

ОТЗЫВ

**официального оппонента доктора биологических наук,
профессора Льва Анатольевича Животовского
на диссертацию в виде научного доклада
Евгения Владиславовича Есина
«Эволюция мальмоидных гольцов
(*Salvelinus malma* complex, Salmonidae) Камчатки»,
представленную на соискание ученой степени
доктора биологических наук по специальности 1.5.13 – «Ихтиология»**

Диссертационная работа Е. В. Есина посвящена исследованию новейших микроэволюционных преобразований в чрезвычайно полиморфной группе животных. Анализируются механизмы развития адаптаций в онтогенезе и адаптивной диверсификации фенотипов в филогенезе у лососевых рыб из рода гольцы (*Salvelinus*). Исследуются три основных группы популяционно-эволюционных факторов формирования и становления наследственного фенотипического разнообразия: условий среды обитания (гидрографической структуры нерестовых бассейнов, доступности пищевых и других ресурсов) и действующих в их рамках векторов отбора, генных потоков между дивергирующими формами в условиях географической аллопатрии/симпатрии, физиологических механизмов фенотипической дивергенции и конвергенции и канализованности развития. Несмотря на большой интерес специалистов к этой теме и имеющиеся наработки в области эволюционной биологии лососевых, многие вопросы, например, параллельная специализация популяций, гормональный контроль развития морфологических новшеств, быстрая диверсификация фенотипов в симпатрических условиях, не нашли решения. Лососевые рыбы, в частности гольцы, – благодарный объект для популяционно-эволюционных исследований, и в диссертационной работе Е.В. Есина указанные вопросы глубоко и последовательно изучаются на примере чрезвычайно полиморфной группы комплекса гольца-мальмы, *S. malma*. Работа направлена на определение важнейших экологических факторов и онтогенетических механизмов, лежащих в основе формирования современного разнообразия гольцов. Исходя из полученных данных, диссертант реконструирует эволюционные сценарии, реализованные мальмой в ходе освоения рек и озёр Камчатки в постледниковый период. Автор показывает, что причиной множественных параллелизмов в морфологии и экологии возникающих у популяций и форм является сходная канализация онтогенезов при одинаковом воздействии факторов среды. Данные результаты, без сомнения, являются весьма актуальными и востребованными для разработки ряда положений теории эволюции. Существенная часть проведённых диссертантом исследований была поддержана ведущими национальными научными фондами.

Исследования основаны на анализе обширного материала, который диссертант собирал более 20 лет. Важную роль в работе также имеют проведенные диссертантом эксперименты по инкубации и выращиванию разных групп гольцов. Исследования выполнены в соответствии с современным уровнем требований, они успешно объединяют целый ряд направлений от морфологии и гистологии до водной токсикологии и филогеографии. Применяются методы классической ихтиологии и гидробиологии,

гистологии, экологии и трофологии, разнообразные микрохимические анализы, физиологические и гормональные исследования, молекулярно-генетические, в том числе геномные, исследования, что отвечает современным трендам развития науки и практики, причём они применяются диссертантом соответственно возникающим вопросам.

Общая структура работы такова, что она последовательно раскрывает аспекты изучения диссертантом разнообразия жизненных форм гольцов; вариантов специализации гольцов при обитании в экстремальной среде; закономерностей образования репродуктивно обособленных симпатрических форм, в том числе сложных случаев радиации мальмы в крупных озёрно-речных бассейнах; сценариев эволюции гольцов на полуострове Камчатка в сравнении с ситуациями, известными для гольцов других регионов и лососевых рыб в целом.

Диссертационный доклад оформлен текстом в 59 стр. Опишем последовательно ключевые моменты диссертации.

В разделе 1 «Введение» дан обширный литературный обзор, подводящий к важности и обоснованию темы исследования и выбору *Salvelinus malma* – чрезвычайно экологически пластичной группы форм – в качестве объекта этого многопланового эволюционного исследования. Сформулирована цель исследования: выявить факторы и механизмы формирования разнообразия комплекса *Salvelinus malma* и предложить эволюционные сценарии для этих гольцов при освоении нерестовых водоёмов п-ва Камчатка в постледниковый период. Указаны основные группы задач, которые необходимо было выполнить и были выполнены в ходе работы для достижения основной цели исследования. Представлены основные научные положения работы и их новизна, апробация результатов, соответствие материалов специальности «ихтиология», перечислены фонды и программы поддержки исследования.

