

УТВЕРЖДАЮ



ВРИО Директора Федерального государственного
бюджетного учреждения науки Институт
общей генетики им. Н.И. Вавилова
Российской Академии наук (ИОГен РАН)
д.б.н. Столповский Юрий Анатольевич
15 июня 2023 г.

ОТЗЫВ

ведущей организации Федерального государственного бюджетного учреждения науки
Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова
Российской академии наук (ИОГен РАН) на диссертационную работу
Ягодиной Виктории Дмитриевны «Пространственная и временная изменчивость
ядерной и митохондриальной ДНК дальневосточного трепанга *Apostichopus japonicus*
залива Петра Великого (Японское море)», представленную на соискание ученой степени
кандидата биологических наук по специальности 1.5.7. Генетика

Голотурия *Apostichopus japonicus* (трепанг) - один из наиболее важных промысловых видов беспозвоночных в странах Северо-Восточной Азии. Уловы дикого дальневосточного трепанга за последние годы значительно сократились на всем ареале вследствие его чрезмерного вылова и антропогенного загрязнения. Поэтому **актуальность темы** диссертационной работы Ягодиной В.Д. не вызывает сомнения в связи с необходимостью проведения исследований в области популяционной генетики дальневосточного трепанга, так как понимание генетической изменчивости и структуры популяции имеет основополагающее значение для управления ресурсами аквакультуры и для разработки стратегии сохранения вида.

На Дальнем Востоке России научные работы посвящены изучению биологии *A. japonicus*, его образа жизни, процессов, связанных со снижением численности, а также выращиванию дальневосточного трепанга в искусственных условиях. Исследований по выявлению популяционной структуры и оценке генетического разнообразия *A. japonicus* на Дальнем Востоке России не проводилось.

Цель представленного диссертационного исследования - оценка генетической изменчивости и выяснение вероятной популяционно-генетической структуры *Apostichopus japonicus* в заливе Петра Великого Японского моря.

Для достижения указанной цели были поставлены следующие задачи:

1. Проанализировать изменчивость мтДНК в выборках *A. japonicus* в заливе Петра Великого Японского моря и оценить уровень различий между ними.
2. Установить наиболее вероятные факторы, влияющие на изменчивость мтДНК и структуру гаплотипической сети.
3. Оценить уровень гетерогенности исследуемых выборок *A. japonicus* на основе изменчивости десяти микросателлитных локусов ядерной ДНК.
4. Провести коррекцию данных о десяти микросателлитных локусах ядерной ДНК исследуемых выборок *A. japonicus* с учетом нулевых аллелей.
5. Предложить вероятные факторы, влияющие на распределение генетической изменчивости десяти микросателлитных локусов ядерной ДНК *A. japonicus* в исследуемом ареале.
6. Сравнить результаты применения двух типов независимо наследуемых молекулярных маркеров при изучении популяционно-генетической структуры *A. japonicus*.
7. Выявить особенности генетической изменчивости *A. japonicus* в исследуемом ареале, которые могут быть обусловлены негативным антропогенным воздействием.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Изменчивость мтДНК *A. japonicus* структурирована генеалогически, что объясняется разбросом в репродуктивном успехе.
2. Статистически значимые различия между выборками *A. japonicus* по микросателлитным локусам ядерной ДНК выявляют различия практически между всеми выборками, несмотря на коррекцию результатов по нулевым аллелям.
3. Тестирование микросателлитных локусов ядерной ДНК выявило прохождение «горлышка бутылки» генеральной совокупностью особей *Apostichopus japonicus* в заливе Петра Великого Японского моря, что подтверждается низкой изменчивостью мтДНК.

Научная новизна исследований и результатов, представленных в диссертационной работе. Соискателем впервые проведено изучение популяционно-генетической структуры дальневосточного трепанга на протяженном участке его ареала на Дальнем Востоке России. Получены данные по двум молекулярным маркерам: микросателлитным локусам ядерной ДНК и митохондриальной ДНК, результатов по которой для *Apostichopus japonicus* в литературе немного. Сравнение большого числа

показателей генетической изменчивости и дифференциации при выявлении нулевых аллелей в некоторых микросателлитных локусах показывает необходимость учета нуль-аллелей в экспериментальных работах. Дополнительные сопоставления настроек в программах на основе Байесовской кластеризации являются уникальными при изучении голотурий, в частности, при анализе эмпирических данных для дальневосточного трепанга.

