

ОТЗЫВ

официального оппонента по диссертации Алёны Сергеевны Яхненко на тему «Сравнительный анализ внутривидовой и межвидовой генетической дифференциации губок Байкала (Porifera: Spongillida)», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7 – генетика

Диссертация Алёны Сергеевны Яхненко – это научно-квалификационная работа, в которой содержится решение научной задачи (выяснение популяционной структуры байкальских губок), имеющей значение для развития популяционной генетики. Диссертация обладает внутренним единством, содержит новые научные результаты. Основные научные результаты диссертации опубликованы с соблюдением нормативных требований пп. 11-13 Постановления от 24 сентября 2013 г. № 842 «О порядке присуждения ученых степеней» (с действующими изменениями). Во исполнение п. 14, в диссертации содержатся отметки о личном вкладе соискателя. Автореферат адекватно отражает содержание диссертации.

Актуальность темы исследования

В современную эпоху происходят масштабные изменения биоты, следовательно, требуется развитие популяционной генетики для их правильного понимания. Дополнительную актуальность теме придает объект исследования – байкальские губки – часть автохтонного населения гигантского водоема – Байкала, ввиду чего от раскрытия их популяционно-генетической структуры можно ожидать сюрпризов. Наконец, чуть более десяти лет назад начался продолжающийся и сейчас процесс массовой гибели губок в Байкале, заметного снижения площади дна, покрытой губками, которые оказываются, таким образом, привлекательным объектом для наблюдения генетических процессов, сопровождающих массовое сокращение численности популяции.

Научная новизна

До работы Алёны Сергеевны Яхненко сведений о популяционной структуре байкальских губок не имелось. Все представленные в диссертации (и публикациях по ней) результаты являются новыми. Ранее было известно, что традиционные генетические маркеры непригодны для разграничения видов байкальских губок из-за отсутствия различий между ними. В диссертации показано, что виды могут быть различены с вероятностью 95% (одна ошибка на 20 экземпляров) при использовании 6 локусов микросателлитных маркеров, а при использовании 10 локусов удастся выявить популяционные различия по крайней мере внутри вида *Lubomirskia baikalensis*, для

которого установлено в диссертации три геграфически обособленные группы, привязанные к трем котловинам оз. Байкал.

Степень обоснованности научных положений, их достоверность

Положения и выводы диссертации обосновываются значительным объемом данных, относящихся практически ко всей акватории Байкала. Исследованы ядерные и митохондриальные генетические маркеры, притом для тех же самых индивидов, на достаточно больших выборках. Так, микросателлиты *Lubomirskia baikalensis* исследованы на выборке из 251 экз. из 8 районов по всему ареалу вида, микросателлиты *Ephydatia muelleri* исследованы на выборке из 44 экз., фрагменты *COI* – на выборке из 66 экз. Информативные микросателлитные локусы выбраны из 75 тысяч кандидатов, найденных в геноме методами биоинформатики. Экспериментально проверено 58 пар праймеров для амплификации микросателлитов, из которых было отобрано 10 пар (10 локусов) с наибольшей информативностью. Достоверность положений и выводов диссертации справедливо аргументируется использованием принятых в современной науке технических и программно-вычислительных средств. Для вычислений применены 22 компьютерные программы, не считая средств программирования на языке R. Диссертация переполнена минимально обработанным, почти сырым численным материалом, иллюстрирующим достоверность (20 таблиц в основной части, 12 стр. таблиц в Приложениях). Эмоционально доверие к работе усиливает то обстоятельство, что автор не утаивает отдельные «выпадающие» точки, например, 1 из 70 экземпляров *Lubomirskiidae*, отделившийся прежде разделения общего кластера на дереве *COI* (рис. 4) или 1 из 20 экземпляров с противоречивым видовым определением по признакам морфологии и по микросателлитам (рис. 5). Частные вопросы обсуждаются ниже.