В разделе 2 «Материалы и методы исследований» представлен географической картой и таблицей тот обширный материал, который был собран автором в течение двух десятилетий работы на Камчатке. Впечатляет объём материала: исследованы популяции мальмы в десятках нерестовых водоемах охотоморского и тихоокеанских побережий п-ва Камчатка, в т.ч. крупнейших речных бассейнов полуострова, а также такие интересные озерно-речные системы как р. Камчатка - оз. Азабачье и оз. Кроноцкое - р. Кроноцкая; в каждом из водоемов собраны молодь и взрослые особи. Не менее впечатляющи использованные автором разнообразные методы исследований: разные типы биоанализа рыб, определения пола и возраста, соотношений стронция-кальция, а также изотопов азота и углерода, для выяснения условий жизни и миграций рыб, физиологических характеристик (уровня гормонов и других физиологических веществ) и особенностей развития в экспериментах по выращиванию молоди для понимания процессов развития и адаптации рыб, генотипирование по разным маркерам и филогенетический анализ генетических данных, а также гидрологическая и геоморфологическая характеристика нерестовых водоёмов.

В разделе 3, первой главе результатов, «Межбассейновая дифференциация мальмы Камчатки» анализируются генетические взаимоотношения популяций из разных бассейнов региона. Исследования автора показывают, что разнообразие популяций продолжает формироваться параллельно и по большей части независимо в нерестовых бассейнах разных участков побережья. Микросателлитные полиморфизмы указывают на

генетическую разобщенность группировок мальмы в бассейнах рек, впадающих в разные заливы более изрезанного (чем охотоморского) тихоокеанского побережья, но отмечены значимые генные потоки между мальмой соседних водоемов на западном, более «гладком», побережье Камчатки. Но, как показал анализ снипов (моноклеотидных маркеров, SNP), это не мешает мальме крупных водоёмов, озёрно-речных бассейнов, формировать отдельные кластеры, указывающие на самостоятельную внутреннюю микроэволюционную жизнь в этих водоемах.

В разделе 4 «Внутрипопуляционное разнообразие мальмы Камчатки» показано, что гольцы дифференцируются на несколько жизненных форм. Такие экологические группировки различаются жизненными стратегиями, при которых особи начинают расти с разной скоростью и приобретают специфические черты морфологии. Это крупная проходная мальма открытых озерно-речных систем; рыбы без миграций в море (в малых водоемах созревают только оседлые самцы, что регулируется соотношением тиреоидных и других гормонов, а в крупных озёрах – ещё и самки); ещё один тип экологической вариативности связан с трансформацией мелких зрелых рыб в крупные с соответствующими аллометрическими преобразованиями. При этом сходные экологические группировки из разных бассейнов мало отличаются друг от друга морфологически и по типу метаболизма. Ограничений генного потока между этими экологическими формами вероятно не возникает, так как между ними не выявлено статистически значимых генетических различий. Автор заключает, что по-видимому генный обмен обеспечивает широкий адаптивный потенциал популяций, обитающих в нестабильных условиях водоёмов северных широт. Автор также заметил, что даже в неблагоприятные по качеству среды реки заходит на нерест проходная мальма, молодь там выживает и через минимальное для этого вида время (на третий год) скатывается в прибрежье; однако неясно самовоспроизводятся ли такие «популяции» или в такие реки рыбы заходят по ошибке.

В разделе 5 «Специализация географических изолятов мальмы Камчатки» описываются специфические популяции из небольших изолированных водоёмов. Автору удалось обнаружить варианты педоморфоза в ручьях и озёрах с экстремальными условиями среды. Особый интерес представляют случаи глубокой специализации в ответ на хроническое загрязнение местообитаний вулканогенными токсичными веществами. Помимо изменения физиологии, смещения физиологических показателей, изменения в развитии обеспечивают таким популяциям ускорение жизненного цикла и смену поколений в условиях повышенного риска погибнуть от токсикоза и повреждения органов до начала размножения. Фенотипическим последствием таких гетерохроний становится миниатюризация. Недавний природный эксперимент, когда популяция мальмы оказалась заблокированной в такой ручье вследствие селя, миниатюризация проявилась уже через десять лет, в течение которых наблюдалась значительная смертность, высокая частота уродств, смещение физиологических показателей, ускоренный оборот поколений и сужение возрастного состава. Другой исследованный тип неблагоприятных условий среды – это небольшие озёра в горах, большую часть года покрытые льдом и снегом, из-за чего рыбы испытывают острый недостаток в пище и вероятно нехватку кислорода. Результатом этого также явилась миниатюризация особей, с резким изменением их физиологических показателей, но других, чем в загрязнённых водоемах, возникла карликовость, отмечено повышенное накопления запасяющих липидов, значительное

торможение анаболических процессов в процессе роста, вероятно в целях накопления и сохранения ресурсов организма к половозрелости и воспроизводству следующей генерации.

