

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу

Пшеничниковой Олеси Сергеевны

**«ВНУТРИВИДОВАЯ СТРУКТУРА У ПЛАНКТОНОЯДНЫХ
ЧИСТИКОВЫХ ПТИЦ (*ALCIDAE*, CHARADRIIFORMES) СЕВЕРНОЙ
ПАЦИФИКИ»**

представленную на соискание учёной степени кандидата биологических наук
по специальности 03.02.04 – зоология

Работа посвящена вопросам анализа внутривидовой структуры у четырех близкородственных планктоноядных чистиковых птиц – большой и малой конюг, белобрюшки и старика – с применением морфометрических, молекулярно-генетических и акустических методов. Актуальность исследования обусловлена слабой изученностью изменчивости и дифференциации этих видов, обладающих схожей биологией, но различающихся по численности колоний и расстояниями кормовых разлетов. Новизна исследования заключается в использованном впервые комплексном подходе изучения фенотипических и генетических признаков для анализа факторов, влияющих на формирование внутривидовой структуры перечисленных видов чистиковых птиц, с привлечением репрезентативного материала непосредственно из северной части Тихого океана, а также музейных образцов.

Диссертационная работа построена по традиционному плану, состоит из Введения, глав: 1 - Обзор литературы; 2 - Материалы и методы; 3-7 - изложение и обсуждение результатов; Выводов, а также списка условных сокращений и обозначений, словаря терминов, списка использованной литературы, списка иллюстративного материала и пяти приложений. Общее число страниц 192, из которых 142 составляет основной текст. Список литературы состоит из 304 источников (из них 263 на иностранных языках). Текст работы содержит 36 таблиц и 33 рисунка.

Во Введении автор подчеркивает актуальность исследования, которая не вызывает сомнений, описывает степень изученности проблемы, цель и задачи исследования, научную новизну, теоретическую и практическую значимость. Далее представлены положения, выносимые на защиту, декларация личного вклада автора в исследования, описание апробации результатов на международных и российских научных конференциях и конгрессах, а также публикаций. Завершается введение благодарностями.

Глава 1 представляет собой обзор литературы, в котором подобраны и проанализированы сведения из литературных источников об объектах исследования и применявшихся ранее для их изучения методах. В разделе 1.1 даётся обзор систематического положения и особенностей биологии изучаемых видов чистиковых птиц, таких как географическая изменчивость, распространение, миграции и зимовки, питание, поведение при гнездовании, родительское поведение, гнездовой консерватизм, суточная активность и акустическая коммуникация. В разделе 1.2 охарактеризованы молекулярно-генетические маркеры, применяющиеся для изучения внутривидовой структуры, и обосновано применение контрольного региона митохондриальной ДНК и ядерных микросателлитных локусов для диссертационного исследования. Подчеркнута необходимость комплексного анализа фенотипических и генотипических признаков для изучаемых видов. Описаны факторы, потенциально влияющие на механизмы внутривидовой дифференциации у птиц: географическая и периферическая изоляция, изменение местообитаний, распространение вне периода гнездования и миграционное поведение, распределение кормовых территорий, различия в океаническом режиме и преобладающих ветров, натальная филопатрия, паттерны дисперсии, фенология гнездования, межвидовые взаимодействия, выбор партнера для размножения.

В Главе 2 изложены материалы и методы исследования. В разделе 2.1 Автор описывает время и места сбора материала, характеризует выборки из разных частей ареалов исследуемых видов птиц. В целом выборки репрезентативны, по возможности максимально изучены всеми методами (генетическими, морфометрическими, акустическими) за исключением белобрюшки и старика, для которых не проводился акустический анализ. Общее количество изученных птиц определить сложно, поскольку в разных видах анализов, судя по всему, не всегда использовались одни и те же особи (таблица 2.2.). Далее в разделе 2.2 следует обсуждение методики молекулярно-генетического анализа (выделение ДНК, анализ контрольного региона мтДНК и аллелей микросателлитных локусов, осуществленный для всех видов), морфометрического анализа (измерение веса, промеры крыла и клюва, а также дополнительно для конюг – длину хохла и аурикулярной косицы только у большой конюги), акустического анализа (лай и триумфальный крик у большой конюги, мяуканье и сериальный крик у малой конюги) и статистического анализов полученных данных. Лабораторные и статистические методы адекватны задачам и описаны с достаточной для воспроизведения подробностью. Статистические процедуры охарактеризованы с

приведением формул расчёта и со ссылками на применявшиеся компьютерные программы.

