

## ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу

**Сидоровой Туяны Валерьевны**

«МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЭВОЛЮЦИИ  
БАЙКАЛЬСКИХ СИГОВЫХ РЫБ»,

представленную на соискание учёной степени кандидата биологических наук по  
специальности 1.5.7 – генетика

Работа посвящена изучению формирования внутривидового генетического полиморфизма и межвидовой дивергенции байкальских сиговых рыб – представителей одной из самых интересных в экологическом и эволюционном аспекте группы рыб, населяющих водоемы Арктики и Субарктики. **Актуальность** темы несомненна, поскольку комплексное использование современных молекулярных методов позволяет не только проводить инвентаризацию биоразнообразия внутри и за пределами ареалов обитания изучаемой группы видов, но и анализировать микроэволюционные процессы, обусловленные локальными адаптациями и макроэволюционными событиями. Длительный период непрерывного существования озера Байкал на фоне изменяющейся геологической обстановки обеспечивает преимущества для подобного рода исследований, позволяя обсуждать выявленные закономерности в преломлении к эволюции сиговых рыб в целом.

### **Степень обоснованности, научная новизна и достоверность результатов.**

Степень обоснованности и достоверность полученных автором результатов обеспечена использованием современных методов с применением необходимых статистических оценок. Автором впервые на основе полиморфизма мтДНК сиговых оз. Байкал и прилежащих бассейнов осуществлены филогеографические реконструкции как в контексте происхождения группы «истинных» сигов, так и эволюции рода *Coregonus* в целом. Совмещение результатов молекулярно-филогенетических реконструкций и популяционно-генетического анализа позволило сформировать единую гипотезу происхождения и внутризозерной радиации трех байкальских видов сиговых рыб. Анализ дифференциальной экспрессии генов и особенностей формирования микробиомов кишечника в симпатрической паре байкальских эндемиков омуль/озерный сиг дополнил полученную картину.

**Общая характеристика работы.** Диссертационная работа имеет традиционную структуру и изложена на 217 страницах. Основной текст состоит из введения, четырех глав, заключения, выводов, списка цитируемой литературы (265 источников, из них 187 на иностранных языках) и приложений. Работа содержит 11 таблиц и 13 рисунков.

Во Введении автор подчеркивает актуальность исследования, описывает степень разработанности темы, формулирует цель и задачи, научную новизну работы, теоретическую и практическую значимость, положения, выносимые на защиту, степень обоснованности и достоверности полученных данных, декларирует свое личное участие. Представлены публикации и апробация результатов на научных конференциях, конгрессах и совещаниях.

**В Главе 1** представлены общие сведения о сиговых видах рыб из оз. Байкал – омуля, озерного и озерно-речного сига – с кратким описанием их морфо-экологических особенностей, популяционной структуры, таксономического статуса с акцентом на противоречивость таксономии сиговых рыб. Автор детально останавливается на сравнительных исследованиях транскриптомов сиговых рыб, обсуждая процессы сетчатой эволюции, симпатрического видообразования. Здесь же обсуждается возможное место байкальской симпатрической пары в наблюдаемых закономерностях. В разделе, посвященном исследованиям микробиомов кишечника, обсуждаются сложные взаимодействия между хозяином, микробиотой и окружающей средой и их связь с процессами локальной адаптации симпатрических форм сиговых рыб.

В целом литературный обзор информативен, позволяет оценить актуальность выбранной темы и состояние исследований в данной области.

**Глава 2 - Материалы и методы исследования.** При анализе данных автор использовал несколько разных подходов. Глава состоит из нескольких разделов и подразделов. Каждый раздел содержит информацию об используемом в работе материале, методах выделения и амплификации фрагментов ДНК, подготовке библиотек (в случае NGS анализа), статистической обработки результатов, о методологии анализа кишечного микробиома молекулярно-генетическими методами. Описаны условия содержания исследуемых объектов, отбора образцов, инструменты для биоинформатического и статистического анализов. Полевые, лабораторные и статистические методы исследования соответствуют задачам и воспроизводимы.

