

## УТВЕРЖДАЮ

Врио директора Федерального государственного  
бюджетного учреждения науки  
Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова  
Российской академии наук, д.б.н.



Столповский Юрий Анатольевич

« 17 » мая 2023 г.

## ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

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

Диссертационная работа Т. В. Сидоровой посвящена вопросам изучения эволюции одной из ключевых групп сиговых рыб – обитателей бассейна оз. Байкал и его бассейна. Профиль этой комплексной по методологии и содержанию диссертации соответствует специальности «генетика», что видно в первую очередь из поставленной цели изучить эволюционную историю группы видов и решаемых задач исследования: анализ филогении, филогеографии, популяционной структуры, дифференциальной экспрессии (влияние эпигенетики на эволюцию) и микробиома пары видов с контрастной экологией.

Актуальность темы несомненна в фундаментальном плане, поскольку исследование позволит расширить существующие представления об эволюции и таксономии не только сигов Байкала, но и рода *Coregonus* в целом. Уникальность исследования базируется на комплексном подходе, включающем анализ изменчивости структурных ядерных и митохондриальных генов,

транскрипционных профилей и ассоциации состава микробиомов с экотипами рыб.

Значительное число сиквенсов митохондриальных фрагментов и генотипы по микросателлитным локусам получены впервые. Впервые подробно изучена филогения и филогеография сигов Байкала с привлечением аутгрупп, выдвинуты или проверены ранее высказанные различными авторами гипотезы о происхождении видов и внутривидовых форм. Впервые проведен подробный сравнительный анализ уровня экспрессии генов в мозге байкальских омуля и озёрного сига, впервые получены оценки состава микробиома этих же экологически контрастных форм. Всё это обуславливает новизну работы, а использование в ней репрезентативного материала по сигам Байкала, сопредельным регионам и роду в целом, предложенные автором реконструкции эволюционных сценариев эволюции таксонов и внутривидовых линий сигов являются приоритетными.

Диссертационная работа построена по традиционному плану, содержит Введение, Главу 1 — Обзор литературы, Главу 2 — Материалы и методы, Главу 3 — Результаты, Главу 4 — Обсуждение, Выводы, Список литературы и Приложения. Общее число страниц диссертации 217, из которых 108 составляет основной текст, остальное – список литературы из 265 источников (из них 78 на русском и 187 иностранных языках) и Приложения. Работа содержит 11 таблиц и 13 рисунков, размещённых в основном тексте. Три таблицы Приложений (I – III) представляют собой первичные данные по Главам 1 — показатели генетического полиморфизма популяций по микросателлитам и 2 — результаты анализа генной экспрессии.

Во Введении автор подчеркивает актуальность исследования, которая не вызывает сомнений в свете активно проводимых в мире исследований сиговых - сложной в таксономическом отношении группы, ставшей уже давно модельной для анализа связи морфоэкологической и молекулярной эволюции. Сложные процессы видообразования в плейстоцене и голоцене привели к формированию

видовых комплексов, статус и время дивергенции которых можно оценить только прибегая к молекулярным методам и методам эпигенетики. Оценивая степень разработанности темы, автор подчёркивает, что несмотря на 200-летнюю историю исследования байкальских сиговых, в том числе с применением генетических подходов, проблема далека от окончательного разрешения. Вследствие того, что регион Байкала является системой с протяжённой и сложной геологической историей, всё это отразилось на эволюции сиговых рыб, привело к перемежающейся изоляции и вторичной интерградации между популяциями частей гидрографической сети. Байкал как древний и самый крупный в мире пресноводный водоём справедливо рассматривается как «горячая точка» видообразования, что также подчёркивает в актуальность и теоретическую значимость работы Т.В. Сидоровой. Однако из-за масштаба и уникальности изучаемых эволюционных процессов значение этих исследований имеет не только региональный, но и общебиологический фундаментальный характер. Не менее важно и отмечаемое автором интенсивное вовлечение байкальских сиговых в аквакультуру, что позволит учитывать полученные результаты для совершенствования технологий искусственного воспроизводства и охраны генофондов изученных видов.

