

УТВЕРЖДАЮ:

Директор Федерального государственного  
бюджетного учреждения науки  
Лимнологического института Сибирского  
отделения Российской академии наук



А.П. Федотов

«02» декабря 2024 г.

Заключение

Федерального государственного бюджетного учреждения науки

Лимнологического института Сибирского отделения

Российской академии наук (ЛИН СО РАН)

Диссертация Яхненко А.С. «Сравнительный анализ внутривидовой и межвидовой генетической дифференциации губок Байкала (Porifera: Spongillida)» выполнена в лаборатории аналитической биоорганической химии ЛИН СО РАН. В период подготовки диссертации Яхненко Алёна Сергеевна работала в должности ведущего инженера, а затем младшего научного сотрудника. В 2019 г. соискатель окончила магистратуру в Иркутском Государственном Университете по специальности «Биология клетки», а затем в 2023 г. очную аспирантуру по специальности 1.5.7. Генетика. Удостоверение о сдаче кандидатских экзаменов выдано в 2024 г. ЛИН СО РАН.

Научный руководитель – кандидат биологических наук Ицкович Валерия Борисовна, старший научный сотрудник лаборатории аналитической биоорганической химии ЛИН СО РАН.

**По итогам обсуждения принято следующее заключение:**

Диссертационная работа Яхненко А.С. «Сравнительный анализ внутривидовой и межвидовой генетической дифференциации губок Байкала (Porifera: Spongillida)» является самостоятельно выполненным комплексным исследованием. Работа посвящена изучению внутри- и межвидовых



взаимоотношений пресноводных губок, обитающих в озере Байкал. Диссертация выполнена с использованием ряда современных подходов, включая морфологические, молекулярно-генетические (на основе ряда ядерных и митохондриальных маркеров) и биоинформатические методы исследования, а также проведения экспедиционно-поисковых работ. С помощью филогенетического анализа двух участков митохондриального гена *COI* подтверждено эволюционное происхождение байкальского эндемичного семейства *Lubomirskiidae* от предковых видов *Spongillidae*. Для изучения внутривидовых взаимоотношений *Lubomirskiidae* анализом геномных и транскриптомных данных были разработаны наборы видоспецифичных высокоразрешающих микросателлитных маркеров для шести видов (*Ephydatia muelleri*, *Lubomirskia baikalensis*, *Lubomirskia abietina*, *Baikalospongia bacillifera*, *Rezinkovia echinata* и *Swartschewskia papyracea*), а также набор универсальных микросателлитных маркеров для изучения межвидовых взаимоотношений байкальских эндемичных губок. Определено, что при выборе универсальных для нескольких видов микросателлитных маркеров наиболее перспективными являются те, которые вместе с фланкирующими районами содержатся в геноме одного из исследуемых видов и в геноме ближайшего общего родственного вида для группы исследуемых видов. С помощью разработанного набора универсальных микросателлитных маркеров установлена генетическая подразделенность между всеми родами байкальских эндемичных губок. Используя набор видоспецифичных микросателлитных маркеров для вида *Ephydatia muelleri*, выявлено наличие его пространственно-генетической подразделенности в районе Малого Моря озера Байкал. С помощью микросателлитных маркеров проведен анализ популяционно-генетической структуры эндемичной губки *Lubomirskia baikalensis* по всей акватории озера Байкал, показано наличие сложной пространственно-генетической подразделенности, соответствующей модели изоляции расстоянием. Проанализировано изменение эффективной численности *L. baikalensis* во времени, которое соответствует изменению

концентрации спикул в донных отложениях озера Байкал. Благодаря полученной реконструкции показано, что в настоящий момент, несмотря на массовое заболевание и гибель, байкальские эндемичные губки не находятся под угрозой исчезновения.

**Личный вклад автора.** Диссертационная работа является результатом исследований автора, выполненных в рамках государственных заданий ЛИИ СО РАН и грантов РФФИ, в которых автор принимал участие в качестве руководителя (проект №20-44-383010) и исполнителя (проект №17-04-01598). Личное участие автора заключается в следующем:

1. Отбор образцов в экспедиционно-поисковых работах;
2. Пробоподготовка образцов, включающая выделение ДНК, проведение ПЦР и гель-электрофореза;
3. Разработка наборов микросателлитных маркеров, включающая анализ геномов и транскриптомов из открытых баз данных, разработку праймеров, интерпретацию данных фрагментного анализа;
4. Анализ внутри- и межвидовых взаимоотношений губок, включающий работу с сырыми данными секвенирования и фрагментного анализа, проведение расчетов с помощью ряда программ и скриптов для языка программирования R;
5. Подготовка полученных результатов к публикации.