В разделе 6 «Симпатрическая дивергенция мальмы Камчатки с разделением доступных ресурсов среды обитания» описаны репродуктивно обособленные симпатрические формы со специфическим образом жизни и адаптивными чертами морфологии. Эти формы различаются ходом онтогенеза, гетерохронными сдвигами фенокритических периодов развития и аллометрическим ростом. Обнаружен ряд случаев, претендующих на удовлетворение критериям симпатрической дивергенции. В ходе этих исследований были выделены четыре основных экологических векторов диверсификации мальмы на разнообразные формы, различающиеся характером разделения ресурсов водоема: разных участков озерно-речного бассейна (озеро vs приток, верхние vs нижние участки реки, река vs ручей с разными типами нерестилищ и разной температурой воды, и др.); пищевого разнообразия озерной литорали (напр., оз. Дальнее: гаммарусы vs моллюски плюс время нереста плюс разная паразитофауна и пр.); дна и толщи вод озера (бентофаги–планктонофаги, бентофаги–их хищники); разных глубин озера (на примере оз. Курильское).

Раздел 7 «Сложные комплексные случаи адаптивной радиации мальмы» является логичным продолжением предыдущего и описывает варианты образования «пучков» форм, когда в одном бассейне реализуется сразу несколько направлений диверсификации. Это показано для двух крупнейших озерно-речных систем п-ва Камчатка с максимальным разнообразием условий среды, которые населяют по несколько форм вида: р. Камчатка – оз. Азабачье и оз. Кроноцкое – р. Кроноцкая. Разнообразие форм гольцов в них вызвано всеми типами дивергенции, описанными в предыдущем разделе, а также волнами вселения и освоения новых ниш и неизбежной гибридизацией. Я не буду описывать все эти варианты – они превосходно иллюстрированы рисунком 8 и всеми вариантами диверсификации на стр. 30-38 диссертационного доклада.

В разделе 8 «Механизм морфологической диверсификации симпатрических форм мальмы в онтогенезе» в лабораторных экспериментах промоделированы различия в онтогенезе у дивергентной пары кроноцких форм мальмы – хищника и бентофага. Интересно, что ход онтогенеза у этих двух форм различен и отличается от онтогенеза предковой формы. Формирование морфологических различий между ними начинается в раннем онтогенезе, вызванных множеством физиологических и биохимических процессов, возможно контролируемых разными участками генома с разным уровнем экспрессии генов. Проанализированы гетерохронии онтогенеза, в частности изменения сроков закладки и темпов дифференциации скелетных элементов, приводящие к возникновению адаптивных вариантов у гольцов. Показано, что формирование специфической морфологии и анатомии начинается в раннем онтогенезе за счёт внутриорганизменных процессов разного уровня организации: от трансляции разных аллельных вариантов функциональных генов и изменения экспрессии регуляторов генных каскадов до программирующих эффектов гормонов и общих сдвигов скорости метаболизма. Обсуждаются данные геномных исследований, опытов с развитием в разных условиях, физиологические показатели и факторы гормонального контроля развития. Приведенные факты множественных отличий бентосоядных и рыбающих форм друг от друга очень интересны, находят параллели у других гольцов. Они важны для развития

общей теории онтогенеза – его эволюционного формирования в ответ на условия среды обитания, а точнее – на состояние своей собственной экосистемы.

В заключительной части работы, в разделе 9 «Заключение», в синтезированном виде формулируются основные положения работы и проводятся параллели с диверсификацией у других видов лососевых рыб на сходные по морфологии и экологии формы, изученной другими авторами в других регионах и континентах.

Раздел 10 содержит небольшое число – всего пять – выводов. Но каждый из них очень ёмкий, и в них синтезированы все основные результаты работы диссертанта.

Полученные Е. В. Есиным результаты характеризуются несомненной научной новизной. Принципиально расширены знания о разнообразии гольцов, описано множество ранее неизвестных эндемичных популяций. Получены уникальные данные о факторах и направлениях эволюции популяций, оказавшихся на границе выживания. Впервые получены свидетельства множественного симпатрического формообразования у мальмы. Выявлен механизм дивергенции адаптивных черт морфологии форм в раннем онтогенезе, в основе которого лежат гетерохронии развития скелета, определяемые дифференциальной экспрессией соответствующих функциональных каскадов, находящихся под гормональным контролем. Для пучка форм лососевых рыб из Кроноцкого озера установлены вероятные экологические причины диверсификации. Немаловажно, что отмечается необходимость учета гидрологии и морфологии бассейна воспроизводства в эволюционной судьбе обитающего в нём биологического вида.