Таким образом, автор достаточно чётко формулирует и обосновывает поставленные цель и задачи, описывает научную новизну работы, её теоретическую и научно-практическую значимость. Приводятся положения, выносимые на защиту. Автор декларирует степень своего личного участия в различных аспектах работы, которую следует оценить как высокую. Далее перечислены конференции, где представлены результаты работы, нужно отметить, что апробация проводилась на видных отечественных и международных научных форумах, включая MolPhy-2 в Москве (2010), два Международных симпозиума по сиговым рыбам (2014 и 2017 гг.) и Симпозиум Fisheries Society of the British Isles (2017). Приводится статистика опубликованных работ по теме диссертации (три статьи в рецензируемых журналах, индексируемых в базе Web of Science (список ВАК) и 8 публикаций в

материалах научных конференций, одна из которых является полноценной статьёй в рецензируемом периодическом издании Adv. Limnology). Завершают Введение Благодарности.

Глава 1. Литературный обзор в целом весьма информативен. Начинается он изложением общих сведений (1.1) о сиговых рыбах Байкала, данные о которых сведены в табл. 1. Раздел 1.2 обобщает имеющиеся в литературе сведения популяционной структуре объектов исследования. В разделе 1.3 приводятся результаты опубликованных работ по таксономии и филогении сиговых в целом и комплекса «истинных» сигов. Подчёркивается роль плейстоценовых оледенений, последующих миграций, процессов вторичного расселения и гибридизации в эволюции сиговых рыб. Раздел 1.4 посвящён подробному изложению результатов исследования сигов мира методами транскриптомики. Автор находит параллели в морфогенетической дивергенции байкальских омуля и озёрного сига с ранее изученными парами видов из других водоёмов, что подчёркивает актуальность сравнения паттернов их экспрессии для идентификации генов, вовлечённых в адаптивную радиацию. В разделе 1.5 обобщены опубликованные результаты исследований микробиомов сиговых рыб. Автор подчёркивает, что симбионты оказывают значительное влияние на виды-хозяева, однако исследование их возможной роли в процессе видообразования последних пока находится в зачаточном состоянии.

Глава 2 посвящена описанию использованного Материала и Методов исследований. Число исследованных молекулярно-генетическими методами образцов (табл. 2, 3, рис. 1) в целом достаточно для решения поставленных задач. Для микросателлитного анализа отобрано 244 особи из 9 популяций. Использованные ткани, методы фиксации и выделения ДНК описаны в этом же разделе (2.1) достаточно подробно для их воспроизведения.

Что касается собственно молекулярных методов, использован анализ одного фрагмент мтДНК (для реконструкции филогении и филогеографии сиговых в целом с акцентом на изучаемый регион) и пяти ядерных микросателлитных локусов (для анализа популяционной структуры байкальских видов). В целом подход, сочетающий последовательности митохондриальных и

ядерных фрагментов ДНК, следует признать удачным и соответствующим цели и основным задачам работы.

Раздел 2.1.3 посвящён описанию методов анализа полученных сиквенсов, получения оценок генетического разнообразия, выбора моделей эволюции, построения медианных сетей гаплотипов и филогенетических деревьев. Все методы описаны достаточно подробно с приведением необходимых ссылок на литературные источники и использованное программное обеспечение. В разделе 2.2.7 так же подробно приводятся статистические методы микросателлитного анализа.

В разделе 2.3 описаны методы сравнительного анализа транскриптомов мозга с применением NGS. Все эти методы, включая биоинформационную часть, следует признать современными и адекватными задачам работы.

Раздел 2.4 посвящён подробному описанию сравнительного анализа микробиомов байкальских озерного сига и омуля. Исследования выполнены на высоком уровне и имеют высокий уровень приоритета.

В Главе 3 приведены результаты собственных исследований. Раздел 3.1 посвящён исследованиям изменчивости митохондриальной ДНК. Секвенирование гена цитохрома *b* дало последовательности для 22 таксонов сиговых, представленных 48 различными гаплотипами. В целом результаты оказались сходными с ранее описанными схемами для сиговых по другим фрагментам мтДНК. Первым отделяется валёк, затем в процессе дивергенции на уровне примерно 3 млн лет очевидна политомия между основными линиями сигов *Coregonus* (тугун, настоящие омули, настоящие ряпушки + пелядь, линией белорыбицы/нельмы, родовой статус которых в очередной раз не подтвердился. В то же время в кластере, относящемся к второй стадии дивергенции (чуть более 1 млн лет), подтвердилось своеобразие не только чира и байкальской клады, но и амурских сигов, ветви баунтовской ряпушки и байкальского озёрно-речного сига (и конспецифичность ему енисейского горбоносого сига (сига Исаченко). Группировка большинства образцов муксуна вместе с пыжьянами ледовитоморского бассейна и сигами Европы также находит множество подтверждений в данных других авторов. Вызывает лишь вопрос объединение на

кладограмме муксуна Енисея и енисейского речного сига, что, на наш взгляд, может объясняться неверной идентификацией этого образца муксуна. По короткому фрагменту получено древо сходной топологии с включение североамериканского вида – сельдевидного сига.

