

«УТВЕРЖДАЮ»

Проректор по научной работе и
инновациям Федерального
государственного автономного
образовательного учреждения высшего
образования «Пермский государственный
национальный исследовательский
университет»

Кандидат физико-математических наук,
Ирха Владимир Александрович

« 15 » 10 2025 г.

ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Пермский государственный национальный исследовательский университет» на диссертацию **Новиковой Серафимы Валерьевны на тему «Изучение генетической адаптации в популяциях лиственницы сибирской (*Larix sibirica* Ledeb.) с использованием данных полногеномного генотипирования», представленную к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности**

1.5.7 – Генетика (биологические науки)

Актуальность темы диссертационной работы.

Понимание генетических механизмов, лежащих в основе формирования адаптаций к разнообразным условиям окружающей среды, является фундаментальной проблемой эволюционной биологии. Одним из эдификаторов бореальных лесов является лиственница сибирская (*Larix sibirica* Ledeb.), которая обладает обширным ареалом с широким диапазоном климатических условий и экологической неоднородностью. Совместное использование данных генотипирования популяций из контрастных условий произрастания с биоклиматическими показателями позволяет провести поиск генетических основ адаптации и связать генетическую изменчивость с изменчивостью конкретных адаптивных дендрофенотипов. Изучение генетических механизмов адаптации лиственницы сибирской (*Larix sibirica* Ledeb.) к различным климатическим условиям является актуальной задачей ввиду глобальных климатических изменений.

Научная новизна диссертационной работы.

Впервые установлена пространственная структура популяций *L. sibirica* с использованием данных полногеномного секвенирования с использованием современного метода генотипирования геномов путём секвенирования ДНК ассоциированной с сайтами рестрикции эндонуклеазами (ddRADseq).

Впервые выявлены маркеры и участки генома *L. sibirica*, изменчивость которых статистически достоверно связана с экологическими градиентами, ассоциированными как с высотой произрастания, так и с широтностью. На основании большого числа генетических маркеров показано наличие корреляции между генотипической изменчивостью дерева и характером его индивидуального ответа на засуху, определяемого на основании дендрохронологических индексов. Выявлена взаимосвязь уровня индивидуальной гетерозиготности со стабильностью прироста древесины у лиственницы сибирской, что позволяет рассматривать индивидуальную гетерозиготность как потенциальный показатель приспособленности особей в условиях засушливого и нестабильного климата.

Теоретическая и практическая значимость диссертационной работы.

Результаты работы позволили установить генетические механизмы, лежащие в основе адаптации *L. sibirica* к различным климатическим условиям. Данное исследование дало возможность выявить гены, потенциально участвующие в локальной адаптации. Обнаруженные SNP с выраженной адаптивной изменчивостью после функциональной проверки могут стать перспективными генетическими маркерами для разработки SNP-чипов с целью отслеживания адаптивной генетической изменчивости в популяциях лиственницы, выявления популяций с высоким генетическим потенциалом и осуществления экологического мониторинга. Предложенный подход, объединяющий генетические и дендрофенотипические данные, может лечь в основу научно обоснованного управления природными ресурсами, а также для установления географического происхождения древесины в рамках противодействия незаконным рубкам и обороту посадочного материала.

Полученные результаты могут использоваться для мониторинга и прогноза состояния генофондов древесных растений как основы разнообразных широко распространённых экосистем. Результаты также могут быть введены в практику высшего образования как примеры применения молекулярно-генетических подходов в популяционно-генетическом мониторинге и природоохранной деятельности при обучении

студентов, магистрантов и аспирантов по специальностям «Генетика» и «Экология».

Основные научные результаты опубликованы в журналах, входящих в перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, и/или в приравненных к ним изданиях, индексируемых в базах данных Web of Science и Scopus (4 статьи); а также в 8 тезисах в сборниках научных конференций. Материалы диссертации были представлены на 7 российских и международных конференциях. Личный вклад автора в диссертационную работу не вызывает сомнений.

Степень разработанности темы, цель и задачи.

С увеличением доступности полногеномных данных для организмов с мегагеномами, а также с появлением ddRADseq и других методов полногеномного генотипирования, для видов хвойных растений стали возможны полногеномный поиск ассоциаций (genome-wide association studies, GWAS) с использованием индивидуальных дендрофенотипов и поиск ассоциаций между генотипом и параметрами окружающей среды (Genome-Environment Association, GEA). Чаще всего, для хвойных видов исследования сфокусированы на их засухоустойчивости и холодоустойчивости, а в качестве переменных окружающей среды используется температура, количество осадков, высотность. Генетические механизмы адаптации видов хвойных растений к различным климатическим условиям изучены недостаточно. Диссертант обобщил и систематизировал данные литературных и электронных источников по этим направлениям. Детальный анализ имеющихся результатов по проблеме исследований позволил диссертанту обоснованно поставить цель и сформулировать задачи диссертационного исследования.

