

## ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу Мельника Николая Олеговича «Эндемичные гольцы (*Salvelinus*, Salmonidae) бассейна реки Камчатка (морфология, экология и происхождение)», представляемую на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности

### 1.5.13. – ихтиология

Гольцы рода *Salvelinus* относятся к достаточно редким группам рыб, в которых по мере длительного изучения открывается все больше нерешенных проблем филогении и таксономических отношений, обусловленных чрезвычайной морфо-экологической пластичностью, связанной с полиплоидным происхождением. К числу «белых пятен» в истории мальмоидной группы принадлежит, в частности, эволюционная судьба популяций Камчатки, исследование которых, несомненно, актуально.

Целью диссертационной работы Николая Олеговича Мельника было выяснение возможных причин и путей дивергенции эндемичных рыбадных гольцов бассейна р. Камчатка от их вероятного предка – мальмы, а также оценка современных взаимоотношений форм в составе популяционной системы бассейна. Диссертационная работа состоит из введения, 4-х глав, выводов и списка литературы; она изложена на 173 страницах, включает 15 таблиц и 23 рисунка. В списке литературы, занимающем 51 страницу, 450 работ, из них 103 на русском языке.

В достаточно просторном **Введении** дан краткий обзор работ по адаптивной радиации на многочисленных примерах рыб из озерных экосистем и отдельных известных случаях диверсификации в речных системах. Актуальность темы диссертационного исследования определяется автором, исходя из слабой изученности известных из бассейна реки Камчатка дискуссионных форм/видов гольцов рода *Salvelinus*. В соответствии с поставленной целью сформулированы задачи работы, дана оценка ее научной новизны, теоретического и практического значения; представлены положения, выносимые на защиту, степень достоверности и апробация результатов, данные по публикациям, личному вкладу соискателя в проведенные исследования и благодарности научному руководителю и коллегам из различных организаций и

учреждений, оказывавших автору помощь и содействие на разных этапах подготовки диссертационной работы.

**Первая глава** представляет собой обзор сведений из литературных источников. В ее первой части рассмотрены представления разных авторов об эволюции и расселении гольцов рода *Salvelinus*, формировании видов и видовых групп и оценки их таксономического статуса. Вторая часть посвящена обзору публикаций по адаптивной радиации гольцов в озерах. Все приведенные случаи диссертант рассматривает в контексте симпатрической дивергенции, периодически используя для подтверждения сведения по другим группам костистых рыб.

В третьей части главы, посвященной адаптивной радиации рыб в речных условиях, диссертант рассматривает экологические факторы, которые, по его мнению, «могут являться причиной формирования **симпатрических комплексов форм**» (стр. 24). При этом, судя по приводимым примерам, в качестве симпатрических дивергентных популяций он рассматривает формы из **разных** притоков или «водотоков», для которых «одним из ключевых факторов запуска адаптивной радиации» ... «можно считать наличие резкой границы условий среды, разделяющей речной континуум **на «до» и «после»,** в том числе резкие различия в условиях среды между ближними притоками (или притоком и основным руслом)» (стр. 24). Кроме того, что эта формулировка автора плохо понятна, ее связь с симпатрией представляется весьма сомнительной, как и отнесение к симпатрическим формам рыб из многих цитированных автором примеров.

В первой части **Главы 2** (Материалы и методы) дана достаточно подробная характеристика района работ. Вторая часть посвящена изученному материалу: способам отлова рыб, которых ловили разными орудиями лова в течение 5 лет в 14 притоках и основном русле р. Камчатка и в оз. Азабачье, их первичной морфологической идентификации с разделением каменного, белого гольцов и мальмы.

