

О Т З Ы В

официального оппонента Лайуса Дмитрия Людвиговича
на диссертационную работу Рольского Алексея Юрьевича
«ОСОБЕННОСТИ ДИФФЕРЕНЦИАЦИИ МОРСКИХ ОКУНЕЙ РОДА
SEBASTES АТЛАНТИЧЕСКОГО И СЕВЕРНОГО ЛЕДОВИТОГО ОКЕАНОВ»,
представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по
специальности 03.02.06 – ихтиология

Актуальность темы диссертации

Объектом настоящего исследования являются четыре вида морских окуней рода *Sebastes*: окунь-клювач (*S. mentella*), золотистый окунь (*S. marinus*), американский окунь (*S. fasciatus*) и малый морской окунь (*S. viviparus*), обитающие на акватории Атлантического и Северного Ледовитого океанов. Эти рыбы - важные объекты промысла для ряда государств, включая Россию. В России наиболее важное промысловое значение имеют окунь-клювач и золотистый морской окунь, причем на первого в последние десятилетия приходилось примерно две трети общего вылова. В 1970-80-х гг промысел морских окуней был очень интенсивным, что привело к перелову и снижению запасов этих рыб. До сих пор запасы полностью не восстановились, хотя тенденция к этому имеется. Проблема усугубляется тем, что морские окуни очень медленно растут и созревают. Ряд видов морских окуней внесен в красную книгу Международного союза по охране природы (IUCN), в России WWF также предлагает ограничить их потребление в связи с низкой численностью и использованию донного трала при их промысле ([https://www.wwf.ru/about/what we do/seas/fish_guide/fish/297](https://www.wwf.ru/about/what-we-do/seas/fish-guide/fish/297)). Это говорит о том, что управление промыслом морских окуней неэффективно, и очевидно, что одной из причин этой неэффективности является недостаточно изученные межвидовые взаимоотношения между морскими окунями и их популяционная структура. Ввиду незначительной морфологической изменчивости этой группы рыб основное внимание необходимо уделить генетическим признакам, что и делается в настоящей работе. Поэтому сомнений в актуальности темы диссертации не возникает. В то же время, мне представляется, что автор мог бы уделить больше внимания промысловой значимости морских окуней, чем это сделано в работе.

Новизна проведенных исследований и полученных результатов

Следующие результаты автор считает оригинальными.

- Разработана оригинальная тест-система на основе аллель-специфической ПЦР к двум точкам контрольного региона (D-loop) мтДНК, позволяющая всего в два этапа со 100 % надежностью определять видовую принадлежность всех североатлантических морских окуней (или материнский вид в случае гибридов).

- Установлен порядок дифференциации североатлантических морских окуней рода *Sebastes*. Показано, что первым от общего предка аллопатрически отделился предок *S. viviparus*, а далее видообразование шло от *S. fasciatus* к *S. marinus* и далее к *S. mentella*.

- Показано, что окунь-клювач представлен двумя филогенетическими линиями, которые имеют генетические различия качественного уровня: в отличие от представителей линии А у представителей линии В имеется дополнительный нуклеотид в строго определенной точке последовательности контрольного региона мтДНК. Исследован ареал обеих линий и показано, что представители линии В распространены повсеместно в Северной Атлантике, но практически отсутствуют в морях Северного Ледовитого океана.

- Методом аллозимного анализа показано, что межвидовая гибридизация идет не только между *S. fasciatus* x *S. mentella* и *S. fasciatus* x *S. marinus* в Северо-Западной Атлантике, как это считалось ранее (Roques *et al.*, 2001; Valentin, 2006), но и между *S. mentella* и *S. viviparus* в море Ирмингера. Обнаружены и возвратные гибриды, что говорит об интрогрессии. Кроме того, впервые обнаружены гибриды *S. mentella* x *S. marinus* и *S. marinus* x *S. viviparus* и доказательства их плодовитости.

Действительно, все эти результаты являются оригинальными, причем важно отметить, что А.Ю. Рольскому удалось предложить решения как в области методики, так и в области филогении и популяционной генетики, что говорит о высоком исследовательском потенциале диссертанта в разных областях.

Степень обоснованности и значимости положений, выносимых на защиту

На защиту вынесены следующие основные положения.