Достоверность полученных результатов. Достоверность результатов подтверждается большим числом эмпирического материала. Исследованы 37 выборок, отобранные на обширной части ареала. Получены данные секвенирования для 488 деревьев. Исследование основано на результатах полногеномного анализа ассоциаций (GWAS) генетической изменчивости с изменчивостью важных адаптивных признаков, а также с изменчивостью биоклиматических факторов.

Использованные диссертантом методы высокотехнологичны. Так, высокопроизводительное секвенирование проводили с использованием платформы NovaSeq 6000 Illumina. Отфильтрованные высококачественные прочтения каждого образца выравнивали на геном *L. sibirica* с помощью

программы Bowtie2 v.2.3. Поиск однонуклеотидных полиморфных позиций осуществлялся с использованием ПО Stacks. Обработка полученных данных проведена на высоком методическом уровне с использованием соответствующего современного программного обеспечения (Arlequin v.3.5.2; TASSEL, R stats, BayeScan, CAdapt, BayeScEnv, LFMM, RDA и многих других). Ассоциации генотип-дендрофенотип анализировали с использованием общих линейных моделей (GLM) и смешанных линейных моделей (MLM) в программе TASSEL. Ассоциации генотип-фенотип оценивали также с помощью Байесовской разреженной линейной смешанной модели (BSLMM), реализованной в GEMMA v0.97. Идентификация отобранных SNP-маркеров проводилась с использованием аннотации геномной сборки *L. sibirica* и программы SNPdat.

Полученные данные не противоречат данным других исследователей.

Структура и содержание диссертационной работы.

Диссертация имеет традиционную структуру, изложена на 131 страницах и включает следующие разделы: «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы», «Результаты и обсуждение», «Заключение», «Выводы», «Список литературы», «Приложения». Работа содержит 12 таблиц и 30 рисунков. Список литературы включает 196 литературных источников (из которых 176 на иностранных языках).

Во «Введении» автор обосновывает актуальность темы исследования, важность изучения процессов, происходящих в лесных экосистемах, особое внимание обращает на ценность изучения одного из эдификаторов бореальных лесов Сибири – лиственницы сибирской. Кроме этого, автор описывает современное состояние и степень разработанности темы исследований и применяемых для этого методов, подчеркивает уникальность и преимущества подходов, использованных в данной работе. Далее, Серафима Валерьевна формулирует поставленную цель и реализуемые для ее достижения задачи исследования, в которые входят 4 основных пункта. Во введении автор описывает научную новизну работы, выражающуюся в использовании полногеномного генотипирования методом ddRADseq и демонстрации его пригодности для изучения мегагеномов хвойных, а также в выявленных в ходе исследования новых закономерностях. В этом разделе обозначены теоретическая и практическая значимость исследования. Автор приводит положения, выносимые на защиту, включающие 3 утверждения. В разделе представлена апробация результатов работы на 7-ми международных и всероссийских научных конференциях, приводятся 4 публикации по теме

диссертации в журналах, рекомендованных ВАК РФ, в том числе в журналах, индексируемых в международных базах цитирования.

Автор декларирует свое личное участие и приводит конкретные этапы работы проведенного исследования, выполненные лично или при участии коллег, отмеченных далее в разделе благодарности. Указаны проекты, в рамках которых проведено исследование.

В главе «Обзор литературы» содержится краткая характеристика лиственницы сибирской, включающая сведения о систематическом положении и морфологическом строении и биологических особенностях вида, распространение лиственницы в географическом и экологическом планах, взаимоотношения с другими видами и ее экологическая пластичность. Также кратко описана проблема видовой подразделенности вида, наличия географических рас и экотипов, спорность их систематического положения в литературе. Присутствует описание генетических особенностей хвойных и лиственницы, в частности.

Далее раскрывается тема генетической адаптивности лесных видов в условиях глобального изменения климата, суть и методология ландшафтной геномики, дендрохронологии и дендрогеномики. Подробно описан применяемый метод RADSeq (Restriction site Associated DNA Sequencing).

