

УТВЕРЖДАЮ

Зам. директора Института океанологии
им. П.П.Ширшова, доктор биологических
наук



А.В. Гебрук

2022 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

на диссертацию Рутенко Олеси Александровны

«Эколого-морфологический и генетический анализ опистоцентровых рыб Японского моря (Perciformes: Opisthocentridae)»,

представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.13. Ихтиология

Актуальность темы диссертации

В диссертационной работе О.А. Рутенко на примере рыб семейства опистоцентровых Opisthocentridae, массово обитающих в прибрежных водах дальневосточных морей, проведён анализ экологической, морфологической и генетической дивергенции близкородственных видов рыб. Актуальность выбранной соискателем темы не вызывает сомнения, поскольку подобные исследования важны для понимания путей формирования многообразия ихтиофауны и адаптационной эволюции в целом. Кроме того, необходимо отметить, что как морфология, так и особенности биологии этих рыб до работы О.А. Рутенко, были изучены крайне фрагментарно.

Структура и содержание работы

Диссертация состоит из Введения, 7 глав, Заключения, Выводов, Списка сокращений, Списка литературы и Приложения. Работа изложена на 148 страницах текста, содержит 25 таблиц и 30 рисунков. Список литературы включает 261 работу, из них 90 на русском языке.

В небольшом введении убедительно обосновывается актуальность исследования, его цели и задачи, научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы. Здесь же автором приведены четыре положения, выносимых автором на защиту. Далее

диссертант цитирует литературные источники по морфологическим и генетическим исследованиями единым списком, что выглядит, по нашему мнению, не вполне логично.

Глава 1 «Обзор литературы по проблеме исследования» начинается с рассмотрения публикаций по систематике опистоцентровых рыб. Обзор представляется довольно полным. Далее в подразделе 1.2 приведены краткие описания семи видов опистоцентровых, встречающихся в Японском море, в том числе четырёх являющихся объектами исследования. Разделы 1.3 и 1.4 посвящены описанию сейсмодатированной системы и морфологии изучаемых рыб, соответственно. В подразделе 1.5. «Биология» даётся обзор литературы, содержащей сведения о питании и морфологии пищеварительного тракта, размножении и развитии опистоцентровых.

К данной главе имеется ряд замечаний. Как упущение можно отметить отсутствие в литературном обзоре ссылки на такую известную монографию Дж. Нельсона как «Рыбы мира» (Nelson, 2006, рус. перевод 2009), в которой эти рыбы признаются в качестве подсемейства *Opisthocentrinae* семейства *Stichaeidae*.

Перед описаниями видов желательно было бы дать краткую характеристику родов. Кстати (стр. 14), для глазчатого опистоцера в описании в двух местах указано на отсутствие брюшных плавников, но не отмечено данного признака у других двух видов этого рода (есть только в таблице 1.4.1). К подразделу (1.2) следовало бы присоединить сведения из подраздела 1.4. «Морфология».

В описании *Opisthocentrus tenuis* не приведены глубины обитания. В описании *Pholidapus dybowskii* отмечается, что он «...обитает на глубинах до 150 м, среди зарослей морских трав и водорослей.» Эта фраза требует конкретизации – какие морские травы и водоросли могут встречаться до глубины 150 м.

В **главе 2 «Материал и методы исследования»** О.А. Рутенко представила имеющиеся в её распоряжении материалы и применённые методики исследований. Материал для исследования собран лично автором в период с 2002 по 2019 г. Методики сбора материала и его обработки описаны подробно. Соискатель в своем диссертационном исследовании использовал целый ряд разнообразных методов и подходов, включающих как традиционные (морфологический анализ, определение возраста по отолитам, стандартный количественно-весовой анализ состава пищи), так и современные (анализ состава пищи по соотношению изотопов азота и углерода, филогенетический анализ с использованием набора генетических маркеров), а также экспериментальные работы по искусственному нересту и изучению эмбрионального развития в аквариальных условиях.

В качестве замечания следует отметить, что в таблице 2.1.1 «Список видов и объём выборки (шт.), использованных в каждом разделе исследований» отсутствуют сведения о числе отолитов, по которым определялся возраст.

Кроме того, в разделе 2.5. «Гистология яичников» соискатель пишет, что «для анализа общей морфологии яйцеклеток навески яичников, фиксированные в жидкости Буэна или смеси Карнуа, после проводки через спирты возрастающей концентрации заливали в парафин по принятой в гистологической практике методике (Ромейс, 1953).» Цитируемое издание является обширнейшим собранием, насчитывающим 2477 принятых в гистологической практике методик. Из них: методики 364-387 посвящены проводке через спирты, методики 388-441 – пропитыванию парафином и заливке в парафин, а методики 463-466 – заливке в целлоидин-парафин. Таким образом, речь может идти об использовании соискателем одной из принятых в гистологической практике методик. Далее приведены последовательно этапы проводки с указанием временем экспозиции для каждого этапа. В гистологических методиках время каждого этапа зависит от объёма проводимого образца, а этот объём в описании методики не указан. Тем не менее, соискателем получены качественные препараты срезов яичников опистоцентров на разных стадиях зрелости (рис. 6.1.1. и 6.1.2.).