Микросателлитный анализ (3.2) показал несколько более высокое внутривидовое аллельное и генное разнообразие омуля по сравнению с сигами. анализ попарных значений  $F_{ST}$  выявил достоверные различия между всеми выборками байкальских сиговых, кроме некоторых попарных сравнений между популяциями озёрного сига. Анализ в программе Structure выявил выраженные отличия от других озёрно-речного сига и изолированной кулиндинской популяции омуля. Все выборки номинативных видов кластеризовались соответственно видовым диагнозам (Рис. 7).

В разделе 3.3 приведены результаты сравнительного анализа экспрессии генов байкальских омуля и озёрного сига. Достоверные различия касались небольшой доли проанализированных транскриптов, однако разница была очевидна: у сига более активны гены, ассоциированные с ростом, развитием, органами чувств и памятью, а у омуля – с иммунитетом, регуляцией и репродукцией.

Раздел 3.4 посвящён описанию сравнительного анализа микробиомов байкальских сигов и омуля, а также их гибридов.

В Главе 4 обсуждаются полученные данные. Автор подчёркивает, что полученные с помощью анализа мтДНК филогенетические и филогеографические данные позволяют рассматривать байкальский регион и в целом Среднюю и Восточную Сибирь не только в качестве горячей точки видообразования сиговых, но и как один из важнейших центров происхождения их основных линий и ключевых видовых комплексов благодаря плейстоценовым рефугиумам и локализации на миграционных путях. Микросателлитный анализ и сравнение его результатов с разнообразными литературными данными подкрепил точку зрения о недавнем симпатрическом происхождении байкальских омуля и озёрного сига. Различия в образе жизни этих форм (которые можно рассматривать не только как виды, но и как экотипы) коррелируют с

особенностями экспрессии генов и их уровень находит параллели в описанных для симпатрических пар и «букетов» сигов с контрастной экологией из других регионов мира. В целом описанные различия транскриптомов можно охарактеризовать как имеющие адаптивное значение и лежащих в основе видообразования как приспособления к имеющимся экологическим нишам. Анализ микробиомов кишечника озёрных сигов и омулей Байкала и их гибридов показал, что различия касаются в основном аллохтонной микрофлоры и минорных фракций и ассоциированы с особенностями поведения и питания видов/экотипов. Автор широко цитирует имеющую отношение к рассматриваемым вопросам мировую литературу и демонстрирует умение её анализировать в контексте собственных результатов.

Несмотря на общий высокий научный уровень работы, можно сделать некоторые замечания.

В обзоре литературы отсутствует раздел, посвящённый физико-географической характеристике региона исследований.

С. 17, раздел 1.2.1 – Сообщение о различиях размеров нерестовых мигрантов в разных популяциях омуля содержит только лимиты (max и min значения), но не средние и их стандартные ошибки, из чего невозможно сделать заключение о значимом наличии или отсутствии подобных различий. К тому же не приведена ссылка на источник информации и не указано, насколько эти данные отражают современную или историческую ситуацию (ведь омуль заметно измельчал в последние десятилетия).

С. 21, стр.5 – «устные сообщения» – если нет публикаций, то, как минимум, следует привести авторов «устных сообщений».

С. 21, раздел 1.3 – «от зарубежной точки зрения» – едва ли есть какая-то единая зарубежная точка зрения на статус сиговых. Зарубежные учёные высказывались и о статусе семейства (см. напр. <http://joerg-freyhof.de/redlists-and-checklists/checklists/checklist-of-european-freshwater-fishes/372-family-coregonidae> и подсемейства (fishbase.org)).

С. 21, стр.2 снизу – «*C. lavaretus*» – по современной классификации (fishbase.org) это вид из оз. Ле Бурже во Франции, так что для остальных сигов этой группы нужно как минимум указывать *C. lavaretus complex* или *sensu lato* (s. l.).

С. 23, 1 абзац. – рассматриваются работы с применением мтДНК и микросателлитов. на самом деле первые работы, которые внесли существенный вклад в систематику сиговых, использовали аллозимный анализ, с помощью этого методы многие вопросы филогении и филогеографии были уже в значительной степени решены до применения собственно ДНК-технологий (см., напр., Ferguson et al., 1978).