В главе «Материалы и методы» представлены характеристика исследованных выборок, подробно описана методология и логика сбора образцов. Дается описание климата и биоклиматических переменных районов проведения исследований. Приводятся использованные дендрохронологические данные. Описаны методы выделения ДНК, подготовки ddRADseq библиотек и секвенирования, обработки результатов и генотипирования. Даны методы расчета основных популяционно-генетических параметров; поиска корреляции между генетическими, географическими и экологическими координатами, корреляции между индивидуальной гетерозиготностью и дендрофенотипами, потенциально адаптивных генетических маркеров и ассоциаций между генотипом и дендрофенотипом. Описана методология функциональной аннотации SNP-маркеров. Большим достоинством работы является подробное описание и грамотное использование современных и разнообразных биоинформатических методов и статистических подходов, позволяющих получить достоверные данные и минимизирующих возможные статистические ошибки.

В главе «Результаты и обсуждение» (п/глава 3.1.) приведена методика обработки результатов секвенирования и генотипирования, анализа полученных прочтений и формирования наборов SNP для анализа. В п/главе

3.2. автором приводится анализ генетической структуры популяций *L. sibirica* из различных климатических зон и отдаленных частей ареала с контрастными экологическими условиями. Представлен расчет основных популяционно-генетических статистик, таких как частота наиболее часто встречающегося аллеля (P), доля гетерозиготных особей в данной популяции (H_o), гетерозиготность ожидаемая при равновесии Харди-Вайнберга (H_e), оценка нуклеотидного разнообразия (P_i), коэффициент инбридинга особи относительно субпопуляции (F_{is}), оценка генетической дифференциации популяций и распределения генетического разнообразия: образцы разделены на три группы так, что выборки западной (уральской, WT) трансекты сформировали первую группу, выборки Республики Алтай сформировали вторую, а все остальные – третью, достоверными по результатам статистики Райта. Рассмотрены данные по моделям «изоляция расстоянием (IBD)», истории и адаптации видов с помощью Мантел-теста, анализа главных компонент (PCA), дискриминантного анализа главных компонент (DAPC) и биогеографического анализа происхождения (Admixture), результаты которых подтвердили статистически значимую линейную корреляцию генетического расстояния с географическими и экологическими расстояниями. Однако анализ SNP-маркеров у деревьев, отобранных для дендрохронологических исследований и изучения адаптационных механизмов к засухе, выявил отсутствие четко дифференцированных кластеров. П/глава 3.3. посвящена изучению адаптации лиственницы к условиям высокогорья, методам поиска SNP-маркеров аутлайеров реализованных в трех программах: PCAdapt, Arlequin и Bayescan. Приведятся данные по использованию биоклиматических данных для определения, какие факторы среды оказывают наибольшее влияние на генетическую изменчивость и адаптацию видов. Прослежена взаимосвязь между 11 климатическими переменными и высотой произрастания *L. sibirica* на 24 участках сбора. Проведен поиск ассоциаций между генотипом и окружающей средой (GEA анализ), который показал связь некоторых SNP с высотным градиентом. Всего было выявлено 550 уникальных значимых SNP-аутлайеров, в том числе 49, которые коррелировали с факторами окружающей среды. Проведен биоинформатический анализ SNP-маркеров, полученных в рамках исследования, их локализации и функции содержащих их локусов. Продукты генов, содержащих найденные SNP-маркеры, преимущественно участвуют в ключевых биологических процессах клеточного метаболизма, включая метаболизм макромолекул (белков, углеводов, азотистых оснований), биосинтез органических соединений (ароматических и азотистых веществ, фосфорсодержащих соединений), регуляторные процессы экспрессии генов,