**Степень достоверности результатов.** Достоверность результатов обоснована достаточным объемом выборки, согласованностью данных, полученных с использованием различных методов анализа, статистической достоверностью представленных выводов, а также признанием результатов исследований мировым научным сообществом в виде публикации в журналах высокого уровня, индексируемых международными базами данных.



**Научная новизна работы.** Впервые разработаны наборы микросателлитных маркеров для изучения внутри- и межвидовых взаимоотношений байкальских губок. С их помощью определено наличие достоверной генетической подразделенности между представителями эндемичного семейства *Lubomirskiidae*. Среди древних озер получены первые данные о популяционно-генетической структуре эндемичных губок Байкала. Показано наличие значительной пространственно-генетической подразделенности, проанализированы паттерны миграции, выявлено, что расселение идет вдоль изобаты глубины обитания. Проведена реконструкция изменения эффективной численности *L. baikalensis*. Вследствие чего показано, что в данный момент губки находятся на плато высокой численности, по сравнению с предыдущим периодом, когда их численность была в десятки раз ниже современной.

**Теоретическое и практическое значение работы.** В связи с высокой морфологической пластичностью губок разработка набора универсальных микросателлитных маркеров, позволяющего разделить представителей всех родов семейства *Lubomirskiidae*, имеет большое значение для мониторинговых исследований состояния экосистемы озера Байкал, где губки играют роль биоиндикаторов. Кроме того, полученные показатели генетического разнообразия отображают современное состояние популяций губок по всей акватории озера. Эти данные станут отправной точкой в последующих популяционно-генетических исследованиях губок на Байкале в контексте их массовых заболеваний и гибели, наблюдаемых в последнее десятилетие.

**Анализ публикаций.** По теме диссертации опубликовано 16 работ, в том числе 3 статьи в журналах, входящих в международные базы данных, в которых изложены основные результаты исследований.

## Публикации по теме диссертации

### *Статьи из списка, рекомендованного ВАК:*

1. Yakhnenko A.S., Bukin Y.S., Bondar E.I., Khanaev I.V., Kirilchik S.V., Kondratov I.G., Itskovich V.B. Population genetic structure of the endemic sponge *Lubomirskia baikalensis* in Lake Baikal in the light of mass disease and mortality events // *Freshwater Biology*. 2024. Vol. 69. P. 1454–1467. DOI: 10.1111/fwb.14318

2. Yakhnenko A.S., Bukin Y.S., Khanaev I.V., Itskovich V.B. Genetic diversity studies of Baikal endemic sponges at the interspecies and population levels using high-resolution microsatellite markers // *Aquatic Sciences*. 2024. Vol. 86. Article no. 85. DOI: 10.1007/s00027-024-01096-5

3. Yakhnenko A.S., Itskovich V.B. Analysis of mtDNA variability in closely related Baikal sponge species for new barcoding marker development // *Limnology*. 2020. Vol. 21, №. 1. P. 49–57. DOI: 10.1007/s10201-019-00599-7

### *Статьи, индексируемые РИНЦ:*

1. Yakhnenko A.S., Itskovich V.B. Study of microsatellite cross-species specificity in freshwater sponge families Lubomirskiidae and Spongillidae // *Limnology and Freshwater Biology*. 2020. Vol. 3, № 6. P. P. 1084–1089. DOI: 10.31951/2658-3518-2020-A-6-1084

2. Yakhnenko A.S., Itskovich V.B. Prospects for population genetic studies of cosmopolitan freshwater sponges of the Spongillidae family in Lake Baikal // *Limnology and Freshwater Biology*. 2021. Vol. 4, № 6. P. 1199–1204. DOI: 10.31951/2658-3518-2021-A-6-1199

### *Работы в материалах конференций:*

1. Yakhnenko A.S., Itskovich V.B. Universal microsatellite markers for Baikal endemic sponge family Lubomirskiidae // The Thirteenth International Multiconference «Bioinformatics of Genome Regulation and Structure/Systems Biology» (BGRS/SB-2022), Novosibirsk, July 4–8, 2022. – Novosibirsk: ICG SB RAS, 2022. P. 186–187. DOI: 10.18699/SBB-2022-101.



2. Yakhnenko A.S., Bondar E.I., Itskovich V.B. Genetic differentiation at the population level in Lake Baikal endemic sponge *Lubomirskia baikalensis* // Modern Achievements in Population, Evolutionary, and Ecological Genetics: International Symposium, Vladivostok – Vostok Marine Biological Station, September 8–12, 2022. Program and Abstracts. – Vladivostok: Vladivostok State University of Economics and Service, 2022. P. 80.