1. Видообразование у морских окуней рода *Sebastes*, обитающих в Северной Атлантике и морях Северного Ледовитого океана, происходило в несколько этапов. На первом этапе произошло аллопатрическое разделение предковой формы, проникшей из Тихого океана, на две самостоятельные линии, одна из которых стала предком современного *S. viviparus*, а вторая дала начало трем современным видам морских окуней. Здесь видообразование шло в направлении от *S. fasciatus* к *S. marinus* и далее к *S. mentella*.

Защищая это положение, автор подробно рассматривает предыдущие представления о филогении группы и на основе собственных результатов и критического анализа представлений предшественников приходит к собственному оригинальному и хорошо поддержанному эмпирическим фактами, представлению. Попутно автор пишет о том, что полученные результаты опровергают гипотезу «молекулярных часов» для морских окуней. Это достаточно сильное утверждение и не первый случай критики данной гипотезы. Поэтому, с моей точки зрения, оно требует более серьезного анализа. Это, впрочем, отмечает и сам диссертант, не углубляясь, однако, в этот анализ.

2. В настоящее время самый молодой вид, окунь-клювач, представлен двумя филогенетическими линиями (А и В), между которыми имеются качественные различия. Представители этих линий пережили последнее оледенение в двух разных рефугиумах, причем представители линии А расселились впоследствии по всему современному ареалу вида, а представители линии В заселили только Северную Атлантику, но не моря Северного Ледовитого океана. Группировки окуня-клювача этих двух районов являются самостоятельными популяциями.

Оригинальное и хорошо обоснованное положение, имеющее серьезные последствия как для управления промыслом морских окуней, так и для теории видообразования. Эти данные имеют также большое значение для понимания влияния оледенений на формирование ареалов организмов в Северной Атлантике и Северном Ледовитом океане.

3. В популяциях североатлантических *Sebastes* активно идут процессы межвидовой гибридизации, которые размывают картину, и затрудняют реконструкцию древних процессов.

Гибридизация разных видов морских окуней - принципиальное и хорошо обоснованное положение этой диссертации, подкрепленное значительным объемом эмпирических данных. При этом, несколько раз повторяющаяся фраза о том, что гибридизация «размывает картину» древних процессов, хотя интуитивно и понятна, выглядит голословной за недостатком серьезного обоснования, особенно учитывая довольно низкую частоту гибридизации – в особенности, возвратной, т.е. той, которая имеет существенные эволюционные последствия. Кроме того, хотелось бы обратить внимание диссертанта на то, что гибридизация может играть роль при внутривидовой дифференциации морских окуней, как, например, это имеет место у человека разумного (*Homo sapiens*), когда гены другого вида – неандертальца (*H. neandertalensis*), с которым наш вид вступал в гибридизацию, чаще встречаются у коренных жителей холодных регионов, очевидно, давая селективное преимущество при адаптации к холоду.

Теоретическая и практическая значимость результатов, полученных в диссертации

Теоретическая значимость работы состоит в том, что полученные материалы позволяют лучше понять механизмы видообразования. Причем, поскольку история оледенений в данном регионе известна достаточно хорошо, возможен анализ причинно-следственных связей, когда изменение биологических характеристик популяций и видов является следствием известных геологических процессов. Обсуждение послеледниковой эволюции морских окуней в общем контексте, привлекая другие виды, позволит представить себе общую картину событий. Здесь можно отметить следующее. Автор пишет, что ледниковая и постледниковая история морских окуней сходна с историей таких видов, как обыкновенный лаврак, треска и мойва. При этом, не упоминается о том, что это не единственная возможность, и что существуют и другие организмы, такие как сельди, моллюски макамы и мидии, у которых постледниковая история иная, связанная с трансарктическими миграциями популяций из Тихого океана в Атлантику (см. например, Laakkonen et al., 2013, *BMS Evolutionary Biology*, 13: 67 и ссылки в этой статье). Поскольку атлантические морские окуни также имеют родственные виды в Пасифике, интересно было бы проанализировать, почему сходный сценарий не реализовался и у них.

Практическая значимость работы очевидна и связана с промысловым значением объекта исследования – морских окуней. Разработанные тест-системы, разработанные как для идентификации видов, так и для идентификации популяций окуня-клювача, при условии их применения при оценке состояния запасов морских окуней, могут играть важную роль при разработке стратегии

охраны и эффективной эксплуатации этих рыб. Наличие системы генетических маркеров позволяет более эффективно вести поиск морфологических маркеров, которые могут оказаться более эффективными в полевых условиях. Здесь можно отметить также и тему, связанную с видами-двойниками (или криптическими видами), которая имеет как практическое, так и теоретическое значение. Эта тема, довольно подробно рассмотрена автором в Обзоре литературы, но не получила развития в работе в дальнейшем. Хотя тема критических видов, является сейчас очень популярной, необходимо подходить к ней критически, т.к. далеко не все виды, которые сейчас описываются как криптические, являются таковыми на самом деле, поскольку часто они оказываются псевдо-криптическими в силу недостаточного внимания, уделенного морфологическому анализу (подробнее см. Lajus et al., 2015. Ecology and Evolution, 5 (12). DOI: 10.1002/ece3.1521).

