

Отзыв официального оппонента на диссертацию  
**Андрея Александровича Юрченко**  
**«Генетическая структура популяций сахалинского тайменя *Parahucho perryi* Brevoort и вопросы природоохранной генетики вида»,**  
представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – генетика

Исследование генетической структуры популяций сахалинского тайменя, единственного дальневосточного вида лососевых, занесенного в Красную книгу России является необходимой предпосылкой при разработке и реализации любых мер по охране и восстановлению численности этого вида. Уникальный полупроходной вид семейства лососевых, сахалинский таймень *Parahucho perryi* (Brevoort, 1856) обладает рядом особенностей такие как частые миграции в пределах пресноводного водоема с выходом в побережье, долгий жизненный цикл, большие размеры, которые делают его крайне уязвимым к антропогенным воздействиям и изменениям климата. Актуальность работы направленной на изучение популяционно-генетической структуры этого вида не представляет сомнения.

Диссертация имеет классическую структуру, состоит из Введения, и трех глав: Обзор литературы, Результаты, Обсуждение. Завершают работу выводы, список использованной литературы и пяти Приложений. Всего работа изложена на 168 страницах, имеется список литературы состоящий из 232 работ, в том числе 194 на иностранных языках. Имеется 14 таблиц и 43 рисунка.

По результатам работы имеется 6 публикаций, из них 2 – в журналах из списка ВАК.

**В Введении** изложена актуальность темы, степень разработанности темы исследования, а также сформулированы цели и задачи диссертационной работы. Также обосновывается научная новизна и теоретическая и практическая значимость работы.

**Глава 1** (Обзор литературы) очень хорошо структурирована и состоит из 10 разделов. Первые пять посвящены объекту исследования/, и включают Обзор ареала вида как современный так и в историческом периоде, Положение сахалинского тайменя в системе лососевых рыб, биология вида, а также обзор исследований по сокращению ареала вида и разбор основных факторов, приводящих к снижению численности и сокращению ареала.

Вторая часть литературного обзора состоит из анализа различных аспектов современной природоохранной генетики. Разбираются концепции популяционно-генетических системы видов, отдельный раздел посвящен концепции метапопуляций и в частности в применении ее к лососевым видам рыб. В завершение обзора рассматриваются проблемы сохранения биоразнообразия на уровне вида, эволюционно-значимой единицы и единицы запаса, а также рассматриваются генетические риски при сохранении популяций и видов.

В **главе 2**, в которой подробно описаны материалы и методы исследования, состоит из трех разделов – сбор материала, генетический анализ и статистический анализ полученных данных. В первом разделе описаны использованные снасти (закидной невод и спиннинг). Работы с отловом краснокнижного вида проводились согласно разрешению Минприроды и с выпуском выловленных особей обратно в среду обитания. Также автором использовались чешуйные книжки, из которых была получена ДНК удовлетворительного качества. Список исследованных локальностей занимает несколько страниц в приложении 1. География сборов покрывает большую часть ареала, включает как Сахалин (большинство собранных локальностей) так и приморский край и южные Курилы. К сожалению, исследованием остались не охвачены японские острова.

Второй раздел посвящен описанию методов генетических исследований. Следует отметить большую работу по адаптации известных праймеров, а также разработке новых праймеров на основании депонированных последовательностях микросателлитных локусов с целью

получения ПЦР-продукта оптимальной для акриламидного электрофореза размера. Всего в работе было использовано 19 локусов, что представляет собой очень солидную информативную панель генетических маркеров. Также было проведено секвенирование двух фрагментов митохондриальной ДНК – фолмеровского фрагмента гена *COI* (ДНК-штрихкод) и участка гена *CytB*.

Наиболее подробно описана статистическая обработка полученных данных (раздел 3). Описан принцип анализа дифференциации локальных выборок и объединения таких выборок в случае, когда не было найдено статистически значимой генетической дифференциации по результатам попарного теста гетерогенности. Это важный элемент анализа, поскольку сахалинский таймень является редким видом, и большинство локальных выборок состояло из считанных образцов. Было проведено два основных типа анализа – кластеризация в пространстве главных компонент и assignment test, реализованный в программе STRUCTURE.

Анализ последовательностей митохондриальной ДНК выполнялся классическим набором программ, включая DNASP, MrBayes и ряд других. Анализ дисперсии молекулярного разнообразия (AMOVA) проводился в программе Arlequin.

В целом можно с уверенностью утверждать, что автор владеет как методами секвенирования и исследования микросателлитных локусов, так и современными методами статистического анализа молекулярно-генетических данных.