В связи с проблемами идентификации белого гольца по окраске ротовой полости следует заметить, что еще Черешнев с соавторами (2002) указывали,

что у незрелых особей белого гольца ротовая полость белая, а у незрелой мальмы – темно-зеленая, тогда как у зрелых особей и мальмы и белого гольца ротовая полость черная или почти черная. Идентификация промежуточных фенотипов и спорных случаев по паразитам также имеет определенные ограничения. Белый голец по характеру питания – неспециализированный хищник и при дефиците рыбной пищи может переходить на питание бентосом. У мальмы в питании ведущее значение имеют организмы бентоса, однако, в частности, в реках Камчатки во время массового ската молоди горбуши покатная мальма полностью переходит на питание горбушей (Черешнев и др., 2002); самим диссертантом у 6% особей мальмы из нижнего течения в желудке обнаружена колюшка (стр. 57). О том, что проходная мальма Камчатки временно может хищничать, свидетельствует обнаружение у нее паразитов родов *Eubothrium* и *Diphyllobothrium*, в наибольшей степени присутствующих у белого гольца (Буторина и др., 1980; Пугачев, 1984). Указывая на то, что *Diphyllobothrium* присутствует «исключительно у рыбоядных гольцов в нижнем течении бассейна» (что не препятствует его обнаружению у мальмы, перешедшей на хищничество), диссертант ссылается на публикацию Бусаровой в соавторстве за 2018 год. Однако, этой работы нет в списке литературы, и оппонент не смог найти ее в Интернете. Более того, в самой диссертации со ссылкой на ряд публикаций отмечено, что присутствие паразитов *Eubothrium* и *Diphyllobothrium* **в некоторых случаях** указывает на питание рыбой (стр. 38). На основе отмеченного можно полагать, что в изученных диссертантом выборках белого гольца могли присутствовать особи мальмы.

Третий раздел Главы 2 описывает процедуру биологического анализа и определения возраста всех гольцов, оценка которого проводилась руководителем диссертации – Е.В. Есиным. В четвертом разделе описывается процедура прямого изучения питания рыб и оценки пищевой ниши особей на основе оценки состава паразитофауны и соотношения стабильных изотопов азота в мышечной ткани. В пятом разделе подробно описаны методы молекулярно-генетических исследований: анализ гаплотипического разнообразия мтДНК и анализ изменчивости микросателлитных локусов

ядерной ДНК. Для каждого вида анализа указаны задачи исследования, показана адекватность методов поставленным задачам, представлен изученный материал.

В шестом разделе Главы 2 описана методика морфологического анализа. Меристические признаки изучены диссертантом на свежепойманных особях, а для анализа морфометрических характеристик и пропорций хондрокrania был использован метод геометрической морфометрии. Седьмой раздел главы посвящен анализу условий среды на нерестилищах: измеряли скорость потока над нерестовыми гнёздами, минерализацию, цветность, температуру и рН воды, химическое потребление кислорода, содержание органических соединений в нерестовом субстрате на 4-х нерестилищах; на нерестилище каменного гольца и обоих нерестилищах мальмы дополнительно изучали годовой температурный режим. В восьмом разделе описан проведенный экспериментальный анализ устойчивости молоди мальмы и каменного гольца к токсикозу, для чего определяли содержание трийодтиронина в теле у искусственно выращенной молоди и сеголетков, пойманных на нерестилищах, а также в эксперименте оценивали физиологический ответ на токсическое воздействие продуктов распада хвойного опада в выборках эу-, гипо- и гипер-тиреоидной молоди мальмы.

Общее количество изученного материала и перечисление использованных методов анализа даны в Таблице 1. Многие методы весьма затратны по времени, однако в диссертации нет четких указаний: что именно выполнено лично соискателем. В разделе «Личный вклад соискателя» (стр. 11) даны очень расплывчатые определения, а ряд соавторов, явно выполнявших значительный объем работ в совместных исследованиях, даже не упомянуты в разделе «Благодарности».