**В Главе 3** изложены результаты собственных генетических исследований байкальских сиговых рыб. Приведены результаты филогеографического анализа «истинных» сига, обитающих в бассейне оз. Байкал и европейской части России. Взаимоотношения между близкими гаплотипами и закономерности дивергенции крупных таксонов рода *Coregonus* визуализированы с помощью филогенетических схем и сетей гаплотипов. Популяционно-генетический анализ девяти популяций трех видов байкальских сиговых рыб (омуля, озерного и озерно-речного сига) на основе пяти микросателлитных локусов выявил уровень их полиморфизма и генетической дифференциации. Отмечен факт однонаправленности потока генов из географически обособленной популяции омуля оз. Кулинда в оз. Байкал. Представлены результаты анализа транскрипционных профилей тканей мозга пелагической (омуль) и бентосной (озерный сиг) форм, полученных с помощью высокопроизводительного секвенирования РНК (RNAseq).

**В Главе 4** обсуждаются результаты исследования, направленные на изучение эволюции байкальских сиговых рыб. Показано преимущество включения в анализ основных представителей рода *Coregonus*, обитающих в Палеарктике и соседних с оз. Байкал бассейнах, что позволило вычленить два этапа в эволюции рода. Прослежена эволюционная история сиговых рыб оз. Байкал и отмечены особенности внутриозерной дивергенции, проанализированы причины молодости байкальских аборигенов – омуля и озерного сига. Автор подчеркивает согласованность результатов популяционно-генетического и филогеографического анализов, что указывает на аллопатрическую

изоляция байкальского озерно-речного сига за пределами озера и недавнюю симпатрическую дивергенцию омуля, озерного сига и их популяций, произошедшую после Сартанского оледенения. Косвенно подтверждена гипотеза о предшествующей Сартанскому оледенению многократной гибридизации пелагической и бентосной форм в периоды похолоданий с последующей внутриозерной дивергенцией при наступлении очередного климатического оптимума. Как справедливо рассуждает автор, постоянная гибридизация и молодость ныне существующих байкальских эндемиков (симпатрической пары омуль/озерный сиг) не способствовала накоплению существенных различий на уровне нуклеотидных последовательностей. Приспособление к экологическим нишам, вероятнее всего, обусловлено появлением различий в экспрессии важных для адаптации генов. Приведены характеристики основных дифференциально экспрессированных генов с уклоном в их функциональную активность и значимость. Автор предполагает, что отличия в составе микробиомов кишечника этой же симпатрической пары и ее гибридов, выявленные в условиях эксперимента (что является решающим фактором в данном анализе), также могут быть интерпретированы в контексте адаптаций к занимаемым нишам. Автор делает вывод о взаимообусловленности между различиями в транскрипционных профилях, составе микробиомов и экологическими особенностями видов и сравнивает собственные результаты с таковыми, полученными для симпатрических пар сигов из водоемов Европы и Северной Америки.

Работа завершается **Заключением** и **Выводами**, в которых автор суммирует полученные данные.

**Несмотря на высокую научную значимость работы, к некоторым разделам диссертации имеются замечания.**

В разделе 2.1 (Филогеографический анализ) используемый материал описан в слишком сжатой форме – в виде сводной таблицы 1 (стр. 15) с указанием таксономических и традиционных названий рыб и названий водоемов, но без уточнения координат конкретных локальностей и дат сбора. Не хватает информации о том, каким образом собирался этот материал. Вместе с тем, таблица вполне позволяет представить логику формирования анализируемого блока данных.

Отдельный вопрос к результатам филогеографического анализа. По сути, заявленный анализ в представленной работе отсутствует, поскольку он предполагает изучение принципов и процессов, которые определяют ГЕОГРАФИЧЕСКОЕ распределение разных генеалогических линий. Возникает ощущение, что автор не совсем понимает, в чем заключается смысл филогеографических реконструкций и подменяет филогеографический анализ филогенетическим анализом и простым указанием мест обитания сиговых рыб, включенных в анализ.

Из описания раздела 2.2. (Микросателлитный анализ) можно заметить, что некоторые анализируемые выборки невелики, использовалось небольшое число микросателлитных локусов и задействованы трудоемкие методы их визуализации, которые в последнее время заменены фрагментным анализом с помощью автоматических

секвенаторов. При этом очевидно, что проделана большая работа – проанализирован комплекс из 9-ти популяций всех трех видов байкальских сиговых, статистическая обработка данных проведена тщательно и, как можно увидеть далее из описания результатов, анализ позволил получить вполне достаточное количество информативного материала.