Оформление диссертации

Диссертация оформлена по традиционному плану, изложена на 111 стр., содержит 20 таблиц, 18 рисунков и снабжена пятью приложениями на 14 стр. В основном тексте выделены следующие разделы: Список сокращений (2 стр.); Введение (7 стр.); Обзор литературы (16 стр.); Материалы и методы (11 стр.); Результаты и обсуждение в составе: Изучение внутри- и межвидовых взаимоотношений *Lubomirskiidae* и *Spongillidae* с помощью двух участков гена *COI* (2 стр.), Разработка наборов универсальных и видоспецифичных микросателлитных маркеров для близкородственных видов губок (19 стр.), Изучение внутри- и межвидовых взаимоотношений *Lubomirskiidae* и *Spongillidae* с помощью микросателлитных маркеров (27 стр.); Заключение (3 стр.); Выводы (6 пунктов); Список литературы (185 источников). Текст написан ясно, за исключением

одного пункта, рассматриваемого ниже, но стиль изложения можно назвать агрессивным: обсуждение присутствует в самой краткой форме, а пояснений вообще не приводится.

Вопросы и замечания

Учитывая новизну результатов и их объем, другие бесспорные сильные стороны диссертации, доказывающие высокую квалификацию автора, ограничусь только их констатацией, непропорционально уделив место спорным вопросам. Часть из них, очевидно, связана с выбранным лаконичным стилем, с минимальным обсуждением.

1. Демографической истории уделено немало места (табл. 17, рис. 16 и др.). Этот вопрос касается не только прошлого, но и будущего, именно: изменилась ли эффективная численность байкальских губок в свете наблюдаемой более 10 лет их массовой болезни и гибели и есть ли опасность их полного вымирания. Проблема вымирания относится к наименее разработанным в теории эволюции. Но обсуждение этих вопросов ограничено 3 строками на стр. 72 и 3 строками на стр. 80. Возможно, теперерь во всем мире считается достаточным просто привести индекс Гарзы-Вильямсон. Но мне обсуждения из 6 строк не хватило. Для оценки эффективной численности традиционно вычисляют уровень гетерозиготности, а он меняется слабо при резком (например, 1000-кратном) падении численности (см.: Кимура, 1985: 230). После нарушения равновесия, как сейчас, при массовой гибели губок в Байкале, популяции требуется от $0,2N_e$ до $4N_e$ поколений для достижения нового равновесия (там же, стр. 232), оценочно – десятки или сотни тысяч лет (в зависимости от N_e). Для человека оценки N_e сходятся к 10^4 , что на много порядков меньше современной численности N , а полиморфизм микростеллитных локусов почти истребленных синих китов соответствует ожидаемому уровню до китобойного промысла. Так что теоретически снижения полиморфизма и вычисленной N_e байкальских губок не могло быть обнаружено, и не было обнаружено А.С. Яхненко, согласно с теорией. При этом возможные артефакты вычислений для популяций, не находящихся в равновесии, не обсуждены. Наверное, небесполезно было бы учесть распределение по числу повторов в использованных микросателлитных локусах и степень сокращения N относительно расчетной N_e – параметры, способные повлиять на индекс Гарзы-Вильямсон. Мне так видится. Хотелось бы услышать альтернативную версию.

Эти же сомнения относятся и к разделу «Теоретическое и практическое значение работы» (стр. 9, также автореферат): «показатели генетического разнообразия отображают современное состояние их популяций». Это верно при условии равновесия. Если популяция выведена из равновесия, то эти показатели отображают переходное состояние от прошлого равновесия к будущему, возможно с бóльшим приближением к прошлому.

2. Хотелось бы узнать на основании каких данных ставятся в соответствие уровни дистанций Бруво и датировки в кернах осадков (стр. 80-81). Я не нашел методики и результата датировки генетических данных – их привязки к абсолютному возрасту.

3. Анализ кернов с ископаемыми спикулами не был темой личного исследования в диссертации, но эти данные привлекаются без обсуждения в поддержку спорной (п. 1) демографической истории. Почему эти данные интерпретируются как рост численности губок 15-20 тыс. лет назад, а не как растворение большей части спикул старше 20 тыс. лет? Обычно мы считаем стекло нерастворимым в воде, но в Байкале концентрация растворенного кремнезема варьирует в 2-4 раза по глубинам и по годам (Грачев, 2002: 65-69) и связана с цветением диатомей («мелозирные»/«немелозирные» годы). Почему исключаются более высокие значения рН воды в Байкале или более быстрый оборот биогенно связываемого кремнезема 20 тыс. лет назад, следствием чего, а не малочисленности губок, явились бедные захоронения спикул того периода?