Диссертационная работа Е. В. Есина, помимо её очень высокой научной ценности, имеет и практическую значимость. Обнаружен ряд эндемичных форм, особенности развития которых должны быть учтены при селекционной работе по созданию высокопродуктивных пород гольцов для бассейновой аквакультуры. Отработана технология экспериментальной инкубации и выращивания некоторых таких форм. Определена роль ряда гормонов в модуляции раннего развития, что потенциально позволяет вводить гормональные терапии в биотехнологию подращивания холодолюбивых пород гольцов. Разработан метод шкалирования темпов морфогенеза и роста гольцов. Ряд эндемичных форм внесён в Красную книгу Камчатского края на основе систематизации разнообразия гольцов и оценки их эволюционной значимости.

Представленные результаты обоснованы, их достоверность не вызывает сомнения. Диссертационная работа отличается грамотно спланированной программой исследований, многогранностью применённых подходов, масштабом полевых сборов и тщательностью обследования водных экосистем. В работе использованы апробированные методы сбора и анализа данных, включая статистические и биоинформационные методы. Планирование и проведение экспериментов соответствовали всем основным научным и техническим требованиям.

Основные научные результаты диссертации были опубликованы в 58 работах, в том числе в 34 статьях в журналах Q1-Q2 по JCR Science Edition и/или SJR (приравниваются к журналам перечня ВАК из K1), в 17 статьях в журналах перечня ВАК из K1, в 3 статьях в журналах перечня ВАК из K2 (всего 54 статьи), а также в 4 коллективных монографиях. Эти публикации всесторонне отражают представленные для рассмотрения результаты работы и ее основные положения и полностью обосновывают Выводы диссертации.

По прочтении диссертационного доклада, возникло несколько методологических вопросов. В связи с проблемой канализованности развития и множественности возможных онтогенетических каналов естественно ожидалось увидеть среди цитируемых авторов патриархов этой идеи, в первую очередь И. И. Шмальгаузена и С. Н. Waddington'a, а также проблему генетической ассимиляции при нормализующем (стабилизирующем) отборе. Вопросы видообразования в работе не обсуждаются и вполне справедливо (упоминание его в выводе 5 вполне уместно), так как работа, по сути, посвящена вопросам *микроэволюции* – начальных этапов возможной в эволюционном будущем глубокой дивергенции некоторых форм, но тототбор, что вероятно идёт у мальмы при симпатрической диверсификации, скорее всего подпадает под категорию «экологического видообразования» D. Schluter'a и хотелось бы видеть связь идей; более того, тут возможно более уместен термин «парапатрическая», а не «симпатрическая». Очень обширный по материалу раздел 8 по физиолого-биохимическим и молекулярно-генетическим механизмам морфологической дивергенции в условиях симпатрии – он очень интересен по содержанию и фактам, но не закончен выводом в форме некоей общей, теоретической, «биолого-эколого-эволюционной» концепции.

Указанные замечания никак не влияют на мою очень высокую оценку как всей диссертации в целом, так и каждого из ее разделов. Работа является крупным завершённым исследованием высокого уровня. Сформулированные и обоснованные соискателем положения дают право квалифицировать диссертационную работу как решение значимых научных проблем в области эволюционной биологии развития.

Диссертационная работа **Е.В. Есина «Эволюция мальмоидных гольцов (*Salvelinus malma complex, Salmonidae*) Камчатки»** полностью соответствует всем требованиям пп. 9–11, 13-14 «Положения о порядке присуждения учёных степеней, утвержденного Постановлением Правительства РФ № 842 от 24 сентября 2013 г. (с изменениями, опубликованными в постановлениях правительства Российской Федерации), предъявляемым к диссертациям на соискание учёной степени доктора биологических наук, а её автор, Есин Евгений Владиславович, безусловно заслуживает присуждения искомой учёной степени доктора биологических наук по специальности 1.5.13 – «Ихтиология».

Официальный оппонент:

Животовский Лев Анатольевич

доктор биологических наук, профессор,

зав. лаб. ФГБУН Институт общей генетики имени Н.И. Вавилова РАН (ИОГен РАН)

адрес: Москва 119991, ул. Губкина, д.3; тел.: +79160739468; эл. адрес: levazh@gmail.com;

сайт лаборатории: <http://vigg.ru/institute/podrazdelenija/otdelnoe-podrazdelenie/laboratorija-geneticheskikh-problem-identifikacii/>

Подпись профессора Животовского Л.А. удостоверяю:

Ученый секретарь ИОГен РАН

доктор биологических наук

И.И. Горячева

22.02.2024