**Глава3** (Результаты), изложена на 30 страницах и состоит из 8 разделов. В первом разделе обсуждается отклонение от соотношения Харди-Вайнберга как в отдельных выборках, так и в объединении выборок одного водоема. Избытка гетерозигот не отмечено, однако в 3 выборках и 4 популяциях обнаружен недостаток гетерозигот. Диссертант объясняет этот провал гетерозигот эффектом Валунда, поскольку большинство выборок относятся к озерно-лагунным системам с впадающими в них реками и

ручьями, где происходит размножение тайменя. Показано, что Выборки сахалинского тайменя демонстрируют высокую степень популяционно-генетической дифференциации. В разделе 2 рассматривается кластеризация особей на основе попарных индивидуальных расстояний и методом анализа в пространстве главных компонент. По результатам PCA анализа отчетливо выделяются в отдельные группы особи из бассейна реки Поронай, с юга Хабаровского и Приморского краев, а также с Сахалина вместе с Курильскими островами и островом Хоккайдо, однако большинство кластеров значительно перекрываются. В следующем разделе используется метод кластеризация выборок в пространстве главных компонент и на основе попарных генетических расстояний, который приводит к сходным результатам. Наибольшую статистическую поддержку и уникальность демонстрируют группы популяций бассейна реки Поронай, материкового побережья, а также удаленные популяции острова Итуруп.

Особый интерес представляет раздел 4, в котором используется программа STRUCTURE для выявления иерархической популяционной структуры сахалинского тайменя. В отличие от большинства подобных исследований, автор не идет по пути выявления оптимального  $K$ , и в дальнейшем использования только этого значения  $K$  для анализа структуры популяций. Напротив, проводится анализ правдоподобия  $K$  при значениях от 2 до 30, вычисляется дисперсия значений при 10 повторях и на основании этого делается вывод что оптимальное  $K$  находится в диапазоне от 5 до 11. Далее автором применяется иерархический подход (определение оптимального числа популяций, а затем повторение анализа для каждого кластера в отдельности). Автор справедливо указывает, что высшая популяционная иерархия, в значительной степени совпадает с выявленной другими методами – кластеризацией на основе меры  $D_{ps}$  и анализом главных компонент. Во втором раунде, при анализе каждого из 5 кластеров в отдельности, выявляется низкоуровневая популяционная структура вида. Проведенный иерархический анализ выборок тайменя, проведенный

диссертантом, на мой взгляд, является одним из наиболее элегантных и полных в отечественной популяционно-генетической литературе.

В разделе 5 приводятся результаты Mantel-test, позволяющие выявить корреляцию между генетическими дистанциями и географическими расстояниями между выборками. Эта зависимость наблюдается как для всех популяций вида вместе, так и для отдельных районов (популяции Татарского пролива, северо-восточного Сахалина), что не удивительно поскольку данный вид обладает хоть и ограниченной, но способностью миграции в море.

Раздел 6 (Микросателлитное генетическое разнообразие и оценка эффективной численности популяций сахалинского тайменя) по логике исследования должен был бы стоять в начале главы Результаты – в нем приводятся как основные данные по аллельному разнообразию, гетерозиготности всех 32 исследованных выборок, а также на основании неравновесия по сцеплению проводится оценка эффективной численности популяций. Следует отметить, что к результатам данного анализа следует подходить осторожно, так как данный тип анализа основан на большом объеме выборки, которых у диссертанта нет. Свидетельством этого является результаты таких вычислений, как для популяции 8, где при размере выборки 12 средняя оценка  $N_e$  составляет две с половиной рыбы. Но в целом подход по вычислению эффективной численности популяции является корректным.

При анализе молекулярной дисперсии также применен иерархический принцип. Справедливо показано что почти при всех типах разбиения на группы доля межгрупповой изменчивости в 1,5-2 раза превосходит уровень внутригрупповой межпопуляционной изменчивости, являясь статистически значимой, что подтверждает иерархическое устройство популяционно-генетической структуры сахалинского тайменя.

Завершает главу Результаты исследование митохондриальной ДНК сахалинского тайменя. Построенная байесовская дендрограмма вместе с генеалогической сетью гаплотипов позволяет выделить 4 крупные

гаплогруппы, которые не демонстрируют монофилетической обособленности для отдельных географических регионов. При этом дистанции между гаплогруппами достаточно велики (до 5 замен между ближайшими узлами), что позволяет предположить достаточно большой возраст популяции. К сожалению, если микросателлитный анализ является украшением работы, анализ последовательностей митохондриальной ДНК очевидно не относится к любимым методам автора. Построены байезовское древо и гаплотипная сеть, где в большинстве случаев отсутствует дифференциация встречаемости гаплогрупп в разных популяциях. Выявлено четкое снижение гаплотипного разнообразия в южных популяциях. Имея такой уникальный материал можно было бы провести анализ популяционной динамики этого редкого вида, основанный на распределении расстояний между гаплотипами (mismatch distribution). Общее впечатление что исследование митохондриальной ДНК является некоторым «довеском» к прекрасно проведенному анализу полиморфизма микросателлитных локусов.

