

Отзыв официального оппонента
на диссертацию ЯГОДИНОЙ Виктории Дмитриевны
«Пространственная и временная изменчивость ядерной и митохондриальной ДНК
дальневосточного трепанга *Apostichopus japonicus* залива Петра Великого
(Японское море)», представленную на соискание ученой степени кандидата
биологических наук по специальности 1.5.7. Генетика

Диссертационная работа В.Д. Ягодиной посвящена актуальным научным вопросам, имеющим как фундаментальное, так и прикладное значение. Во-первых, это возможность применения митохондриальной и ядерной ДНК для оценки генетической изменчивости морских организмов, в частности дальневосточного трепанга. Использование ДНК-маркеров является столь современным, столь и традиционным для каталогизации биологического разнообразия. Во-вторых, это реконструкция генеалогии и получение новых данных о популяционной структуре трепанга на основе анализа полиморфизма участка митохондриального гена COI и десяти микросателлитных локусов. Сведения о популяционно-генетической структуре дальневосточного трепанга могут и должны применяться для формирования научных основ рационального использования этого экономически важного биоресурсного вида.

Объект диссертационной работы – дальневосточный трепанг *Apostichopus japonicus* из залива Петра Великого Японского моря. Этот вид морских беспозвоночных животных населяет побережье Желтого, Восточно-Китайского, Японского морей, а также южную часть Охотского моря. Является объектом марикультуры и ценным промысловым видом, несмотря на значительное сокращение запасов из-за браконьерского лова и включение в Список угрожаемых видов МСОП. Вопросам, связанным с биологией, экологией, физиологией, разведением дальневосточного трепанга, посвящено много научных работ. С точки зрения генетического разнообразия и популяционно-генетической структуры относительно хорошо изучены популяции *Apostichopus japonicus* из Японии, Китая, Южной Кореи. Напротив, популяции дальневосточного трепанга Дальнего Востока России, в частности залива Петра Великого, до сих пор оставались практически неисследованными с использованием молекулярно-генетических методов.

Диссертационная работа изложена на 172 страницах; включает введение, обзор литературы, главу с описанием выборок, методов и направлений анализа, 3 раздела с результатами исследования, 6 разделов с обсуждением полученных данных, заключение, выводы, список цитированной литературы из 341 наименования, 6 приложений. В работе содержится 32 таблицы и 26 рисунков.

Во введении хорошо аргументирован выбор темы, ясно сформулированы цель и экспериментальные задачи, приведены доводы в пользу теоретической и практической значимости и научной новизны исследования, аннотирована методология исследования, выдвинуты основные защищаемые положения, дана информация об апробации и публикациях полученных результатов.

Обзор литературы информативно и логично предваряет обсуждение экспериментальных данных в последующих главах. Он включает четыре части, в которых рассматриваются причины, возможности и риски использования разных молекулярных маркеров для оценки генетического разнообразия животных, дается представление об объекте исследования, дальневосточном трепанге, – его таксономии, образе жизни, ареале, промысловом значении. В самостоятельном разделе рассматривается степень изученности *Apostichopus japonicus* молекулярно-генетическими методами. Ознакомление с обзором литературы показывает, что автор в достаточной степени владеет литературой по заявленной теме.

В главе «Материалы и методы» приведены сведения об объеме и местах сбора изученных выборок трепанга, последовательно изложены методы получения нуклеотидных последовательностей и статистического анализа данных по мтДНК (участок гена *COI*) и яДНК (микросателлитные локусы). Описание методов дано подробно и достаточно для их воспроизведения.

Основная часть диссертации, суммирующая проделанную экспериментальную работу, представлена в двух главах. В главе «Результаты» продемонстрированы данные анализа изменчивости мтДНК и микросателлитов, распределения гаплотипов и генотипов в выборках, дендрограммы и медианные сети, оценки достоверности характеристик молекулярно-генетического разнообразия и структуры популяций дальневосточного трепанга, скорректированные данные об изменчивости микросателлитных локусов с учетом нулевых аллелей. Приведенные таблицы и рисунки способствуют лучшему пониманию полученных данных.

В главе «Обсуждение» обобщены сведения об изменчивости изученных маркеров мтДНК и яДНК, популяционно-генетической структурированности и демографической истории *Apostichopus japonicus*, причинах, определяющих наблюдаемые особенности структуры популяций трепанга. Все эти сведения обсуждаются в сравнительном аспекте с использованием данных других авторов. Большое внимание уделено обсуждению мер, призванных уменьшить риски молекулярно-генетического и статистического анализов и повысить достоверность результатов.

В разделах «Закключение» и «Выводы» автор резюмирует полученные результаты. К наиболее интересным итогам работы можно отнести следующие.

Комплексное применение двух типов генетических маркеров позволило более полно охарактеризовать популяционную структуру дальневосточного трепанга залива Петра Великого. В популяциях *Apostichopus japonicus* выявлена генеалогическая подразделенность гаплотипов и генетическая неоднородность генотипов. Низкий уровень изменчивости мтДНК и микросателлитов связан с различиями в репродуктивном успехе и может быть обусловлен снижением численности вида из-за антропогенного пресса. Коррекция данных с учетом нулевых аллелей влияет на оценку таких показателей генетического разнообразия, как наблюдаемая гетерозиготность, коэффициент инбридинга, устойчивость топологии дендрограмм. Выводы соответствуют поставленным задачам и положениям, выносимым на защиту.

Достоинства диссертационной работы очевидны. Это тщательный подбор и осмысление относящейся к теме литературы; современные, адекватные задачам методы; использование мощного математического аппарата; последовательное изложение и взвешенное обсуждение собственных данных.

Однако диссертационная работа не лишена недочетов, среди которых отметим следующие.