С. 37 – раздел 2.1.1. В таблице с материалом для секвенирования не описаны время (хотя бы год) сбора, более точное место, чем водоём и способ добычи. Приведены не все авторы первоописаний видов или внутривидовых форм, некоторые из приведённых даны с ошибками в использовании скобок. Пример: *Coregonus muksun* Pallas, 1814 – правильно *Coregonus muksun* (Pallas, 1814).

С. 39. В этой же табл. 2 одним из мест сбора муксуна указано Ладожское озеро далеко за пределами ареала (можно догадаться, что материал предоставило рыбководческое хозяйство в Ленинградской обл.

Кроме того, в таблице для сиквенсов не указано, какие из них получены в ходе выполнения данной работы. а какие взяты из более ранних исследований.

С. 55 – «метод складного ножа» (jackknife). Если действительно применялся этот метод ресэмплинга, то чем обусловлен в данном случае его приоритет перед более современным бутстрэппингом?

В целом по ключевым результатам. Следовало бы осторожнее относиться к заключению о производном от енисейского горбоносого сига (сига Исаченко) положении байкальского озёрно-речного сига и проникновению его в бассейн Байкала с формированием ангарского стока. Подкрепляющих это данных немного, и этот вывод можно скорее рассматривать в качестве одной из гипотез. Что касается подтверждения со стороны области распространения этой клады, то ситуацию можно представить и в обратном виде – с возникновением



ангарского стока появившийся изначально в байкальском бассейне *C. fluviatilis* проник в Енисей и распространился в его среднем течении. Ведь ни в верхнем течении (Тоджа), ни в нижнем (ниже Н. Тунгуски) этот вид не отмечен. О конспецифичности же этих форм, их тесной морфогенетической общности написано уже немало (Baldina et al., 2007; Бочкарёв и др., 2017), и её следует безоговорочно признать и обозначать данные таксоны как конспецифические.

### **Терминология.**

Список сокращений: «фиксирующий индекс» – правильно индекс фиксации межпопуляционный индекс фиксации или коэффициент инбридинга.

Нобс и Нехр (как в списке сокращений), или Но и Не (Материалы и методы) – это сокращения для выходных данных компьютерных программ, в оригинальных статьях это *Н<sub>о</sub>* и *Н<sub>е</sub>*, и именно это стандартные (как в работах М. Nei и других классиков) сокращённые обозначения для данных показателей, с курсивом в основном регистре и заглавными буквами в нижнем регистре.

С. 20 стр. 3 – «бычков» – коттиды (сем. Cottidae, или Подкаменщиковые) в зоологическом смысле никак не являются бычками (Gobiidae), и не следует в научной литературе использовать это некорректное тривиальное название таксона.

С. 30. стр. 5 снизу – «расходящихся аллелей» – что под этим определением имеется в виду, просто разных, сегрегирующих?

С. 31. стр. 2, 7 и далее по тексту – «сбалансированный отбор»! – что это? В генетике популяций есть понятие балансирующий отбор (balancing selection) – это когда гетерозиготы имеет адаптивное преимущество перед обеими гомозиготами. «Сбалансированный» отбор такого понятия просто нет.

С. 39 Табл. 2 – «*Coregonus clupeaformis* – Озёрный сиг». Очевидный буквальный перевод английского «Lake whitefish». Этот вид по-русски называется сельдевидным сигом, и в других частях диссертации именно это тривиальное название употребляется.

Там же – \* – «ареал обитания» – правильно просто «ареал».

С. 40. \*\* – «подвидовое обозначение *l.*» – в данном случае не под-, а просто видовое, второе слово биномиального названия.

Там же. \*\*\* – «дивергенция... составляет около 1,6 млн. лет» — это *время* дивергенции.

С. 40. Раздел 2.1.2 5 стр. – «D-петлю» – у рыб контрольный регион мтДНК не имеет вида петли и его так не следует называть.

С. 46. стр. 6 снизу – «критерий  $F_{ST}$ »– это не критерий (в статистике – правило, обосновывающее принятие или отклонение одной из гипотез с определённой вероятностью), а межпопуляционный *индекс* фиксации или *коэффициент* инбридинга. Кроме того, в этом месте следовало бы дать ссылку не только на Уира и Кокерхэма (в Arlequin действительно расчёты проводятся по их формулам), но и на Сьюэлла Г. Райта (Wright, 1922, 1950, 1951, 1965, 1978), который саму систему индексов фиксации и *F*-статистик предложил.