ассоциированные с указанными метаболическими путями. Замечено, что наибольший интерес для последующего изучения представляют 16 несинонимичных однонуклеотидных замен, приводящих к изменениям в кодируемой аминокислотной последовательности, что может в свою очередь повлиять на функционирование соответствующих белковых продуктов. Выявлено также 85 SNP митохондриального происхождения, все из которых локализовались в не кодирующих участках митохондриального генома. Часть этих маркеров потенциально может относиться к регуляторным элементам и нуждается в дополнительном углубленном изучении в рамках специального исследования. Глава 3.4. посвящена адаптации к широтному градиенту климатических условий и подобному поиску SNP-аутлайеров и их связи с биоклиматическими переменными. Всего 196 проассоциированных SNPs были общими для обеих трансеков, было обнаружено 154 SNPs, связанных с изменчивостью одной или нескольких из пяти биоклиматических переменных, проведен биоинформатический анализ полученных SNP-маркеров, их локализации и функции содержащих их локусов. Установлено, что 10 найденных маркеров расположены в межгенном пространстве митохондриального генома. Локализация большинства из обнаруженных адаптивных маркеров в митохондриальном геноме представляет интерес. Найденные маркеры-кандидаты, вероятно, могут находиться в регуляторных областях и влиять на экспрессию данных генов. В п/главе 3.5. описано изучение дендрохронологических переменных, отражающих индивидуальный ответ дерева на условия засухи и результаты полногеномного поиска ассоциаций с использованием индивидуальных дендрофенотипов (GWAS). В результате 359 SNP-маркеров были отмечены как предположительно адаптивные, изучена их локализация в геноме и функции содержащих их локусов. Большинство совпадений было выявлено с мРНК и гипотетическими белками и факторами транскрипции. Показана корреляция между индивидуальной гетерозиготностью и дендрофенотипами, дано заключение о том, что наличие положительной корреляции возможно означает, что различия в засухоустойчивости отдельных деревьев *L. sibirica* связаны с уровнем индивидуальной гетерозиготности, повышение которого улучшает адаптивные возможности организма. Сделаны некоторые заключения о причинах повышения или снижения скорости роста деревьев за последние 30 лет связанные с изменением климата.

В завершение работы дано «Заключение», содержащее элементы обсуждения и обобщение результатов, полученных диссертантом. Итогом работы являются представленные выводы, в которых автор отразил основные заключения, сделанные в результате проведенного исследования.

Список литературы, включает источники, необходимые для обсуждения литературных данных и анализа полученных результатов. Приложение содержит 1 таблицу, содержащую аннотации SNP-маркеров, полученных в рамках исследования адаптации к условиям высокогорья.

Обоснованность и достоверность научных положений, выводов и рекомендаций. Исследование проведено с использованием комплекса различных подходов и методов, соответствующих задачам диссертационной работы. Объектами исследований являлось большое число (37) выборок лиственницы сибирской, расположенных на большой территории. Для достижения цели диссертационного исследования установлена пространственная структура популяций *L. sibirica* с использованием данных полногеномного секвенирования с использованием современного метода генотипирования геномов путём секвенирования ДНК ассоциированной с сайтами рестрикции эндонуклеазами (ddRADseq); выявлены гены-кандидаты, вовлечённые в механизмы адаптации к высоте, температуре, влажности и засухе; установлена корреляция между индивидуальной гетерозиготностью и стабильностью прироста древесины, что может служить показателем приспособленности к стрессовым условиям.

Полученные в диссертации результаты, сформулированные научные положения, сделанные выводы основаны на теоретическом обобщении результатов научной литературы, и сравнении полученных диссертантом данных с результатами, представленными в научных источниках; а также на закономерностях, выявленных в результате собственных научных исследований. Это свидетельствует об обоснованности разработанных и защищаемых 3 научных положений и сделанных выводов.

Значимость результатов для науки и производства

Результаты, полученные в диссертационном исследовании, углубляют понимание механизмов локальной адаптации организмов, обладающих мегагеномами. Результаты раскрывают генетические основы устойчивости доминантного вида бореальных лесов к абиотическим стрессам (градиенты температуры и осадков). Выявленные высокодостоверные SNP-маркеры могут стать основой для разработки SNP-чипов для использования в направляемых маркерами селекционных программах и отслеживания адаптивной генетической изменчивости в питомниках и природных популяциях. Результаты позволяют идентифицировать популяции с высоким адаптивным потенциалом, что является ключевым для создания стратегий сохранения и управления лесными генетическими ресурсами в условиях меняющегося климата.

Автореферат диссертационной работы С.В. Новиковой соответствует основным положениям диссертации и отражает ее содержание.

При изучении диссертационной работы возникли следующие **вопросы**:

1. Не ясно, учитывалась ли копияность изученных генов и других участков генома, и различия в позициях SNP в разных копиях и общем аллельном разнообразии однонуклеотидных замен. Снимается ли данный вопрос использованием метилчувствительных рестриктаз и были ли таковыми использованные в данном исследовании?
2. Расстояния между выборками в Кузнецком Алатау составляли от 30 до 50 км, достаточно ли этого расстояния для оценки генетической подразделенности выборок?
3. В тексте и отсылке на таблицу 2 указано, что использовали 27 дендрофенотопических признаков, а в самой таблице их показано только 10. Не ясно, какие еще признаки были использованы в анализе?
4. Как отбирались для анализа использованные адаптивные дендрофенотипы?
5. Как проведен сбор и обработка образцов древесины? В тексте есть лишь указание на то, что они проводились стандартными методиками дендрохронологии.
6. Как определялись другие фенотипические характеристики, например, длина хвои – по какой методике, в какой период вегетации, с какой части дерева и как учитывалась модификационная изменчивость показателя? Как рассчитывали возраст деревьев?
7. Сколько выборок приходилось на каждую «популяцию», употребляются ли термины «выборка» и «точка сбора образцов» как синонимы? Какие совокупности имеются в виду при употреблении термина «популяции»?

