

## ОТЗЫВ

**официального оппонента на диссертационную работу Манахова Андрея Дмитриевича «Геномный анализ представителей семейства куньих (Mustelidae)», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7 – генетика**

В последние годы в связи с бурным развитием технологий секвенирования и анализа геномных данных увеличилось количество исследований, связанных с *de novo* реконструкцией геномов млекопитающих. В то же время, одно из самых крупных семейств отряда хищные – семейство куньих с молекулярно-генетической точки зрения изучено недостаточно, в связи с чем диссертационное исследование Манахова Андрея Дмитриевича представляется чрезвычайно актуальным.

Кандидатская диссертация Манахова А.Д. посвящена исследованию геномов представителей семейства куньих – соболя (*Martes zibellina*) и лесной куницы (*Martes martes*), обитающих в основном на территории России. Эти виды интересны с фундаментальной точки зрения, так как занимают обширную территорию, в пределах которой населяют различные зоогеографические, климатические и экологические зоны. В районах совместного обитания наблюдается межвидовая гибридизация, при этом предполагается плодовитость гибридов F<sub>1</sub>. Как многие куньи, соболь и куница имеют стадию эмбриональной диапаузы в ходе эмбрионального развития, получение геномных данных может открыть новые перспективы для исследования этого явления.

Работа имеет и прикладное значение, так как соболь и куница являются ценными видами пушных зверей, разведение которых происходит на фермах, также добыча осуществляется в природных условиях. В последние годы в фермерских популяциях возникают новые формы окрасок, которые отсутствуют в природных популяциях. Получение геномных данных может быть полезным для выявления механизмов наследования экономически ценных характеристик меха, в том числе окрасок, и при разведении в пушном звероводстве. Так как новые окраски, регистрируемые в фермерских популяциях соболя, демонстрируют фенотипический параллелизм с ранее полученными формами окраски меха у американской норки (*Neovision vision*), для которой классическими, но не молекулярно-генетическими методами генетического анализа описано более 30 мутация рецессивной и доминантой природы, автор обосновано включил этот вид в список исследуемых.



Целью диссертационной работы является изучение геномов представителей семейства куньих: соболя и лесной куницы, геномный анализ соболей, лесных куниц и их предполагаемых гибридов кидусов из природных популяций России, а также исследование генетические основ различных форм окраски соболя и американской норки.

Работа состоит из введения, трех глав, в каждой из которых описывается отдельный этап исследования – получение *de novo* сборок геномов, анализ геномов особей из разных популяций и анализ геномов особей с различной окраской меха, выводов, списка литературы и приложений. Основные главы разделены на секции: обзор литературы, описание материалов и методов, результаты и их обсуждение. Работа изложена на 148 страницах машинописного текста, из них 24 страницы составляют приложения, включает в себя 23 рисунка и 19 таблиц. Список цитируемых литературных источников включает 211 наименований, из которых 188 – на английском языке.

Во **введении** диссертант обосновывает актуальность проведенного исследования, определяет цели и задачи исследования, научную новизну и практическое значение работы.

**Глава 1** посвящена получению *de novo* сборок геномов соболя и лесной куницы. В разделе **“Обзор литературы”** описывается текущее состояние геномики представителей семейства куньих, лишь для 13 из 70 видов имеются геномные данные. Приводится биологическая характеристика исследуемых видов. В разделе **“Материалы и методы”** описаны экспериментальные и биоинформатические подходы, использованные для реконструкции геномов исследуемых видов. В работе использованы современные молекулярно-генетические методы исследования – секвенирование второго и третьего поколений на платформах Illumina и Oxford Nanopore Technologies. В разделе **“Результаты и обсуждения”** охарактеризованы полученные *de novo* сборки геномов и аннотации генов соболя и лесной куницы, проведено сравнение с геномами других представителей семейства, проведен филогенетический анализ и расчет времени дивергенции с другими представителями семейства куньих.

**Глава 2** посвящена геномному анализу соболя, лесной куницы и их гибридов из 15 популяций России. В разделе **“Обзор литературы”** описывается проблема изучения межвидовой гибридизации соболя и лесной куницы. Рассмотрены все основные работы по изучению, с помощью молекулярно-генетических методов, вопроса межвидовой гибридизации соболя и лесной куницы. Раздел **“Материалы и методы”** содержит описание экспериментальных подходов и этапов биоинформатического анализа данных. Обработка данных проводилась с использованием нескольких современных и адекватных



статистических подходов и программ для анализа генетической структуры популяции по данным геномного секвенирования, подтверждающих и дополняющих друг друга (BEAST v1.10.4, PLINK v1.9, RAxML v8.2.12, ADMIXTURE v1.3). В разделе **“Результаты и обсуждения”** представлены результаты геномного анализа особей из разных популяций, в том числе предполагаемых гибридов. Следует отметить большой объем анализируемой выборки. Впервые данные полногеномного секвенирования были получены для 42 соболей, 16 лесных куниц и 10 кидусов из 15 природных популяций России и 1 фермерской популяции. Анализ полученных геномных данных был проведен:

1. По маркерам мтДНК. Полученные результаты подтверждают немногочисленные, ранее полученные данные. Обнаружено по 3 соболя и куницы, для которых наблюдается несоответствие между видовой принадлежностью, определенной по фенотипическим и молекулярным признакам.
2. По впервые отобраным специфичным для соболя и куницы маркерам Y-хромосомы. Показано, что по Y-хромосоме, в отличие от мтДНК, наблюдается полное соответствие между видовой принадлежностью, определенной по фенотипическим и молекулярным признакам. Все исследованные предположительно гибридные особи самцы имели Y-хромосому соболиного типа.
3. По полным геномам особи, определенные как гибридные, демонстрируют всю степень перехода долей специфичных для куницы и соболя аллелей: 1 особь с 97% частотой специфичных для куницы вариантов, 6 особей с частотой специфичных для куницы вариантов от 1% до 5% и 3 особи с промежуточными, но отличными от ожидаемых для гибридов F<sub>1</sub> значениями: 15%, 20% и 33%.