Теоретическая и практическая значимость. Работа имеет важное теоретическое и практическое значение, так как связана с изучением важного объекта аквакультуры (*Apostichopus japonicus*), который подвергается высокой антропогенной нагрузке на всей протяженности его ареала. Выполненное исследование дополнило и подтвердило имеющиеся сведения о генетической изменчивости дальневосточного трепанга. Полученные результаты и сформулированные выводы работы позволяют использовать их для дальнейшего изучения *A. japonicus* не только в заливе Петра Великого, но и других местах его обитания с целью выявления комплексных факторов, влияющих на популяционно-генетическую структуру вида.

Обоснованность и достоверность полученных данных. В диссертационной работе использованы современные методические подходы, связанные с изучением генетической изменчивости и популяционно-генетической структуры. Применение различных статистических подходов для микросателлитных локусов яДНК и мтДНК подтверждает надежность результатов исследования. Сформулированные в работе выводы отвечают поставленным задачам.

Материалы диссертации апробированы на российских и международных конференциях, основные научные результаты опубликованы в рецензируемых научных периодических изданиях, в том числе имеется три статьи в журналах из перечня ВАК, которые входят в международные базы цитирования Scopus и Web of Science Core Collection. Личный вклад автора в диссертационную работу не вызывает сомнений.

Структура и содержание диссертации. Текст диссертационной работы выстроен по традиционному плану, изложен на 162 страницах, состоит из списка сокращений, введения, обзора литературы, материалов и методов, результатов, обсуждения, заключения, выводов, списка литературы (341 наименование) и шести приложений (10 стр.).

Во **введении** дано обоснование актуальности работы. Приведены сведения об имеющихся в литературе исследованиях по генетическому разнообразию и популяционной структуре промысловых голотурий на основе анализа последовательности фрагмента гена субъединицы 1 цитохром-с-оксидазы митохондриальной ДНК (COI

мтДНК), а также с помощью микросателлитных маркеров и однонуклеотидных полиморфизмов. Ставятся цель и задачи исследования, указываются основные методы проведенного исследования, применяемые в диссертации. Отражен личный вклад автора.

Глава «Обзор литературы» логично структурирована. Даны подробные сведения о применяемых в исследовании молекулярных маркерах (митохондриальной ДНК и микросателлитных локусах ядерной ДНК), указаны их достоинства и недостатки, применение в различных областях биологии. Отдельно представлен раздел об объекте исследования, приведены необходимые при написании работы сведения о биологии вида, состоянии популяций в различных частях ареала, а также информация об исследованиях *A. japonicus* молекулярно-генетическими методами.

Главы **«Материалы и методы»** и **«Приложение»** достаточно полно отражают все этапы выполнения работы. В разных локальностях зал. Петра Великого было исследовано пять выборок. Всего было изучено 159 особей дальневосточного трепанга по микросателлитным локусам яДНК и 117 особей по фрагменту гена COI мтДНК. Подробно изложены протоколы экспериментов и методические подходы. Автор развернуто описывает статистические подходы, применяемые в диссертационном исследовании и необходимые для оценки достоверности полученных результатов.

Глава **«Результаты»** составляет значительную часть диссертационной работы. Здесь приведен анализ изменчивости мтДНК и изучение генетической изменчивости и дифференциации по микросателлитным локусам яДНК в выборках дальневосточного трепанга. Результаты анализа изменчивости фрагмента гена COI мтДНК свидетельствуют о низком генетическом разнообразии *A. japonicus* в исследуемом ареале. Среди потенциально существенных причин снижения генетического разнообразия можно рассматривать высокую антропогенную нагрузку - развитая городская береговая линия и незаконный промысел. Кластеризация гаплотипов мтДНК на основе стандартных генетических дистанций позволила выделить две дифференцированные генеалогические группировки, не связанные с географической локализацией выборок. Среди возможных причин можно назвать несколько следующих. Во-первых, различия в истории расселения, генетическом составе новых особей и отборе в период плавающей личинки после оседания — все это факторы, которые могут вызывать генетическую неоднородность. Во-вторых, наличие в прошлой истории вида двух популяций с ограниченным генетическим обменом. В-третьих, на гаплотипическую структуру могли повлиять большие различия в репродуктивном успехе (Hedgecock, 1982). Об этом свидетельствуют неглубокие генеалогии и низкие уровни молекулярно-генетического разнообразия (Hedgecock, Pudovkin, 2011), характерные для *A. japonicus* в исследуемой акватории.