В Главе 3 изложены результаты анализа внутривидовой структуры большой конюги. При анализе 128 особей был идентифицирован 121 гаплотип контрольного региона, различающийся по 75 заменам. Изученные выборки из бассейнов Охотского и Берингова морей, а также Командорских островов не различались по гаплотипическому и нуклеотидному разнообразию. Внутривидовой генетической дифференциации также не было выявлено и при анализе пяти ядерных полиморфных локусов. Корреляция между географическими и генетическими расстояниями разных гнездовых группировок большой конюги отсутствовала. Также не было выявлено различий между двумя изолированными участками гнездовой группировки большой конюги на острове Талан. По данным морфометрического анализа, пол птицы и стадия размножения оказывают большее влияние индивидуальную изменчивость больших конюг, нежели принадлежность к гнездовой группировке. Обнаруженные различия в вокализации разных гнездовых группировок были слабы и недостоверны. Делается вывод о гомогенности большой конюги в изучаемой части ареала на основании обмена генов и широкого расселения молодых птиц.

В Главе 4 приведены результаты изучения внутривидовой структуры малой конюги на островах Охотского моря, Командорских и Алеутских островах. Среди 59 изученных особей было выявлено 48 гаплотипов контрольного региона мтДНК, различающиеся по 47 заменам. Было показано более высокое гаплотипическое разнообразие малой конюги по сравнению с нуклеотидным, свидетельствующее о недавней популяционной экспансии этого вида после сокращения численности. В отличие от большой конюги, во внутривидовой структуре малой конюги вычленяется внутривидовая подразделенность, проявляющаяся в обособленности гаплотипов птиц Алеутских островов. Однако микросателлитные локусы не выявили генетической дифференциации. По результатам морфометрического и акустического анализов также была выявлена клинальная изменчивость в размерах тела и вокализации у малой конюги с востока на запад. Сделан вывод о том, что установленная внутривидовая дифференциация малой конюги согласуется с сильной привязанностью представителей вида к колониям, нательной филопатрией и регистрацией взрослых особей около колонии вне сезона размножения. Дифференциация по выбранным маркерам не коррелировала с различиями в ритме суточной активности малой конюги на колониях, вследствие чего сделан вывод о

том, что эти ритмы обусловлены экологической пластичностью вида в ответ на пресс дневных хищников.

Глава 5 посвящена анализу внутривидовой структуры белобрюшки. Среди 62 изученных особей был выявлен 51 гаплотип контрольного региона мтДНК, различающийся 45 заменами. Как и для малой конюги, для белобрюшки была показана статистически значимая внутривидовая генетическая дифференциация. Так, птицы Алеутских островов отличались от птиц о. Талан, Курильских островов и Камчатки. Небольшие различия также были зафиксированы между выборками с Алеутских и Командорских островов. По микросателлитным локусам генетической гетерогенности белобрюшки выявлено не было. Сделаны расчеты вероятного времени отделения митохондриальной линии белобрюшки Алеутских островов (около 92381 года назад). Морфометрический анализ показала, что птицы Алеутских островов были мельче, но упитаннее птиц из более северных гнездовых группировок. Особи с Командорских островов занимали промежуточное положение по изученным параметрам. Сделан вывод об отсутствии монотипичности вида, как считалось ранее. Обсуждается, что дифференциация митохондриальных линий белобрюшки, как и малой конюги, сформировалась в результате фрагментации ареала в позднем Плейстоцене. Сформировавшаяся генетическая структура поддерживается особенностями биологии вида, формирующего небольшие по плотности и численности колонии (по сравнению с большой конюгой и стариком, у которых не было выявлено генетической дифференциации) и не покидающего колониальные акватории после окончания сезона размножения.