Таким образом, Манаховам А.Д. впервые по результатам всестороннего анализа геномов подтвержден факт гибридизации соболя и лесной куницы в природных условиях, а также выявлены признаки, подтверждающие возможность таких гибридов давать плодовитое потомство.

Кроме того, показана генетическая близость куниц, происходящих из северной части европейской территории России. Для соболя, основываясь на данных полногеномного анализа, предложено разделение на 3 группы: “Камчатская”, “Уральская” и “Итурупская”. Соболя западной и центральной Сибири, Байкала и Алтая имеют в геноме как компоненты “Камчатской”, так и “Уральской” групп в соотношении, близком к 1:1.



**Глава 3** посвящена исследованию молекулярно-генетических факторов, обуславливающих формирование различной окраски меха у американской норки и соболя. В разделе **“Обзор литературы”** проведен обзор современного состояния проблемы генетики окраски у американской норки и соболя, а также их фенотипического параллелизма. Автором предложен подход по использованию коллекции линий американской норки с различной окраской меха (более 30 окрасок) в качестве модельного объекта для разработки алгоритма по идентификации в данных полногеномного секвенирования генов и мутаций, обуславливающих различные формы окраски у этих видов. Раздел **“Материалы и методы”** содержит подробное описание экспериментальных подходов и этапов биоинформатического анализа данных. В разделе **“Результаты и обсуждения”** показано, что впервые осуществлено секвенирование и сравнительный анализ 13 геномов американских норок из линий, характеризующихся 7 типами окраски волосяного покрова. Показано, что *серебристо-голубая* окраска меха у норки обусловлена мутацией в сайте сплайсинга гена *MLPH*; *белая Хедлунд* окраска меха у норки обусловлена мутацией в сайте сплайсинга гена *MITF*; окраска *мойл* обусловлена двумя аллельными мутациями – делецией и инсерцией в кодирующей области гена *RAB38*; окраски *шедоу* и *черных хрусталь* – однонуклеотидными, несинонимичными заменами в генах *KIT* и *SOPA* соответственно. Секвенирование и сравнительный анализ геномов соболей с окраской меха *пастель* с соболями дикого типа из природных популяций показали, что развитие окраски *пастель* у соболя обусловлено однонуклеотидной инсерцией в кодирующей области гена *TYRP1*.

Рассматривая работу в целом, можно заключить, что полученные в диссертационном исследовании Манахова А.Д. результаты вносят важный вклад в геномику в целом и генетику куньих в частности, обладают фундаментальной и практической значимостью. Полученные автором результаты могут быть использованы в научно-образовательном процессе, при разработке курсов для студентов биологических специальностей. Кроме того, на их основе могут быть разработаны тест-системы, которые, найдут широкое применение в пушном звероводстве. Выводы диссертации согласуются с полученными в ней результатами, отвечают сформулированной цели и задачам исследования. Результаты получены на большом экспериментальном материале, обработка которого проводилась с использованием современных биоинформатических и статистических методов, которые достаточны для решения поставленных задач.

Содержание автореферата полностью соответствует основным положениям диссертации.

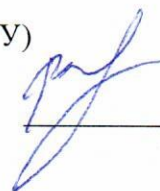


Результаты работы опубликованы в виде 3 статей в высокорейтинговых журналах из перечня рецензируемых научных изданий ВАК РФ, и включенных в мировые базы данных научного цитирования (Web of Science, Scopus), представлены в виде докладов на 5 конференциях, в том числе и международных, получен 1 патент.

**Заключение.** Таким образом, диссертация Манахова Андрея Дмитриевича «Геномный анализ представителей семейства куньих (Mustelidae)» является законченной научно-квалификационной работой, в которой решена актуальная научная проблема, имеющая важное фундаментальное значение. По актуальности, достоверности и новизне исследования и полученных результатов, значимости выводов для науки и практики диссертация имеет и отвечает требованиям пп.9-11 и 13-14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением правительства Российской Федерации №842 от 24.09.2013 г. (в редакции постановления Правительства РФ №335 от 21 апреля 2016 г. «О внесении изменений в Положение о присуждении ученых степеней» и постановлений Правительства РФ № 10 24 от 28 августа 2017 г., №1168 от 1 октября 2018 г. и №426 от 20 марта 2021 г.), а ее автор Манахов Андрей Дмитриевич, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7 – генетика.

Директор научно-исследовательского института нейронаук  
Федерального государственного автономного  
образовательного учреждения высшего образования  
«Национальный исследовательский Нижегородский  
государственный университет им. Н.И. Лобачевского» (ННГУ)

профессор, доктор биологических наук



В.С. Тарабыкин

Адрес организации: 603050, Нижний Новгород, пр. Гагарина, д. 23, к. 7  
Телефон: 8 (831) 462-3766  
e-mail: [info@neuro.nnov.ru](mailto:info@neuro.nnov.ru)

Подпись Тарабыкина В.С. заверяю



*У. Сидорова*  
26.04.2022.