В **Главе 3** приводятся полученные результаты. В первой части представлены результаты исследования размеров и возраста изученных гольцов. К сожалению, эти результаты определенно относятся не к структуре изученных популяций всех форм, а к размерно-возрастным распределениям рыб **в уловах**, зависящим от использованных орудий. Поэтому в них,

например, отсутствуют крупные особи мальмы старших возрастов, хотя по литературным данным в Камчатке мальма достигает длины 71 см в возрасте 12+ (Черешнев и др., 2002). Отсутствуют и более молодые особи белого и каменного гольцов. Кроме этого, изученные особи не разделены по полу, хотя известно, что самцы и самки разных форм гольцов отличаются по годовым приростам, особенно в старших возрастах (см. Черешнев и др., 2002). По-видимому, это и отразилось на полученных уравнениях роста (стр. 56). В связи с отмеченным, выявленные диссертантом различия между формами не представляют научного интереса.

Во второй части Главы 3 приводятся результаты исследования образа жизни. 1) Представлены данные по содержимому желудков у питающихся особей (при этом организмы бентоса и имаго насекомых не идентифицировались). 2) По содержанию тяжелого изотопа азота  $^{15}\text{N}$  в мышцах выявлены достоверные различия между мальмой и каменным и белым гольцами, согласующиеся с переходом двух последних к хищному образу жизни. 3) При анализе паразитарной инвазии выявлены достоверные различия по экстенсивности зараженности многими паразитами как между тремя формами, так и в пределах одной формы, но из разных биотопов: река – озеро у мальмы и река – протока – озеро у белого гольца. Представляет несомненный интерес тот факт, что особи белого гольца из основного русла Камчатки характеризовались крайне низким индексом обилия реперного для хищника паразита *Diphyllobothrium* (рис. 9, стр. 60). 4) Общие особенности распределения изученных гольцов в бассейне р. Камчатка и их сезонных миграциях представлены диссертантом на основе собственных и опросных данных. Согласно этим данным, каменный голец практически не встречается в нижнем течении Камчатки, белый голец обитает только в нижнем течении, а мальма распространена повсеместно, только у мальмы обнаружены карликовые самцы.

В третьей части Главы 3 представлены филогенетические отношения изученных гольцов Камчатки по данным анализа изменчивости последовательностей Д-петли митохондриальной ДНК, демонстрирующие

отсутствие подразделенности выявленных гаплотипов на отдельные филогенетические ветви. В четвертой части главы представлена генетическая дифференциация по данным анализа изменчивости микросателлитных локусов ядерной ДНК. 1) При сравнении мальмы верхнего и нижнего течения Камчатки показано наиболее вероятное наличие двух генетических кластеров, в общих чертах соответствующих выборкам верхнего и нижнего течения, однако ошибка классификации составила 23%; для выборок нижнего течения получены наибольшие значения генетического разнообразия. 2) При сравнении каменного гольца и мальмы верхней части бассейна показано наиболее вероятное наличие двух кластеров, подтвержденное многомерным шкалированием; один кластер полностью включал выборку каменного гольца, а второй – обе изученные выборки мальмы: ошибка классификации особей определена в 7%; предполагается наличие 8 гибридов во втором кластере. Все показатели генетического разнообразия у каменного гольца ниже, чем у мальмы. 3) При сравнении белого гольца и мальмы нижней части бассейна также показано наиболее вероятное наличие двух кластеров – белого гольца и мальмы при ошибке классификации в 12%. Согласно генетическим данным, в основном русле по фенотипу были ошибочно определены 5 рыб из 51, в р. Радуга – 2 из 30, в р. Пономарская – одна из 30. Среди рыб с фенотипом белого гольца четыре были потенциальными гибридами с мальмой. Генетическое разнообразие белого гольца незначительно ниже, чем у мальмы.