В Главе 6 представлен анализ внутривидовой структуры старика. У 89 особей было выявлено 46 гаплотипов контрольного региона мтДНК, различающихся 33 заменами. Гаплотипическое разнообразие соответствовало нуклеотидному. Генетической дифференциации между выборками не выявлено ни по мтДНК, ни по микросателлитным локусам. Из шести микросателлитных локусов полиморфными были только три, и по ним получены низкие значения ожидаемой гетерозиготности (в среднем 0.33-0.48), а также достоверно высокие значения коэффициента инбридинга (0.439-0.721). По этим локусам было выявлено два генетических кластера: Командорские острова и все остальные (Талан, Курильские и Алеутские острова, Камчатка). Показаны слабые, но достоверные различия влияния гнездовой группировки на морфометрические признаки. Сделан вывод о том, что отсутствие популяционно-генетической дифференциации старика обусловлен высоким уровнем дисперсии (после вылупления птенца птицы уходят в море в поисках

корма, они способны преодолевать большие расстояния, например, пересекать Тихий океан). Морфометрический анализ не поддерживает выделение стариков Командорских островов в отдельный подвид, как предлагалось ранее. Обнаруженные небольшие различия у птиц Командорских островов скорее обусловлены экологическими, а не генетическими особенностями.

В заключительной Главе 7 анализируются межвидовые различия конюг и старика и рассматриваются факторы, влияющие на формирование внутривидовой структуры у исследуемых видов. Приводится сравнительная характеристика полиморфизма молекулярно-генетических маркеров и полученных данных, а также попытка вычленить факторы дифференциации в популяциях изучаемых видов. Так, географическая внутривидовая структура была выявлена у двух и четырех изученных видов чистиковых птиц – малой конюги и белобрюшки. Однако ни для одного из видов не установлена достоверная корреляция генетических и географических расстояний, что свидетельствует о потоке генов в результате миграций, носящих случайный характер. Причиной наблюдаемой структуры генетической структуры у изученных видов птиц могут заключаться, по мнению автора, в исторической фрагментации ареала в позднем Плейстоцене. При этом более многочисленные виды, такие как большая конюга и старик, пока еще не сформировали подразделенной внутривидовой структуры по причине величины и плотности популяций, в отличие от малой конюги и белобрюшки. Помимо плотности популяций, большая дальность перемещений при кормовых разлетах и миграциях также способствует генетической гомогенности у большой конюги и старика, в отличие от менее мобильных и, соответственно, генетически гетерогенных малой конюги и белобрюшки. Эти факторы, по мнению автора, объясняют и способствуют поддержанию сложившейся внутривидовой структуры в популяциях большой и малой конюг, белобрюшки и старика.

Выводы представлены девятью четко сформулированными, вытекающими из результатов исследования, положениями.

Несмотря на общий высокий научный уровень работы, можно сделать некоторые замечания.

В литобзоре при описании свойств молекулярно-генетических маркеров сказано, что «Последовательность мтДНК мутирует в 5-10 раз быстрее, чем ядерная ДНК...» (с. 41). Это не совсем корректно, поскольку разные части ядерного генома, так же как и митохондриального, мутируют с разной скоростью. Так, ядерные микросателлитные локусы, которые использовались в данной работе, мутируют гораздо быстрее, чем мтДНК – автор сама об этом упоминает позже (с.

48). В предложении на с.52 («...фенотипических признаков и ядерных маркеров (микросателлитов и мтДНК)...»), вероятно, смысловая опечатка – имелись в виду молекулярные, а не ядерные (к которым мтДНК не относится) маркеры.

Способ сбора и обработки биологического материала в Материалах и методах представлен довольно кратко. Так, по общей таблице 2.1 трудно определить, кем и когда из соавторов выполнялись полевые работы, а кем – музейные. Как именно отлавливались птицы на колониях, выдерживалась ли какая-то дистанция между ними? Для большой конюги морфометрический анализ был выполнен с учетом пола птиц, определенного визуально. Для остальных трех видов без явно выраженного полового диморфизма разделения выборок на самцов и самок не было. Однако в этом случае целесообразно было бы провести молекулярно-генетическое определение пола, осуществляемое для птиц универсальными и доступными маркерами.