Раздел 2.6. «Эмбриональное развитие» посвящён описанию методики инкубации икры и манипуляциям при взятии проб для изучения эмбрионального и личиночного развития. Работы проводились в аквариальных условиях, при этом соискатель из характеристик воды приводит только температуру. Следует отметить, что при описании нормального развития рыб в искусственных условиях необходимо быть уверенным в нормальных условиях окружающей среды, т.е. знать солёность воды, pH, концентрации аммонийного, нитритного и нитратного азота в морской воде, в которой инкубируется икра и развиваются личинки.

В довольно короткой главе 3 «Биологическая характеристика» (всего 5 страниц) приведены сведения о размерно-возрастной структуре *Opisthopterus ocellatus*, *O. tenuis*, *O. zonope*, *Pholidapus dybowskii*, времени наступления их половой зрелости и плодовитости. Виды рода *Opisthopterus* - мелкие (длина не более 20 см) и короткоцикловые рыбы (возраст до 3+ лет). Заметно крупнее *Ph. dybowskii* (до 46 см), при длине 31 см возраст 5 лет. Плодовитость глазчатого и белоносового опистоцентров менее 1000 икринок, безногового опистоцентра – около 4000 икринок.

По нашему мнению, название главы не вполне удачно, поскольку в ней идет речь только о возрасте, росте и плодовитости. При этом размножение и развитие, которые

являются неотъемлемой частью жизненного цикла рыб, выделены соискателем в отдельную главу.

Из содержания рассматриваемой главы неясно, по какому принципу автор для расчетов остановился именно на модели, описывающей рост опистоцентров уравнением Берталанфи. В тексте для нее приведено лишь значение параметра AIC , но не указано, какие еще модели кроме Берталанфи были опробованы.

В этой же главе следовало бы привести фотографии отолитов с указанием возрастных отметок. Также желательно было бы проиллюстрировать данную главу фотографиями гонад на разных стадиях развития.

Глава 4 «Морфологический анализ». В этой главе с помощью различных статистических методов осуществлён анализ морфологических признаков четырёх изучаемых рыб (пластические, меристические признаки, в том числе изменчивость количества жаберных тычинок и пор сейсмодатчикной системы головы). Установлено, что более весомыми разделительными признаками являются меристические. Результаты сравнительно-морфологического анализа подтвердили обособленность рода *Pholidapus* от *Opisthopterus*. Одновременно, вид *O. zonope* значительно отличается от других опистоцентров (*O. ocellatus*, *O. tenuis*).

В разделе 4.2 диссертант рассматривает только поры сейсмодатчикной системы головы, уделяя много внимания флюктуирующей асимметрии пор. Между тем, ещё В.М. Макушок (1958, 1961) показал, что сейсмодатчикная система надсемейства Stichaeoidea включает не только сейсмодатчикные каналы, но и открыто сидящие невромасты («открыто сидящие сейсмодатчикные почки»). Диссертант в представленной работе не исследовал эту составляющую сейсмодатчикной системы, хотя использовал методики, позволяющие это сделать. Соискатель использовал метиленовый синий для окраски каналов сейсмодатчикной системы (стр. 36) и смесь Буэна для фиксации гонад (стр. 38), при этом, и метиленовый синий и пикриновая кислота из смеси Буэна прекрасно окрашивают слизевые купулы открыто сидящих невроматов при нанесении перечисленных реактивов на покровы исследуемых рыб.

Глава 5 «Трофические отношения». Трофические отношения исследованы соискателем двумя взаимодополняющими методами: традиционным с использованием количественно-вещного анализа содержимого желудков и современного с использованием соотношений стабильных изотопов азота ($\delta^{15}N$) и углерода ($\delta^{13}C$) в мягких тканях. Такой подход, по нашему мнению, обеспечивает получение наиболее репрезентативных и заслуживающих доверия результатов.

Тем не менее, анализ с использованием соотношения изотопов углерода и азота не выявил принципиальных различий в составе пищи четырёх видов опистоцентров, что при отсутствии дополнительных исследований традиционным методом могло привести к ошибочным выводам об отсутствии у них пищевой конкуренции. Однако, поскольку кандидатская диссертация является квалификационной работой, соискателем показано, что она успешно освоила различные методики изучения пищевых отношений рыб. Кроме того, полученные результаты свидетельствуют, что метод изучения состава пищи с использованием стабильных изотопов может не давать результатов необходимого разрешения, когда виды потребляют сходную пищу (например, кормовые организмы одной таксономической группы).