Завершает основной блок диссертации глава 4 (Обсуждение). Проводится сравнение ярко выраженной популяционно-генетической структуры сахалинского тайменя с высокими уровнями популяционно-генетической дифференциации, что подтверждается высокими значениями параметра  $\theta$  между большинством исследованных популяций, со уровнем межпопуляционной дифференциации близких видов, обитающий в этом же регионе – кунджей и кетой. Отсутствие значительных отклонений от равновесия Харди-Вайнберга для большинства популяций сахалинского тайменя, вместе с данными по популяционно-генетической дифференциации подтверждает, что локальные популяции сахалинского тайменя представлены на уровне максимум отдельных водоемов. Этот же вывод подтверждается анализом иерархической структуры популяций. Несмотря на наличие генетически различающихся групп популяций, выделенных на основе микросателлитных локусов ДНК, на ареале сахалинского тайменя отсутствуют глубоко дивергировавшие митохондриальные клады,

приуроченные к определенным территориям, наблюдаемые для многих других видов с выраженной популяционно-генетической структурой.

Актуальным является раздел 5 главы, несколько неудачно названный «Генетическое разнообразие популяций сахалинского тайменя и избежание негативных последствий искусственного разведения вида». В нем поднимается вопрос о инбредной депрессии, связанной с низким размеров эффективной численности популяций сахалинского тайменя, выявленных в данной работе. Минимальные оценки эффективной численности согласно анализу, проведенному в настоящей работе, до 50 особей для большинства популяций (в некоторых случаях – единицы особей), при средних значениях около 80 особей. Как указывает диссертант, эти данные вызывают большие опасения за судьбу популяций сахалинского тайменя, так как большая часть из них балансирует на грани критической кратковременной эффективной численности. Автор задается вопросом – «Является ли столь низкая эффективная численность популяций свойством вида или скорее последствием резкого снижения численности в последние годы?» и в качестве ответа формулирует предположение, что численность тайменя никогда не была высокой, но в последнее время снизилась из-за антропогенной нагрузки. Далее разбираются различные варианты использования особей из одних популяций для получения малька и искусственного воспроизводства в других водоемах, где число производителей недостаточно для получения искусственного потомства.

Проводится анализ последствий инбредной и аутбредной депрессии при различных сценариях искусственного воспроизводства тайменя, предлагается концепция «генетической помощи», при которой возможно использование дополнительных особей из того же зоогеографического региона при проведении искусственного воспроизводства.

Диссертация имеет 5 приложений, включающее как увеличенные рисунки, так и большие информативные таблицы, не вошедшие в основной текст так как они бы там затруднили восприятие материала.

**Научная новизна, а также теоретическая и практическая значимость** представленной работы не вызывает сомнений. Впервые проведен обширный генетический анализ редкого охраняемого вида лососевых рыб – сахалинского тайменя – с использованием разработанной автором панели микросателлитных локусов. На основании результатов работы приведены рекомендации по сохранению этого ценного вида рыб. Получены данные по филогеографии вида на практически всем его ареале. Проведена оценка эффективной численности для большого числа обследованных водоемов.

Можно отметить некоторые **недостатки** представленной работы. Отсутствует указание на депонирование последовательностей митохондриальной ДНК в GenBank. Не всегда корректно употребляются термины выборка и популяция (как объединение нескольких выборок в одну для проведения анализа, иногда этот термин заменяется термином «водоем»). Наверно, корректнее было бы использовать термины «локальная выборка» и «укрупненная выборка», поскольку понятие популяции для тайменя, как показывает сам автор, достаточно размыто и имеет иерархическую структуру. Имеется некоторая небрежность в оформлении цитирования и списка работ, например работа Золотухина и соавторов «Таймени и ленки дальнего востока России» упоминается то как Золотухин 2000, то как Золотухин и др. 2000, иногда по несколько раз на одной странице. Или, возможно, в списке литературы пропущена работа Золотухина этого года без соавторов.

В заключение следует отметить, что на защиту представлена цельная работа зрелого и равнодушного к объекту исследователя. Особенно значимыми и важными результатами работы можно с уверенностью выделить выявленную иерархическую структуру популяций сахалинского тайменя, а также предложения по оптимизации мер по сохранению этого «краснокнижного» вида.



Автореферат полностью соответствует тексту диссертации, основные положения которой отражены в печатных работах. По теме диссертации опубликовано 6 работ, в том числе две статьи в рецензируемом журналах из списка ВАК. Результаты докладывались на конференции.

Диссертационная работа «Генетическая структура популяций сахалинского тайменя *Parahucho perryi* BREVOORT и вопросы природоохранной генетики вида» полностью соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям Положения о порядке присуждения ученых степеней постановления правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 г., изложенным в пунктах 9 – 14, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук. Автор работы, Андрей Александрович Юрченко, безусловно, заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – генетика.

Заведующий лабораторией  
Молекулярной генетики, к.б.н.  
ФГБНУ Всероссийский институт рыбного хозяйства  
и океанологии (ВНИРО)  
Москва 107140 В. Красносельская 17  
Тел +7(499)264-91-10  
e-mail [mugue@mail.ru](mailto:mugue@mail.ru)



Мюге Николай Сергеевич

Подпись заверяю  
Ученый секретарь  
ФГБНУ «ВНИРО»



09.12.2015