Несмотря на общий высокий научный уровень работы, есть несколько следующих **замечаний**:

1. В диссертационной работе не описаны признаки, подтверждающие принадлежность изученных выборок к одному виду, расе или экотипу. Кроме этого, недостаточно описана проблема видовой подразделенности вида, наличия географических рас и экотипов, спорность их систематического положения в литературе.

2. У большей части таблиц и рисунков недостаточно информативны подписи. Нет расшифровки подписей осей и обозначений. В связи с этим, они не очень хорошо читабельны в отрыве от текста.

3. В п/главе 3.2. приведены полученные данные о генетической структуре и основных популяционно-генетических параметрах, но отсутствует обсуждения этих данных.

Высказанные вопросы и замечания не умаляют значимость проделанной работы и не влияют на обоснованность сделанных выводов.

Закключение

Нужно отметить, что автором проделан большой объем исследовательской и аналитической работы, выборки и их репрезентативность в отношении изучаемого региона достаточны для достижения заявленной цели. Диссертационная работа является законченным научным исследованием, в котором решена конкретная научная задача, а именно изучена генетическая адаптация популяций *L. sibirica* с использованием данных полногеномного секвенирования, биоклиматических и дендрофенотипических характеристик. Большим достоинством работы является подробное описание и грамотное использование современных и разнообразных биоинформатических методов и статистических подходов, позволяющих получить достоверные данные и минимизировать возможные статистические ошибки.

Диссертационная работа Новиковой Серафимы Валерьевны на тему «Изучение генетической адаптации в популяциях лиственницы сибирской (*Larix sibirica* Ledeb.) с использованием данных полногеномного генотипирования», представленная к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7 – Генетика (биологические науки), соответствует этой специальности (п. 20 Популяционная генетика и генетическая структура популяций Паспорта научной специальности 1.5.7 – Генетика (биологические науки)). В работе представлены новые результаты, имеющие значимость для понимания процессов формирования адаптивной генетической структуры популяций важного вида-эдификатора бореальных лесов Сибири и для сохранения биоразнообразия в условиях современных климатических вызовов.

Таким образом, по актуальности проблемы, методическому уровню, объему представленного материала и научной новизне полученных результатов диссертационная работа соответствует требованиям п.п. 9-14 положения «О порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации №842 от 24.09.2013 (с действующими изменениями), предъявляемым к диссертациям, представленным на соискание степени кандидата биологических наук, а ее автор Серафима Валерьевна Новикова несомненно заслуживает присуждения ей искомой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7 – Генетика (биологические науки).

Отзыв подготовлен заведующим кафедрой ботаники и генетики растений Федерального государственного автономного образовательного

учреждения высшего образования «Пермский государственный национальный исследовательский университет», доктором биологических наук, профессором Боронниковой Светланой Витальевной; доцентом кафедры, кандидатом биологических наук Васильевой Юлией Сергеевной; рассмотрен одобрен на заседании кафедры ботаники и генетики растений Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Пермский государственный национальный исследовательский университет (при наличии кворума, присутствовали 14 из 16 преподавателей, «за» проголосовали 14 человек; протокол №2 от 15 октября 2025 года).

Боронникова Светлана Витальевна
доктор биологических наук (специальность 1.5.7 – Генетика),
профессор, заведующий кафедрой ботаники и генетики растений
Федерального государственного автономного
образовательного учреждения высшего
образования «Пермский государственный
национальный исследовательский университет»



Васильева Юлия Сергеевна,
кандидат биологических наук (специальность 1.5.7 – Генетика),
доцент кафедры ботаники и генетики растений
Федерального государственного автономного
образовательного учреждения высшего
образования «Пермский государственный
национальный исследовательский университет»



15 октября 2025 года

Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение высшего
образования «Пермский государственный
национальный исследовательский университет»

614068, г. Пермь, ул. Букирева, 15

Телефон: 8(342) 239-64-35

E-mail: info@psu.ru

Сайт: <http://www.psu.ru/>