Замечания по диссертационной работе

Курсивом дается цитата из работы, комментарий оппонента - обычным шрифтом.

Название: *“ОСОБЕННОСТИ ДИФФЕРЕНЦИАЦИИ МОРСКИХ ОКУНЕЙ РОДА SEBASTES АТЛАНТИЧЕСКОГО И СЕВЕРНОГО ЛЕДОВИТОГО ОКЕАНОВ”*

Нужно указать, о какой именно дифференциации идет речь - экологической, генетической, морфологической, видовой, популяционной?

Стр. 4 – нужны ключевые ссылки ко второму предложению.

Стр. 5. *Задача 4. Изучить на массовом материале генетические особенности и особенности формы отолитов наиболее молодого вида североатлантических *Sebastes* и, в случае неоднородности признаков, оценить распределение различных вариантов генов по ареалу вида с целью изучения процессов послеледникового расселения и формирования популяций данного вида.*

Не вполне понятно, почему уже при формулировке задач особое внимание планируется уделять наиболее молодому виду. После знакомства с работой это становится понятнее, но мне кажется, что наиболее молодому виду уделено максимальное внимание, скорее, не в связи с его филогенетической молодостью, а с широким распространением и выраженной структурированностью.

Стр. 8-9 и вообще в работе. Для читателя, который не связан с морскими окунями в повседневной работе, не очень удобен постоянный переход между латинскими и русскими названиями морских окуней. Было бы проще, если бы автор, в начале работы привел бы соответствие между русскими и латинскими названиями, в тексте придерживался бы какой-либо одной системы.

Рис. 2. Два раза указан *S. marinus*. Очевидно, самый левый овал нужно назвать “*S. mentella*”.

С. 15: *“Когда датский исследователь Б. Фернхольм (Fernholm, Wheeler, 1983) выполнил ревизию литературных данных...”* Следует написать «Когда Б. Фернхольм и А. Веллер (Fernholm, Wheeler, 1983)...» поскольку речь идет о совместной работе.

С. 16: *«У всех североатлантических *Sebastes* темп роста медленный, в основном он увеличивается от мелководных видов к глубоководным...»*. До этого нужно написать, какие виды глубоководные, а какие – мелководные.

Стр. 23. Рис. 4. Вербальное описание ареала малого морского окуня не соответствует карте.

Стр. 35. «Особенно интересна работа германского исследователя (Rehbein, 2013),...».

Мне представляется, что в данном случае национальность ученого не столь важна, важнее, наверное, было бы указать фамилию в русской транскрипции. Кроме того, ученых из Германии обычно называют немецкими.

Табл. 3 - не вполне понятно, что есть «*основные морфологические признаки*». Это те, которые показаны на рис. А.1? Или А1+А2?

Стр. 59: «*Возраст рыб определяли по чешуе. Для корректировки результатов определения возраста по чешуе дополнительно использовали отолиты*». Непонятно, в каких именно случаях, и каким именно образом проводилась эта корректировка. Что делали, если результаты анализа по чешуе и отолитам отличались? Где приведены результаты определения возраста?

Стр. 60: «*Отолит перед просмотром распиливали таким образом, чтобы срез проходил перпендикулярно его продольной оси*». Поскольку таких осей имеется бесконечное множество, этого описания недостаточно.

Стр. 61. «*Из раствора Буэна кусочки гонад перекладывали в отдельные емкости с раствором для гистологической обработки IsoPrep («БиоВитрум», Россия) в объемном соотношении образец\фиксатор 1:50 и оставляли на ночь*». И далее: «*Затем образцы оставляли в растворе на ночь. Далее обезвоженные образцы помещали в гомогенизованную парафиновую смесь Histomix («БиоВитрум», Россия) по схеме: 2 часа x 1; 3 часа x 2, затем оставляли на ночь*».