В пятой части Главы 3 показаны морфологические различия между изученными формами гольцов. При сравнении каменного гольца и мальмы выявлены достоверные, но слабые (с большой степенью перекрытия) различия в числе чешуй боковой линии, в размерах боковых зубчиков на жаберных тычинках и по совокупности положения меток формы тела и головы, согласно которым у каменного гольца несколько выше тело, длиннее голова и челюсти, меньше глаза и сдвинут к хвосту спинной плавник. При сравнении белого гольца и мальмы по характеристикам формы тела получено разделение их локальных выборок по первому каноническому корню; в соответствии с полученными консенсусной формой тела и головы у белого гольца несколько длиннее голова и челюсти, меньше глаза, плавники сдвинуты к хвосту, а рот конечный, а не полунижний. В результате многомерного сравнения положения

меток на хрящевом черепе три группы гольцов заняли неперекрывающиеся области; выявлено увеличение относительной длины этмоидного отдела и рострума в ряду мальма - каменный голец – белый голец и другие небольшие отличия.

В завершении морфологического раздела главы 3 диссертант указывает, что у каменного и белого гольцов «зубы на сошнике расположены V-образно (с возрастом разрастаются в несколько рядов), у мальмы – всегда прямой ряд. Только у каменного гольца выраженные зубы имелись и на *basibranchiale*» (стр. 89). Очевидно эти признаки изучены на малом числе особей, поскольку, согласно ранее проведенным исследованиям оппонента, представленным в диссертации (Васильева, 1977) и цитируемых Н.О. Мельником публикациях (Медведева-Васильева, 1978; Васильева, 1979), у проходной мальмы р. Камчатка зубы на сошнике могут быть расположены в 1 (13.5%), 2 (56.8%), 3 (27.0%) и даже в 4 (2.7%) ряда и имеются зубы на *basibranchiale-3*, чаще образующие более одного ряда (57.2%). У мальмы из оз. Азабачье зубы на *basibranchiale-3* всегда имелись, образуя до 4-х рядов, а на сошнике однорядные зубы встречались лишь у 13.8% изученных рыб. Отсутствуют зубы на *basibranchiale-3* в большинстве случаев (44.4%) у хищного гольца озера Азабачье (=белый голец), у которого зубы на сошнике могут образовывать до 5 рядов (3.9%), но чаще располагаются в 2 ряда (45.1%).

В шестой части главы представлены выявленные различия абиотических характеристик изученных нерестилищ. По гидрохимическим параметрам воды выделялось только нерестилище каменного гольца, на котором также была всегда значительно выше концентрация флавоноидных и терпеноидных фенолальдегидов; для мальмы отмечен более поздний нерест при температурах ниже, чем на нерестилищах белого и каменного гольцов. В седьмой части главы представлены результаты экспериментов по оценке устойчивости молоди каменного гольца и мальмы к токсичности нерестового субстрата. Для мальмы показана достоверно большая смертность при содержании в хвойном настое и более сильные изменения физиологических показателей; при этом уровень содержания трийодтиронина в теле молоди у каменного гольца был выше, чем

у мальмы. Связь между содержанием трийодтиронина и устойчивостью к токсичным веществам была подтверждена в экспериментах на молоди мальмы.

Глава 4 «Обсуждение результатов» состоит из четырех частей (последняя пропущена в оглавлении диссертации). В первой части на основе полученных результатов с привлечением данных литературы обсуждается структура популяций мальмы бассейна р. Камчатка. В преамбуле к этой части, посвященной жизненным стратегиям, указывается наличие у мальмы бассейна р. Камчатка двух полярных вариантов: «осёдлый и анадромный» (стр. 100). На основе выявленных диссертантом различий по паразитарному составу рыб, обитающих в основном русле р. Камчатка и оз. Азабачьем, сделан вывод о том, что среди изученных особей были представлены проходная и оседлая озерно-речная мальма, по литературным данным даны их биологические характеристики. Со ссылкой на публикацию Есина (2015) указано, что «на данный момент, в бассейне известно шесть примеров формирования самовоспроизводящихся популяций жилой мальмы» (стр. 102). По-видимому, диссертант имел в виду изолированные водопадами популяции мелких ручьевых гольцов и не отделенные преградами для миграций отдельные локальные оседлые тугорослые формы: в оз. Ушки, в реках Николка, Урц и Пономарская. Для последней формы в диссертации с помощью анализа полиморфизма микросателлитной ДНК показано некоторое ограничение генного потока с проходной мальмой, обитающей в реке и её притоках. В то же время генетический анализ не подтвердил разделение на кластеры мальмы верхней и нижней частей бассейна, предполагаемое в связи с плейстоценовой фрагментацией речной системы. В качестве косвенного свидетельства этой фрагментации диссертант предполагает наличие двух специализированных обособленных рыбадных форм: каменного гольца в верхней части и белого гольца в нижней части бассейна.