### **Стиль.**

С. 33. 2 абз. – «оз. Байкал является ещё одним уникальным местом...» – слово «уникальный» не подразумевает множественности.

### **Орфография и опечатки:**

С. 19 стр. 9 снизу – «песчаных» – правильно «песчаных».

С. 19 стр. 6 снизу- «антианальное» расстояние – правильно «антеанальное» – от конца рострума до начала анального плавника.

С. 19 посл. стр. – «они питается» – несогласованность грамматического числа.

С. 37 Табл. 2 – «оз. Капылючи» – видимо, имеется в виду оз. Капылюши (Ципи-Ципиканская система озёр).

С. 38 Табл. 2, а также с. 60 стр. 4 снизу – «Печера» – очевидно, имеется в виду р. Печора.

С. 40\*\* – «таксоны... таксоны» – повтор слова.

С. 42 – «пелагобиота» – очевидно, пелагобионта?

С. 51- «Малый Чивуркуй» – очевидно Чивыркуй.

С. 59 Рис. 3 – На древе «chadari» – правильно chadary.

Высказанные отдельные замечания не имеют принципиального характера и не влияют на общую высокую оценку работы.

Работа хорошо структурирована, изложена лаконично, что позволило описать полученные результаты и тщательно обсудить их. Научный стиль текста в целом заслуживает высокой оценки. Оформлена работа тщательно, рисунки и таблицы наглядны и информативны. Редки орфографические, синтаксические и пунктуационные ошибки.

Рассматриваемая диссертационная работа представляет собой существенный вклад в **решение ряда фундаментальных проблем** популяционной генетики, геномики и эпигеномики, ихтиологии, эволюционной биологии, филогенетики и зоогеографии. При этом **практическая значимость** работы также несомненна. Материалы диссертации могут быть использованы при идентификации таксонов сиговых рыб и их гибридов, инвентаризации биоразнообразия в байкальском регионе и соседних с ним, организации изучения и охраны популяций сигов и других гидробионтов. Результаты работы, несомненно, найдут применение при подготовке и повышении квалификации студентов, аспирантов и специалистов в области биологии в системе Минобрнауки.

В целом, нужно отметить, что автором проделан большой объем исследовательской и аналитической работы, выборки и их репрезентативность в отношении изучаемого региона достаточны для достижения заявленной цели. Применение избранных методов обоснованно, все выводы основаны на анализе данных и их обсуждении, что не позволяет сомневаться в достоверности полученных автором результатов. Содержание работы достаточно полно отражено в опубликованных статьях и автореферате. По теме диссертации автором опубликованы три печатные работы в ведущих отечественных (Генетика – Q4) и зарубежных (BioMed Res Intl и Fund Appl Limn) изданиях, из списка, рекомендованного ВАК и реферируемых Web of Science и Scopus. Опубликована также полноценная статья в Adv. Limn. и семь тезисов конференций, большая часть из которых авторитетные международные.

Таким образом, представленная Туяной Валерьевной Сидоровой диссертационная работа «Молекулярно-генетическое исследование эволюции байкальских сиговых рыб» является завершённым фундаментальным оригинальным научным исследованием, соответствует основным квалификационным критериям (пункты 9-14 «Положения о порядке присуждения учёных степеней», утвержденного Правительством РФ Постановления №842 от 24 сентября 2013 г. в редакции 2021 года), а ее автор Сидорова Т.В. **заслуживает** присуждения учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7 - генетика.

Отзыв подготовлен главным научным сотрудником, заведующим лабораторией популяционной генетики им. Ю.П. Алтухова Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, д. б. н. Политовым Д.В., обсуждён и утверждён на научном семинаре лаборатории популяционной генетики им. Ю.П. Алтухова 03 мая 2023 г., протокол №2.

Главный научный сотрудник, заведующий лабораторией популяционной генетики Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, доктор биологических наук, 119991, Москва, ГСП-1, ул. Губкина, 3, тел. +7(499)135-5067, Email: dmitri\_p@inbox.ru, dmitri.p17@gmail.com, Вебсайт <http://www.vigg.ru/>


 Политов Дмитрий Владиславович  
10 мая 2023 г.

Подпись Д.В. Политова заверяю:

Учёный секретарь Федерального государственного бюджетного учреждения науки Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН,  
доктор биологических наук,

10 мая 2023 г.



 Горячева Ирина Игоревна