В исследовании генетической изменчивости и дифференциации по микросателлитным локусам яДНК были выявлены нулевые аллели в нескольких локусах и отдельных выборках и в двух подглавах проведено сравнение полученных значений соответственно без корректировки на нулевые аллели и с корректировкой. Все полученные данные подробно проиллюстрированы рисунками и показателями статистического анализа.

Статистические тесты для микросателлитных локусов выявили прохождение генеральной совокупностью особей *A. japonicus* «горлышка бутылки» в недавнем прошлом, что согласуется с показателями низкой изменчивости по данным мтДНК.

В главе «Обсуждение» достаточно подробно и обстоятельно проанализированы полученные результаты, указаны различные факторы, определяющие генетическую изменчивость и популяционно-генетическую структуру данного вида. В частности, выявленный по всем микросателлитным локусам дефицит гетерозигот может быть вызван следующими причинами: (1) большим разбросом в репродуктивном успехе; (2) инбридингом, возможно, обусловленным антропогенными факторами, так как незаконный (браконьерский) лов дальневосточного трепанга существенно сказался на естественных популяциях.

Обсуждается и вопрос методического характера - влияние нулевых аллелей на анализ генетической изменчивости и дифференциации по микросателлитным локусам яДНК.

В завершение работы дано **заключение**, которое обобщает результаты, полученные соискателем. **Выводы** логично сформулированы, соответствуют положениям, выносимым на защиту, отвечают поставленным цели и задачам.

Автореферат написан в соответствии с требованиями ВАК и соответствует содержанию диссертации.

Основной недостаток представленной диссертационной работы - слишком малый материал по временной изменчивости генетических характеристик (всего две выборки из одной локальности Pos, собранные в 2015 и 2018 годы) и отсутствие анализа самой темы "временной изменчивости" и ее упоминания в выводах, несмотря на включение ее в название работы.

Стоит отметить неудачную формулировку п. 2 среди основных положений, выносимых на защиту: "Статистически значимые различия между выборками *A. japonicus* по микросателлитным локусам ядерной ДНК выявляют различия практически между всеми выборками, несмотря на коррекцию результатов по нулевым аллелям".

В нескольких случаях имеется несоответствие между обозначениями в таблицах и содержанием. Например, в табл.4 в автореферате указано "Сравнение оценок генетического разнообразия пяти выборок...", а приведены данные только для четырёх выборок. Необходимо проверить подзаголовок в таблице Приложения I. Очевидно, что диссертанту стоит посоветовать более внимательно выверить текст и таблицы.

Несмотря на отмеченные недостатки, в целом диссертационная работа Ягодиной Викторией Дмитриевны заслуживает положительной оценки.

Итак, диссертационная работа «Пространственная и временная изменчивость ядерной и митохондриальной ДНК дальневосточного трепанга *Apostichopus japonicus* залива Петра Великого (Японское море)», 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, Ягодина Виктория Дмитриевна, заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7. Генетика.

Отзыв подготовлен заведующим лабораторией популяционной генетики им. Ю.П. Алтухова ИОГен РАН, д.б.н., главным научным сотрудником Политовым Дмитрием Владиславовичем и ведущим научным сотрудником лаборатории популяционной генетики им. Ю.П. Алтухова ИОГен РАН Салменковой Еленой Александровной, обсужден и утвержден на научном семинаре лаборатории популяционной генетики им. Ю.П. Алтухова ИОГен РАН 05.06.2023, протокол № 04/2023.

Политов Дмитрий Владиславович,
доктор биологических наук,
заведующий лабораторией популяционной
генетики им. Ю.П. Алтухова Института
общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН
119991, ГСП-1, Москва, ул. Губкина, д. 3

/Д.В. Политов/

Салменкова Елена Александровна,
кандидат биологических наук, ведущий
научный сотрудник лаборатории популяционной
генетики им. Ю.П. Алтухова Института
общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН
119991, ГСП-1, Москва, ул. Губкина, д. 3

/Е.А. Салменкова/

Подписи Политова Д.В. и Салменковой Е.А. направляю
Вед. специалист отдела кадров Института
общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН
Чистова Юлия Петровна
15.06 2023