1. Недостаточная представленность выборок дальневосточного трепанга. В работе использованы особи только из четырех локальностей и отсутствуют выборки из искусственных популяций. Между тем, в заливе Петра Великого работает несколько предприятий по разведению этого вида. В частности, такое предприятие функционирует в поселке Зарубино, расположенном относительно близко к месту сбора «диких» экземпляров трепанга (выборки Pos15 и Pos18). Добавление в исследование представителей искусственных популяций помогло бы оценить их вклад в популяционно-генетическую структуру вида.

2. Отсутствует аргументация применения в анализе определенных ДНК-маркеров. Выбор должен быть обоснован в зависимости от целей исследования и параметров изменчивости используемых участков ДНК. Чем руководствовался автор при выборе конкретных генетических маркеров, осталось загадкой.

3. Историко-демографические данные получены с помощью анализа распределения попарных нуклеотидных различий между гаплотипами, а также тестов на нейтральность полиморфизма (*D* Таджимы и *F_s* Фу). Такой набор тестов ограничивает получение полной демографической информации. Анализ распределения числа нуклеотидных замен был проведен только для оценки демографической экспансии популяции. Но этого недостаточно, и лучше было бы протестировать несколько моделей. Кроме модели внезапной одноступенчатой демографической экспансии, можно было бы протестировать модель пространственной экспансии

популяции (программы Arlequin 3.5 позволяют проводить такой анализ), и сравнительно простую модель – экспоненциального роста численности популяции.

4. Представление объединенной сети гаплотипов *A. japonicus* (рис. 7) кажется излишним. Можно приветствовать желание соискателя расширить анализируемые данные, объединив все имеющиеся в GenBank последовательности гена *COI* *A. japonicus*. Однако построенная сеть в большей степени демонстрирует проблемы самой таксон-признаковой матрицы. В методах, основанных на статистической оценке результатов, число признаков связано с числом операционных таксономических единиц (ОТЕ). Увеличение числа ОТЕ при недостаточной длине фрагмента гена *COI* мтДНК, привело к образованию множественных альтернативных связей и замкнутых циклов. Генеалогическая информация в этом случае оказалась скомпрометированной.

5. В работе встречаются некорректные сравнения полученных в работе результатов с данными других авторов. На стр. 108 автор пишет: «В целом для выборок дальневосточного трепанга Японского моря (Chang et al., 2009; Soliman et al., 2012) при построении деревьев демонстрировалась кластеризация в зависимости от географического положения выборок, что не характерно для полученных нами данных». Однако в работе Chang с коллегами (2009) используется иной, гораздо больший географический масштаб – сравниваются выборки трепанга из Желтого, Восточно-Китайского, Японского морей, а также залива Аомори, расположенного вблизи границы между Японским морем и Тихим океаном. Сравнение с данными по генетической изменчивости трепанга из одного залива Японского моря представляется ошибочным из-за разного географического масштаба. Напротив, в работе Soliman (2012) анализируется трепанг из одной бухты Тояма и, судя по дендрограмме, никакой географической привязки выборок не наблюдается, хотя автор заявляет об обратном.

6. Имеются формулировки, обоснование которых в тексте диссертации отсутствует. Например, на стр. 121 в главе «Заключение» автор пишет: «Дифференциация выборок *A. japonicus* с использованием фрагмента гена *COI* мтДНК, соответствующая современному популяционному делению, не была обнаружена». Однако приведенные выше результаты, полученные другими исследователями, свидетельствуют как о наличии гетерогенности выборок дальневосточного трепанга, так и об их почти полном отсутствии. Информация о «современном популяционном делении» вида в тексте работы не приведена.

Диссертация написана ясным и лаконичным языком, но изредка в ней встречаются не всегда уместные или любопытные выражения. Например, на стр. 100 использовано неудачное выражение «присутствие нулевых аллелей влияет на генетическую дистанцию между популяциями» - нулевые аллели влияют не на дистанцию, а на ее оценку. На стр. 107: «виды с планктонными личинками

демонстрируют... низкую генетическую структуру», «сильная генетическая дифференциация происходит чаще... у видов со средней и высокой приливной зоной». Правильно говорить о невыраженной (или низко выраженной) генетической структуре, и о видах, обитающих в средней и высокой приливных зонах. Предложение на стр. 122 «Хотя морские виды обладают прекрасной адаптацией к размножению, они могут быть неспособны эволюционно реагировать на точечные океанографические вариации, влияющие на репродуктивный успех» содержит странные формулировки «эволюционно реагировать», «океанографические вариации» и похоже на дословный, не адаптированный перевод с английского языка.

Тем не менее, в целом работа производит положительное впечатление своей обстоятельностью, тщательным подходом ко всем этапам обработки и обсуждения экспериментальных данных. Она лишена существенных недостатков и выполнена на современном научном уровне. Полученные результаты интересны, достоверны, полно представлены в публикациях автора и на конференциях, отражены в автореферате.

Диссертационная работа «Пространственная и временная изменчивость ядерной и митохондриальной ДНК дальневосточного трепанга *Apostichopus japonicus* залива Петра Великого (Японское море)» соответствует основным квалификационным критериям (пункты 9–14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842, в редакции от 11 сентября 2021 года), а ее автор, ЯГОДИНА Виктория Дмитриевна, заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7. Генетика.

Доктор биологических наук, чл.-корр. РАН,
директор Федерального государственного
бюджетного учреждения науки
Институт биологических проблем Севера
Дальневосточного отделения
Российской академии наук
Радченко Ольга Аркадьевна

Адрес: 685000, Магадан, ул. Портовая, 18
e-mail: radchenko@ibpn.ru

1 июня 2023 г.

Подпись
заверяю
Ведущий специалист ОК ИБПС ДВО РАН