В разделе 2.3 (Сравнительный анализ транскриптомов мозга методом NGS) автор не обосновал выбор типа ткани для анализа, выбор набора ортологов Actinopterygian для оценки полноты полученных сборок транскриптомов и инструмента EdgeR для статистического анализа и идентификацию дифференциальных транскриптов. Также не указано, какой уровень дисперсии был выбран при статистическом анализе инструментом EdgeR и не обоснованы критерии выбора.

Автор корректно описывает методологию проведения анализа кишечного микробиома современными молекулярно-генетическими методами, однако в описании результатов допускает некоторую вольность в использовании терминологии, уже сложившейся на настоящий момент в этих направлениях исследований. Так, метагеномное секвенирование предполагает использование shotgun секвенирования для анализа образцов. Корректное название анализа, проведенного автором и описанного в методах – это метасеквенирование ампликонов/ампликоновых библиотек. Также автор допускает некорректное описание уровней таксономии бактерий по тексту раздела 3.4. и в таблице 10. По тексту идет описание классов, а в самой таблице представлен уровень бактериальных фил. Аналогичное замечание на стр. 78. Следует отметить, что в 2021 году была проведена ревизия названий крупных бактериальных таксонов (см. Oren A, Garrity GM. Valid publication of the names of forty-two phyla of prokaryotes. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2021 Oct;71(10). doi: 10.1099/ijsem.0.005056). Автору следовало бы использовать современную бактериальную таксономию.

Особое внимание автора хотелось бы обратить на формулировку **Выводов**. На мой взгляд, они больше напоминают простую констатацию фактов, а не выводы как таковые.

Кроме того, в тексте работы отмечаются терминологические неточности, небольшое количество опечаток, некоторые незначительные несоответствия между текстом и иллюстративным материалом.


Сделанные замечания не снижают общей научно-практической ценности работы. В целом диссертация в методическом и теоретическом плане соответствует мировому уровню подобных исследований. Диссертационная работа, посвященная исследованию эволюции байкальских сиговых рыб, вносит существенный вклад в решение ряда фундаментальных проблем эволюционной экологии и филогенетики рыб. Результаты работы найдут применение при подготовке и повышении квалификации студентов, аспирантов и специалистов в области биологии и экологии в системе Минобрнауки.

В целом можно отметить, что автором проделан значительный объем исследовательской работы, выборки биоматериала в целом репрезентативны и достаточны

для достижения заявленной цели. Содержание работы достаточно полно отражено в опубликованных статьях и автореферате. По теме диссертации автором опубликовано 11 печатных работ в отечественных и зарубежных изданиях, в том числе три работы в рецензируемых журналах из списка ВАК, включая три статьи в зарубежных журналах и одну в переводимом на английский язык журнале «Генетика», реферируемом Web of Science (как Russian Journal of Genetics). Результаты представлены и апробированы на целом ряде научных конференциях и симпозиумах, в том числе авторитетных всероссийских и международных.

**Общее заключение.** Представленная Сидоровой Туяной Валерьевной диссертационная работа является завершённым фундаментальным оригинальным научным исследованием, в ходе которого автором успешно достигнута цель и решены поставленные задачи. Защищаемое диссертационное исследование «МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЭВОЛЮЦИИ БАЙКАЛЬСКИХ СИГОВЫХ РЫБ» полностью соответствует основным квалификационным критериям (пункты 9–14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842, в редакции от 11 сентября 2021 года), а ее автор Сидорова Туяна Валерьевна заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7 – генетика.

Старший научный сотрудник тематической группы физиологии и генетики гидробионтов Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт систематики и экологии животных Сибирского отделения Российской академии наук, доктор биологических наук

 Елена Ивановна Зуйкова

630091, г. Новосибирск, ул. Фрунзе, д. 11  
ФГБУН ИСиЭЖ СО РАН  
тел. (раб.) 383 217 09 73  
e-mail: zuykova@ngs.ru

24 мая 2023 г.

Подпись Зуйковой Е. И.  
заверяю.

*Анонимная рецензия*  
*Вурнаева Л. В.*  
*24.05.2023*