Вторая часть «Обсуждения» посвящена каменному гольцу, морфо-биологическое описание которого представлено на основе полученных данных и сведений из литературы. Диссертант делает обоснованное заключение о том, что выявленное в работе распределение гаплотипов Д-петли мтДНК каменного

гольца по сети гаплотипов мальмоидных гольцов Камчатки подтверждает ранее предложенную гипотезу о недавнем происхождении каменного гольца от мальмы, но одновременно рассматривает и вероятность вторичной интрогрессивной гибридизации между этими изначально обособленными группами, в пользу которой, по его мнению, свидетельствует низкая численность производителей каменного гольца. При этом, исходя из результатов анализа локусов микросателлитной ДНК, диссертант делает вывод о репродуктивной изоляции двух форм при невысокой частоте гибридизации. По данным проведенного исследования, изоляция обеспечивается расхождением сроков и мест нереста, кроме этого, на основе изучения единственного нерестилища каменного гольца диссертант предполагает, что нерестовые участки этого вида характеризуются уникальными условиями, непригодными для нереста мальмы из-за присутствия потенциально токсичных веществ, к которым молодь каменного гольца более устойчива благодаря естественному гипертиреозу. Гипертиреозом он объясняет также ускоренный рост каменного гольца и ряд его морфологических особенностей, включая характерную темную окраску, при этом он некорректно цитирует работу оппонента (Васильева, 1979) по поводу развития зубов на *basibranchiale*. В качестве «причины возникновения каменного гольца в бассейне р. Камчатка» диссертант рассматривает «распространение елово-лиственничных лесов на фоне реструктуризации озерно-речной сети в позднем Плейстоцене» (стр. 112). Это предположение является достаточно дискуссионным и недостаточно фактологически обосновано.

В третьей части «Обсуждения» рассматриваются «вероятные причины обособления» белого гольца. На основе полученных результатов диссертант приходит к заключению, что эта форма характеризуется морфологическими адаптациями к питанию мелкой рыбой, ускоренным ростом, большей продолжительностью жизни, вероятным отсутствием морского периода жизни (он мог быть кратким и проходить в распресненной зоне) и более широкой пищевой нишей по сравнению с каменным гольцом. Вследствие идентичности озерных и речных белых гольцов по частотам аллелей микросателлитных

локусов высказаны предположения, что у этой формы либо не выражен хоминг, либо имеется одна центральная субпопуляция, постоянно пополняющая «откочёвывающие в другие местообитания группировки» (стр. 114). В обсуждении диссертант отмечает, что в проведенном исследовании впервые установлено достоверное ограничение генного потока между мальмой и белым гольцом при возможном наличии гибридов. На основе выявленного генетического разнообразия он предполагает, что в эволюционной истории белого гольца не было выраженного эффекта основателя, и численность популяции постоянно оставалась на сравнительно высоком уровне; этот голец также является молодым дериватом мальмы, однако достиг достаточно высокого уровня специализации, выражающейся в различиях по морфологическим характеристикам, группам крови, кариотипу, липидному обмену, отсутствию карликовых самцов. По ряду косвенных показателей сделан вывод о независимом происхождении рыбацких белого и каменного гольцов. В качестве причины обособления белого гольца диссертант предполагает пищевую специализацию по разделению ресурсов пелагиали и бентали в экосистеме солоноватоводной плейстоценовой лагуны в низовье современной системы Камчатки. В пользу своей гипотезы он приводит данные по другим группам рыб из африканских водоемов, возникших, вероятно, «в результате озерных радиаций» (стр. 119). Высказанное предположение представляется необоснованным.