По результатам, изложенным в главе 3 (Внутривидовая структура большой конюги), хотелось бы уточнить, действительно ли расстояние в 400 м является достаточной географической изоляцией между двумя частями гнездовой группировки птиц с большим радиусом разлета на острове, общей площадью 2,5 км² (о. Талан)? Поскольку полевые работы на этом острове, включая кольцевание птиц, проводились в течение нескольких лет, возвращались ли меченные особи на те же места, где они были окольцованы (соответственно, на северный и западный склоны)? Не наблюдалось ли перемешивания особей из разных склонов? По данным контрольного региона мтДНК и микросателлитных локусов, большая конюга оказалась генетически гомогенна в исследуемой части ареала. Далее была предпринята попытка выявления различий между птицами северного и западного склона о. Талан в аспекте возможного родства. Однако для этого использовались те же приемы, что и для анализа общей дифференциации, также не показавшие никаких различий. Данная задача могла бы быть более адекватно решаемая, если бы внутри выборок на каждом склоне и между ними было бы проанализировано генетическое родство (relatedness, kinship) по микросателлитным локусам. Поскольку, как справедливо отмечает сама автор, генетическая гомогенность не является залогом отсутствия родственных отношений, тем более в виду филопатрии у птиц. Соображения о том, что на острове Талан «молодые особи большой конюги предпочитают не гнездиться рядом с родителями», «не наблюдается натальной филопатрии и формирования групп родственников» (с. 93), выглядят преждевременными, потому что специального анализа семейной и родственной структуры проведено не было.

Также в тексте диссертации не всегда точно используются некоторые термины, например «широта разлета птиц», подразумевающая дистанцию/радиус перемещений, но не широту в географическом смысле; «географическая область», подразумевающая место сбора материала, а не географические области как таковые. На с. 52 утеряна ссылка по зеленой пеночке. В качестве пожелания, было бы не лишним и наглядным для общего представления объектов дать фото изучаемых колоний многочисленных и менее многочисленных видов чистиковых птиц. А также графически иллюстрировать наличие или отсутствие внутривидовой структуры, например, в пространстве главных компонент.

Высказанные замечания не имеют принципиального характера и не влияют на общую высокую оценку работы. Работа хорошо структурирована, изложена научно и лаконично. Рассматриваемая диссертационная работа, в которой проведён анализ внутривидовой структуры четырех видов чистиковых птиц Северной Пацифики, представляет собой значительный вклад в **решение ряда фундаментальных проблем** зоологии, популяционной генетики и эволюционной экологии. При этом **практическая значимость** работы также очевидна в связи с использованием характеристики гнездовых колоний чистиковых птиц в качестве индикатора состояния окружающей среды и функционирования биоценозов Тихого океана. Материалы диссертации могут быть использованы для оценки биоразнообразия, организации охраны и устойчивого использования природных ресурсов Мирового океана.

В целом можно отметить, что автором проделан большой объем исследовательской работы, исследованные выборки и их репрезентативность достаточны для достижения заявленной цели. Применяемые методы выбраны обоснованно и изложены ясно, все выводы основаны на анализе данных и их обсуждении, что не позволяет сомневаться в достоверности полученных автором результатов. Содержание работы достаточно полно отражено в опубликованных статьях и автореферате. По теме диссертации автором опубликовано 13 печатных работ в отечественных и зарубежных изданиях, в том числе 4 работы в рецензируемых журналах из перечня ВАК. Результаты представлены и апробированы на авторитетных научных конференциях и встречах, в том числе международных.

Таким образом, диссертационная работа Олеси Сергеевны Пшеничниковой является завершённым фундаментальным оригинальным научным исследованием, **отвечает** всем требованиям, предъявляемым ВАК к кандидатским диссертациям, и соответствует пп. 9-14 утвержденного Правительством РФ Постановления №842 от

24 сентября 2013 г. «О порядке присуждения ученых степеней», а ее автор Пшеничникова О.С. заслуживает присвоения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.04 – зоология.

Старший научный сотрудник
лаборатории популяционной генетики Федерального государственного
бюджетного учреждения науки Института общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН,
кандидат биологических наук,
119991, Москва, ГСП-1, ул. Губкина, 3, тел. +7(499)135-5067, +7(499)135-6213
Email: mudrik_len@mail.ru, mudrik@vigg.ru, Вебсайт <http://www.vigg.ru/>

04 декабря 2017 г.

Мудрик Елена Анатольевна

Подпись Е.А. Мудрик заверяю:

Учёный секретарь Федерального государственного бюджетного учреждения науки
Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, доктор биологических наук,

04 декабря 2017 г.

Огаркова Ольга Александровна