4. Ставит в тупик фраза (стр. 40): «...*COI*, его использование для видовой идентификации и популяционно-генетических исследований не корректно». Как понимать это утверждение, особенно в свете того факта, что ген *COI* позволяет корректно отличать тысячи близких видов? Здесь ожидается обсуждение, но вместо обсуждения приведена только ссылка (Yakhnenko, Itskovich, 2020a). Из цитируемого источника понятно, что подразумевается непригодность (недостаточность) гена *COI* для различения видов байкальских губок вследствие низких средних межвидовых различий и общих для разных видов гаплотипов. Но тогда следовало обсудить неоправданно, «некорректно» завышенный таксономический ранг байкальских губок, которые и по генетическим, и по морфологическим признакам отличаются с трудом, не так ли?

5. Алёна Сергеевна подтверждает монофилию вида *Ephydatia muelleri* (Spongillidae) и семейства Lubomirskiidae (вывод 1 диссертации), с этим приходится согласиться, но не принимает какого-то таксономического решения. Понятно, работа не таксономическая, но в результате, без адекватного таксономического решения, по всему тексту диссертации используется некорректный (парафилетический) таксон «Spongillidae».

6. Не понятно, чем отличаются (стр. 47) выборки из 19 и 28 пар праймеров, и, соответственно, два подхода в разработке праймеров. Тем, что во втором случае отфильтрованы локусы с длиной выравнивая у двух губок менее 300 нуклеотидов? Почему тогда на стр. 48 эти выборки противопоставляются по признаку наличия в локусе микросателлита в одном или двух геномах? Согласно стр. 47, начальным шагом был поиск локусов с микростеллитами в геноме *Lubomirskia baikalensis*, то есть все локусы-кандидаты

содержали микросателлит по крайней мере в геноме *L. baikalensis*. Выходит, для будущего анализа микросателлитов *Ephydatia muelleri* осознанно была выбрана часть локусов, не содержащих микросателлита в геноме *E. muelleri*?

7. На стр. 26 приведены неправдоподобные значения скорости возникновения мутаций в микросателлитных участках ДНК (от 10^3 до 10^6 на клеточное поколение) со ссылкой на Gemayel et al. (2012). Во цитируемой статье записана оценка от 10^{-6} до 10^{-3} .

8. Правильная ли запись "Координаты локуса в геноме" в заголовке столбца таблицы 8? Поскольку сборка проведена до уровня контигов, в таблице приведены, скорее всего, не координаты, а просто имена контигов.

Все поднятые вопросы носят частный или специальный характер и не ставят под сомнение высокую квалификацию соискателя.

Заключение

Нахожу диссертацию «Сравнительный анализ внутривидовой и межвидовой генетической дифференциации губок Байкала (Porifera: Spongillida)» Алёны Сергеевны Яхненко соответствующей по содержанию и публикациям в рецензируемых изданиях критериям диссертаций на соискание степени кандидата наук согласно пп. 9-14 Положения «О порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842 (с действующими изменениями). Рекомендую присудить ее автору Алёне Сергеевне Яхненко степень кандидата биологических наук по специальности 1.5.7 – генетика биологической отрасли науки.

Официальный оппонент:

доктор биологических наук (специальность 03.00.03 – молекулярная биология)
заведующий отделом эволюционной биохимии Научно-исследовательского института физико-химической биологии (НИИ ФХБ) имени А.Н.Белозерского Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»,
адрес: Москва, 119991, Ленинские горы, д. 1, стр. 40,
тел.: +7-4959391440, e-mail: Aleshin@belozersky.msu.ru

10 февраля 2025 года

Владимир Вениаминович Алёшин

Подпись В. В. Алёшина заверяю,
И. о. директора НИИ ФХБ имени А.Н.Белозерского МГУ
доктор химических наук, профессор, чл.-корр. РАН

Пётр Владимирович Сергиев

