

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

о диссертационной работе Алены Сергеевны Яхненко

«СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ВНУТРИВИДОВОЙ И МЕЖВИДОВОЙ ДИФФЕРЕНЦИАЦИИ ГУБОК БАЙКАЛА (PORIFERA: SPONGILLIDA)»,

представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7 «генетика»

Актуальность исследования

Озеро Байкал – древнейшее и крупнейшее по запасам пресной воды озеро на планете, давно стало плацдармом для модельных исследований в области эволюционной биологии, экологии и видообразования. Одним из наиболее выдающихся объектов исследований является комплекс видов эндемичных губок, ведущих происхождение от пресноводной предковой формы, вселившейся в озеро около 3,4 миллионов лет назад и образовавших «букет видов» (species flock), приспособленных к разным глубинам, имеющие различную форму и отличающиеся жизненные стратегии. Одновременно с этим эндемичным «букетом», в Байкале обитают и широко распространенные виды пресноводных губок, что делает их сосуществование с узкоэндемичными близкородственными видами в одной экосистеме достаточно уникальным и интересным. Генетическому разнообразию и популяционной структуре байкальских губок посвящена вынесенная на защиту работа. Учитывая деграционные процессы, происходящие в экосистеме Байкала под антропогенной нагрузкой и усугубленные изменением климата, исследование популяционно-генетических процессов одного из ключевых элементов экосистемы – губок Байкала – делает работу чрезвычайно актуальной и злободневной.

Научная значимость и новизна исследования.

Эндемичный комплекс видов байкальских губок Lubomirskiidae является крайне сложным для популяционно-генетических исследований, в том числе и из-за генетической близости морфологически различающихся родов и видов, возможной межвидовой гибридизацией и эволюционной молодости самого букета видов. В диссертационной работе А.С. Яхненко предложен новый подход к популяционно-генетическим исследованиям данной группы – а именно на анализе нескольких доступных транскриптомов и геномов байкальских губок автором подобраны и апробированы праймеры на микросателлитные локусы, встречающиеся как у Lubomirskiidae, так и у космополитных Spongillidae, что дало возможность диссертанту ввести в научный инструментарий недорогой и эффективный метод исследования популяционной структуры губок Байкала. Применявшиеся ранее методы, основанные на секвенировании мтДНК или проведение RNA-Seq не позволяло

ответить на вопросы о географической дифференциации губок Байкала по причине низкой информативности первого метода, и трудоемкости и дороговизне второго. Таким образом, представленная работа впервые позволяет ответить на вопрос о популяционной структуре, демографической истории, эффективном размере популяции как эндемичных губок Байкала, так и обитающих с ними губок – космополитов. Использование полиморфизма байкальских губок по микросателлитным локусам проведено впервые, в ходе работы были успешно разработаны наборы микросателлитных маркеров для одного вида из сем. Spongillidae и пяти видов сем. Lubomirskiidae. Проведены исследования популяционной структуры *L. baikalensis* и *E. muelleri*, а также, изучены межвидовые взаимоотношения между представителями всех родов Lubomirskiidae.

Структура работы, достоверность и обоснованность научных результатов

Диссертация имеет классическую структуру, состоит из Введения, Обзора литературы, глав Материалы и Методы, Результаты и Обсуждение. Завершает диссертационную работу Заключение, Выводы, Список литературы, состоящий из 185 источников и пять приложений.

В введении рассматривается актуальность темы исследования, указывается на недостаточность данных по популяционной генетике байкальских губок, и формулируются Цели и задачи диссертационной работы. Завершает этот раздел список положений, выносимых диссертантом на защиту.

В Обзоре литературы кратко отражены особенности озера Байкал, биологии и известные молекулярно-генетические данные о населяющих озеро представителях губок. Также отдельно обсуждаются существующие подходы к разработке панели микросателлитных маркеров в различных таксономических группах, в том числе примененный автором метод поиска кандидатных последовательностей с использованием доступных данных геномного и транскриптомного анализа.

В Разделе Материалы и Методы описаны районы сбора материала в озере Байкал, а также представлен список мест сбора космополитных и эндемичных пресноводных губок, использованных при изучении внутри- и межвидовой вариабельности гена *COI* среди губок семейств Lubomirskiidae и Spongillidae. Далее следует краткое описание лабораторных работ (выделение ДНК, амплификация и секвенирование гена *COI* у губок, проведение микросателлитного анализа. Наиболее полным является обзор биоинформационных программ, использованных автором для поиска и разработки панелей микросателлитных праймеров, а также для всестороннего анализа полученных данных полиморфизма микросателлитных локусов. Количество пакетов и программ, использованных автором, оставляет самое благоприятное впечатление.

Основной раздел диссертации – глава Результаты и Обсуждение. Первая часть касается использования классического ДНК-штрихкодирования для идентификации видов байкальских губок. Автором проведена амплификация двух фрагментов гена *COI*, и показано (как это было известно и ранее, но на более ограниченной выборке и более коротком участке гена) непригодность данного фрагмента для видовой идентификации, что связано с низким межвидовым полиморфизмом митохондриальных геномов у молодого (3,4 млн лет) букета видов эндемичных губок Байкала. Второй раздел главы посвящен разработке панели праймеров, апробации отобранных локусов на различных видах губок, и проведение микросателлитного анализа на различных видах байкальских Spongillidae и

Lubomirskiidae. Получены праймеры как для каждого семейства в отдельности, так и локусы, которые оказались амплифицируемыми и полиморфными для представителей обоих семейств.