Ночь – не очень точная единица измерения времени, особенно в высоких широтах, где проводилось исследование – она может продолжаться от 0 до 24 часов в зависимости от сезона. Поэтому лучше указывать продолжительность обработки в часах.

Стр. 78: «*К моменту начала наших работ по изучению морских окуней Северной Атлантики и Северного Ледовитого океана стало очевидно, что несмотря на многолетние исследования этих рыб, в том числе и генетические, пока не удалось найти такие признаки или генетические маркеры, которые позволяли бы однозначно определять видовую принадлежность любой конкретной особи*».

Поскольку генетические маркеры – тоже признаки, нужно конкретизировать, какие именно признаки имеются в виду. По-видимому – морфологические.

Табл. 9. «*побережье о. Средний*» - правильнее написать «район о. Средний» - как это сделано, например, в Табл. Б.1.

Непонятно, что означает слово «число» в заголовке самого правого столбца таблицы. По-видимому, это «значение признака». Мне представляется, что обозначение того или иного признака числом, которое используется по всей работе, не очень удачно, т.к. не несет никакой информации о признаке. В научных работах с этой целью гораздо чаще используют краткие обозначения, которые гораздо информативнее и не требуют постоянного обращения к легенде при изучении таблицы.

Стр. 90: «*Возраст рыб, определенный по препаратам отолитов, составил 19 и 22 года соответственно*». Почему в данном случае для определения возраста использованы отолиты, а не чешуя, которая, как написано выше, была основной структурой для определения возраста?

Стр. 91: «*Тем не менее, нельзя исключить и того, что крупные половозрелые особи самостоятельной беломорской популяции держатся на больших глубинах, которые в Белом море никем не облавливаются, тем более, что в Баренцевом море половозрелые окуни этого вида держатся, как правило, на глубинах 100-250 м*».

Температурные условия на этих глубинах в Баренцевом и Белом море сильно отличаются – в Белом море существенно холоднее. Поэтому, предположение о том, что окуни держатся там, кажется маловероятным. Или, во всяком случае, требует дальнейшего обоснования.

При обсуждении жизненного цикла морских окуней из Белого моря было бы полезно сопоставить размерно-возрастные характеристики пойманных рыб с «обычными» окунями из Баренцева моря. Сильное отличие будет свидетельствовать в пользу того, что условия обитания окуней в Белом море очень необычны для них и их размножение здесь маловероятно.

Стр. 101. *«Из таблицы следует, что основной вклад (43%) в различия между формами отолитов вносит первая компонента (ГК 1)» - ГК 1 по определению вносит максимальный вклад в общую изменчивость. Именно потому она и первая.*

Рис. 20: *«Белым цветом обозначена доля представителей линии А в каждой выборке, темно-серым – доля представителей линии В».*

По-видимому, белый и темно-серый цвета спутаны с синим и красным соответственно.

Глава 4: Интересно, имеются ли отличия между линиями клювача А и В в отношении «основных» морфологических признаков.

Стр. 134. *«Появление гибридов окуня-клювача с другими видами североатлантических *Sebastes* и, судя по литературным (Novikov et al., 2006) и собственным данным, периодическое увеличение их численности, оказывает значительное влияние на генофонд наиболее важного промыслового вида – *S. mentella*».*

Непонятно, на чем основано утверждение о значительности влияния (и как она оценивалась) при том, что частота гибридов довольно низка.

Стр. 139: *«Среди морских окуней с аномальной морфологией и окуней-гигантов доля гибридов повышена».*

Я не нашел результатов статистического анализа, на котором основано это утверждение.

Общая характеристика диссертационной работы

В целом, работа производит очень хорошее впечатление как своим высоким научным уровнем, так и оформлением. Она очень хорошо написана, и легко читается. Автор очень подробно и последовательно объясняет логику исследования, что говорит об очень глубоком понимании автором сути своего исследования и читатель воспринимает ее как единое целое, несмотря на то, что в исследовании используются очень разнообразные методы.

В целом, несмотря на отмеченные недостатки и замечания, представленная диссертация представляет собой законченную научно-квалификационную работу, выполненную на актуальную тему.

Цель работы достигнута с помощью применения адекватных методов, в основном оригинальных.

Результаты диссертационной работы, выносимые на защиту, прошли достаточную апробацию на 5 международных и всероссийских научных конференциях и опубликованы в 14 печатных работах, 4 из которых в рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК.

Автореферат полностью отражает содержание диссертации.

Учитывая актуальность выполненных исследований, научную новизну,