Глава 6 «Размножение и развитие опистоцентров». В этой главе проведен гистологический анализ яичников опистоцентров, осуществлены наблюдения за нерестом и эмбриональным развитием глазчатого опистоцентра в контролируемых (аквариальных) условиях. Глава представляет большой интерес ввиду новизны полученных результатов.

Однако, отсутствие гидрохимических характеристик воды, в которой проводилось инкубирование икры и развитие личинок не дает возможности оценить достоверность полученных результатов по нормальному развитию опистоцентров (см. Глава 2, раздел 2.6. Эмбриональное развитие).

Глава 7 «Молекулярно-генетический анализ» написана на основе материалов, полученных современными и прогрессивными методами. В отличие от многих подобных работ соискатель не остановился на использовании одного или небольшого числа генетических маркеров, а использовал в своей работе полный митохондриальный геном. Для филогенетического анализа соискателем использованы полные митохондриальные геномы 40 видов подотряда Zoarcoidei, размещенные в открытом доступе в генетическом банке данных NCBI, в том числе 17 оригинальных последовательностей, полученных лично соискателем. Филогенетические построения соискателем выполнены с использованием двух различных алгоритмов (BI и ML). Представляется, что для чистоты эксперимента можно было бы использовать и другие (например, NJ).

Результаты полученных филогенетических построений показали, что они не вполне соответствуют схеме Макушка (1958) родственных связей в надсемействе Stichaeoidea, разработанную им на основе морфологических данных. При этом соискателем справедливо отмечено, что причиной подобных расхождений может быть недостаточная репрезентативность выборок, отсутствием в них представителей остальных семейств подотряда и не вовлечением в генетический анализ ядерных маркеров.

Что же касается филогенетического исследования самих представителей семейства *Opisthocentridae*, то полученные соискателем данные свидетельствуют, что результаты морфологического и молекулярно-генетического анализов хорошо согласуются между собой и в целом соответствуют ранее предложенным схемам родственных связей опистоцентров.

Далее следует Заключение и Выводы. Их обоснованность и достоверность базируется на скрупулёзном анализе имеющегося материала. Выводы логично вытекают из представленного материала и хорошо согласуются с основными положениями, вынесенными на защиту.

Научная новизна, обоснованность и достоверность научных положений

В результате исследований О.А. Рутенко впервые получены оригинальные данные по биологии четырёх видов опистоптеров (возраст и рост, питание, размножение). В результате использования в исследовании питания изотопного метода удалось подойти к определению положения этих рыб в трофических сетях. Морфологический анализ выявил основные морфологические признаки, ответственные за разграничение видов. Для шести видов рыб из семейства опистоцентровых и представителей других семейств подотряда *Zoarcoidei* получены последовательности полных митохондриальных геномов. Также, впервые проведён подробный анализ структуры мтДНК бельдюговидных рыб. Построены филогенетические реконструкции внутри подотряда *Zoarcoidei* на основании последовательностей полного митохондриального генома.

В целом, полученные результаты достоверны, а сделанные на их основе заключения обоснованы.

Практическая ценность результатов

Автором работы получены 17 последовательностей полных митохондриальных геномов 13 видов бельдюговидных рыб, которые депонированы в международную базу данных NCBI, что позволит их использовать для дальнейших филогенетических исследований.

Недостатки в диссертации и автореферате

Недостатки работы, не смотря на их наличие, не имеют принципиального значения. Диссертация и автореферат написаны хорошим и понятным языком.

Соответствие содержания автореферата указанным специальностям

Содержание автореферата диссертации полностью соответствует специальности 1.5.13. Ихтиология.

Соответствие содержания автореферата содержанию диссертации

Содержание автореферата диссертации соответствует содержанию диссертации.

Значимость результатов для науки и производства

Результаты исследования имеют высокую научную значимость, способствуя лучшему пониманию структуры изученных видов, их эволюционных и систематических отношений.

Естественно было бы увидеть исправленную и дополненную диссертацию О.А. Рутенко в виде опубликованной монографии, доступной широкому кругу специалистов.

Заключение о соответствии работы требованиям ВАК

Диссертация соответствует критериям, установленным Положением о присуждении ученых степеней, утвержденным постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 (в ред. Постановления Правительства РФ от 21.04.2016 № 335), а её автор Рутенко Олеся Александровна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.13. Ихтиология.

Отзыв обсужден и утвержден на заседании расширенного коллоквиума Лаборатории океанической ихтиофауны (протокол № 3 от 09.11.2022 г.).

Отзыв подготовили:

Руководитель Лаборатории океанической ихтиофауны,
гл.н.с., д.б.н., доцент



Орлов
Алексей Маркович

Гл.н.с. Лаборатории океанической ихтиофауны, д.б.н.



Котляр
Александр Николаевич

Вед.н.с. Лаборатории океанической ихтиофауны, к.б.н.



Астахов
Дмитрий Алексеевич

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт океанологии им. П.П. Ширшова Российской академии наук
117997, Москва, Нахимовский проспект, д. 36
Тел. +7 (499) 124-59-96
office@ocean.ru