием полного почтового адреса, телефона (при наличии), адреса электронной почты (при наличии), должность, занимаемая им в этой организации (полностью с указанием структурного подразделения)	Ученая степень (с указанием отрасли наук, шифра и наименования научной специальности, по которой им защищена диссертация)	Ученое звание (по специальности или по кафедре)
Ильинский Владимир Викторович	Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова» (МГУ), Биологический факультет, кафедра гидробиологии. Адрес: 119234, Россия, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12, Биологический факультет Телефон рабочий: 8 495 939 11 48 Электронная почта: vladilinskiy@gmail.com Профессор, и.о. заведующего кафедрой гидробиологии	Доктор биологических наук Специальность: 03.02.10 — гидробиология	нет

Основные публикации по теме диссертации в рецензируемых научных изданиях за последние 5 лет (не более 15):

1. Мошарова И.В., Мошаров С.А., Ильинский В.В. Особенности распределения бактериопланктона с активным метаболизмом в водах желоба Святой Анны (Карское море) осенью 2011 г // *Океанология*. 2017. Том 57. № 1. С. 128-136
2. Акулова А.Ю., Мошарова И.В., Ильинский В.В., Москвина М.И., Мошаров С.А., Комарова Т.И. Изучение сезонной динамики численности и активности бактериопланктона на примере озера Белое в Косино // *Естественные и технические науки*. 2016. Том 6. № 96. С. 16-24
3. Мошарова И.В., Ильинский В.В., Мошаров С.А. Состояние гетеротрофного бактериопланктона эстуария реки Енисей и зоны Обь-Енисейского речного выноса в осенний период в связи с факторами окружающей среды // *Водные ресурсы*. 2016. Том 43. № 2. С. 202-215.
4. Мошарова И.В., Ильинский В.В., Корсак М.Н. Экологический мониторинг водных экосистем на основе нового микробиологического метода // *Безопасность в техносфере*. 2016. № 4. С 23-29
5. Мошарова И.В., Ильинский В.В., Маторин Д.Н., Мошаров С.А., Акулова А.Ю., Протопопов Ф.Ф. Мониторинг вод реки Москва с помощью микробиологических параметров и флуоресценции хлорофилла *a* // *Микробиология*. 2015. Том 84. № 6. С. 712-724
6. Мошарова И.В., Ильинский В.В., Акулова А.Ю. Применение микробиологических показателей для оценки эколого-санитарного состояния прибрежной зоны озера Белое // *Здоровье населения и среда обитания*. 2014. Том 9. № 258. С. 21-24.