3. Яхненко А.С., Ицкович В.Б. Разработка микросателлитных маркеров для популяционно-генетического анализа байкальских эндемичных губок // Изучение водных и наземных экосистем: история и современность. Тезисы докладов Международной научной конференции, посвящённой 150-летию Севастопольской биологической станции – Института биологии южных морей имени А.О. Ковалевского и 45-летию НИС «Профессор Водяницкий», Севастополь, 13–18 сентября 2021 г. – Севастополь: ФИЦ ИнБЮМ, 2021. С. 497.

4. Yakhnenko A.S., Itskovich V.B. Analysis of cross-species usability of microsatellite markers for Baikal endemic sponges // Proceedings of the 1st International Electronic Conference on Biological Diversity, Ecology and Evolution, March 15–31, 2021. Biol. Life Sci. Forum. 2021. Vol. 2, № 1. Article no. 22. <https://doi.org/10.3390/BDEE2021-09435>.

5. Yakhnenko A.S., Itskovich V.B. First microsatellite markers developed for population genetic studies of unique sponges from Lake Baikal // FEBS Open Bio. Vol. 11, Supplement 1: Posters of the 45th FEBS Congress, Molecules of Life: Towards New Horizons, Ljubljana, Slovenia, July 3–8, 2021. 2021. P. 130. DOI: 10.1002/2211-5463.1320.

6. Yakhnenko A.S., Itskovich V.B. Study of the applicability of *COI* gene application for a population-genetic analysis of freshwater sponges of the Lubomirskiidae and Spongillidae families // Multidisciplinary Academic Research Conference «Science Present and Future: Research Landscape in the 21st century», Irkutsk, May 29, 2020. – Irkutsk: Irkutsk Scientific Center SB RAS, 2020. P. 29-32.

7. Yakhnenko A.S., Itskovich V.B. New approaches to the development of microsatellite markers in the study of Baikal sponges // Abstracts of the VII Vereshchagin Baikal Conference, Irkutsk, September 7–13, 2020. Limnology and Freshwater Biology. 2020. Vol. 3, № 4. P. 822–823.

8. Yakhnenko A.S., Itskovich V.B. Study of the *COI* gene fitness for a population-genetic analysis of endemic Baikal sponges *L. baikalensis* // The Twelfth International Multiconference «Bioinformatics of Genome Regulation and Structure/Systems Biology» (BGRS/SB-2020), Novosibirsk, July 6–10, 2020. – Novosibirsk: ICG SB RAS, 2020. P. 387–388.

9. Яхненко А., Соколова А., Ханаев И., Ицкович В. Изучение генетического разнообразия пресноводных губок семейств Spongillidae и Lubomirskiidae, собранных в географически удаленных районах, с помощью двух баркодинг-маркеров // VI Международная конференция молодых ученых: биофизиков, биотехнологов, молекулярных биологов и вирусологов – 2019, Кольцово, 22–25 октября 2019 г. – Новосибирск: Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, 2019. С. 675–677.

10. Яхненко А.С., Ицкович В. Б. Оценка применимости участка I3-M11 гена *COI* для видовой идентификации близкородственных байкальских губок // Социально-экологические проблемы Байкальского региона и сопредельных территорий: тезисы докладов Международной научно-практической конференции студентов, аспирантов и молодых ученых, посвященной 100-летию Иркутского государственного университета, Иркутск, 23 апреля 2018 г. – Иркутск: Изд-во ИГУ, 2018. С. 152–154.

11. Яхненко А.С., Ицкович В.Б. Сравнительный анализ вариабельности стандартного 5' концевой участка и участка I3M11 гена *COI* для близкородственных байкальских губок // Международная конференция «Пресноводные экосистемы – современные вызовы», Иркутск–Листвянка, 10–14 сентября 2018 г. – Иркутск: ООО «Мегапринт», 2018. С. 364-365.



Тема и содержание диссертации соответствует специальности 1.5.7. Генетика. Все научные статьи, выполненные в соавторстве, процитированы в тексте работы. Весь заимствованный материал имеет ссылки на источники.

Диссертация Яхненко А.С. «Сравнительный анализ внутривидовой и межвидовой генетической дифференциации губок Байкала (Porifera: Spongillida)» рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7. Генетика.

Заключение принято на заседании Ученого совета ЛИН СО РАН.

На заседании присутствовало 19 человек. Результаты голосования: «за» – 19 чел., «против» – 0 чел., «воздержались» – 0 чел., протокол № 16 от 14 августа 2024 г.

Ученый секретарь ЛИН СО РАН

к.б.н.



Максимова Наталья Васильевна

14.08.2024г.