В четвертой части «Обсуждения» делается заключение о том, что мальмоидные гольцы бассейна Камчатки являются «первым подтвержденным примером параллельной адаптивной радиации лососевых рыб в речных экосистемах» (стр. 119), в котором диссертант воздерживается от таксономических выводов, но «ассоциирует» каменного гольца с видом *S. kuznetzovi*, а белого - с *S. albus*. Объем этой части составляет всего две с небольшим страницы, в тексте много повторов из предыдущих частей и определенно не хватает пояснений к заключению диссертанта. 1) Поскольку упор делается на пищевую специализацию, то хотелось бы выяснить, что имелось в виду в утверждении: «При кажущемся сходстве пищевых ниш

(потребление рыбы) **способы их освоения различаются, что находит отражение в адаптивных признаках фенотипов»** (стр. 121) каменного и белого гольцов. Что это за способы освоения и какие адаптивные признаки фенотипа отличаются? 2) Диссертант всячески подчеркивает, что в рассматриваемом им случае радиация имеет место в **речной** системе, однако, судя по тому, что им сделан вывод о существовании центральной субпопуляции в системе озера Азабачье, скорее можно рассуждать об озерной радиации белого гольца и мальмы, если вообще можно рассуждать о симпатрическом формообразовании на основе полученных диссертантом данных.

Завершают диссертационную работу Н.О. Мельника 5 выводов, в целом соответствующих поставленным задачам, однако в них слабо отражена эволюционная история комплекса изученных форм, представление о которой предполагалось сформулировать в задаче 4.

Большинство результатов диссертационной работы Н.О. Мельника являются новыми, получены лично диссертантом на основе использования методик, адекватных поставленным задачам и принятых в отечественных и международных исследованиях. Выдвинутые положения, обобщения и выводы базируются преимущественно на репрезентативном материале (исключение составляет число изученных нерестилищ), достаточно обоснованы, достоверны и в полной степени отражают полученные результаты. Статистическая обработка данных проведена с использованием общепринятых методов. Полученные результаты имеют теоретическое и практическое значение в связи с разработкой мероприятий по охране краснокнижных популяций каменного и белого гольцов полуострова Камчатка.

На основе полученных результатов Н.О. Мельником подготовлены в соавторстве 5 работ в рецензируемых журналах и в материалах 3-х тематических конференций, отражающих основные результаты выполненного исследования. Автореферат полностью соответствует содержанию диссертации.

Несмотря на высказанные замечания, следует подчеркнуть, что диссертационная работа Н.О. Мельника «Эндемичные гольцы (*Salvelinus*,

Salmonidae) бассейна реки Камчатка (морфология, экология и происхождение)» представляет собой законченное исследование, выполненное на основе комплексного применения современных разносторонних методов и вносит существенный вклад в исследования лососевых рыб, относящихся к важным объектам мирового рыбного промысла. Представленная работа полностью отвечает требованиям к кандидатским диссертациям и соответствует пп. 9-11, 13, 14 Постановления Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842 «О порядке присуждения ученых степеней», а ее автор – Мельник Николай Олегович – заслуживает присуждения ему искомой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.13 – ихтиология (биологические науки).

Доктор биологических наук, доцент,  
ведущий научный сотрудник,  
зав. сектором ихтиологии  
Зоологического музея  
Биологического ф-та  
Московского гос. университета им. М.В.Ломоносова  
Васильева Екатерина Денисовна  
Москва 125009, Большая Никитская ул., 2  
zmmu.msu.ru  
e-mail: vas\_katerina@mail.ru  
Раб. тел.: 8-495-6294906

« 27 » сентября 2021 г.

Подпись Васильевой Екатерины Денисовны  
заверяю