В дальнейшем разработанные праймеры позволили использовать данные локусы для разделения видов (точнее, четырех родов) байкальских губок семейства Lubomirskiidae и показать их применимость в генетической идентификации байкальских губок. Анализ больших выборок из восьми точек сбора *L. baikalensis* показал наличие генетически подразделенных популяций, соответствующих географически трем основным котловинам Байкала. Автор применяет тест Гарза-Вильямса (2001) (отношение числа аллелей к диапазону длин аллелей в популяции) для выявления недавних «бутылочек» у *L. baikalensis* и не находит генетических следов снижения эффективной численности популяции у данного вида.

Анализу демографической истории *L. baikalensis* посвящен большой раздел представленной работы, для каждой популяции построен generalized skyline Plot с использованием дистанции Бруво (как и тест Гарза-Вильямса, учитывает не только идентичность аллелей, но и расстояние в числе повторов между аллелями).

Автор делает вывод (и даже включает как одно из трех положений, выносимых на защиту), что в настоящий момент эффективная численность байкальских эндемичных губок достигает наиболее высокого уровня за последние несколько десятков поколений. Это, по мнению автора, свидетельствует о том, что, губки не находятся под угрозой исчезновения в связи с событиями их массовых заболеваний и гибели.

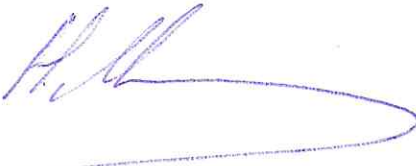
К безусловным достоинствам представленной работы является разработка и грамотное применение микросателлитных локусов для анализа меж- и внутривидового генетического полиморфизма байкальских губок. Несмотря на то, что этот метод постепенно уходит в прошлое, плавно замещаясь методами геномики, такими как WGS, RAD-Seq и прочие, однако простота, дешевизна и универсальность микросателлитного анализа еще долго будет делать этот метод одним из наиболее эффективных в популяционной генетике. Автор преодолела проклятие поколений генетиков, которые не могли подступиться к исследованию букета видов семейства Lubomirskiidae на межвидовом и популяционном уровне, и теперь, благодаря работе диссертанта в байкаловедении появился мощный инструмент исследования губок. Генетическая дифференциация трех выявленных популяций показана впервые для симпатрических озерных губок. Представляется крайне интересным продолжение данной работы с целью детального картирования границ выявленных популяций, в том числе в районе Малого моря и Академического хребта. Может оказаться, что между популяциями будут наблюдаться более резкие генетические границы, чем они видны в сегодняшней работе, и не исключено, что выявленные три генетические группы губок – не географически разобщенные выборки, а очередной виток экологической специализации и видообразования в этом удивительном озере.

Что же касается вывода автора о том, что наблюдаемая по всему Байкалу гибель губок не сказывается неблагоприятно на генетическом разнообразии популяции, то я бы к этому выводу относился бы с большой осторожностью. Все популяционно-демографические тесты способны показать снижение численности только спустя несколько поколений после реального прохождения бутылочного горлышка. Учитывая медленный рост байкальских губок, возможность бесполого размножения и длительность

межгенерационного периода, исследованная выборка просто физически не могла бы показать снижение численности, даже на фоне уже происходящего коллапса популяции. Все исследованные образцы губок (а отбирались, очевидно, наиболее крупные экземпляры) «родились» задолго до первых признаков массовой гибели губок в Байкале. Да и отбор проб производился автором в основном более 6 лет назад – в 2018 г. Поэтому с выводом, что «генетика говорит, что с губками в Байкале все замечательно», я бы повременил.

Неудачная формулировка одного из выводов несколько не умаляет качество представленной диссертационной работы. Представленные результаты опубликованы в рецензируемых журналах, достоверность полученных результатов не вызывает сомнений. Автореферат адекватно и полно отражает содержание диссертации. Тематика диссертации полностью соответствует специальности 1.5.7 – «генетика». Результаты работы могут быть использованы в образовательных курсах, а разработанные панели микросателлитных локусов найдут широкое применение в будущих исследованиях пресноводных губок Байкала. Содержание диссертационной работы Яхненко А.С. полностью соответствует п.п. 9-14 Положения "О порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24.09.2013 г. с изменениями, предъявляемым к диссертациям, представленным на соискание степени кандидата биологических наук, а ее автор **Яхненко Алёна Сергеевна** заслуживает присуждения степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7 – генетика биологической отрасли науки.

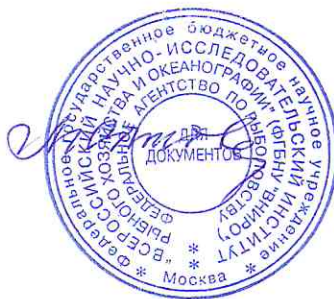
кандидат биологических наук (03.02.07),
Нач. отдела молекулярной генетики,
Всероссийский научно-исследовательский
институт рыбного хозяйства и океанографии,
(ФГБНУ «ВНИРО»), г. Москва
105187 Москва, Окружной проезд 19
Тел. 8(499)2648519 (лаб.), 8(916)6877783 (сот.)
e-mail: mugue@mail.ru



Н.С. Мюге

11 февраля 2025 г.

Подпись заверяю
Ученый секретарь
ФГБНУ «ВНИРО»



М. В. Саткина