

## ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию Коваленковой Марии Владимировны “Анализ эволюции богатых видами групп байкальских беспозвоночных на основании последовательностей интронов генов  $\alpha$ - и  $\beta$ -субъединиц АТФ-синтазы”, представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – “генетика”.

### **Актуальность избранной темы.**

Изучение эндемичных “букетов видов” древних озер имеет особое значение для целого ряда направлений современной биологии, в том числе и для исследования генетических и экологических аспектов эволюции и видообразования. Следует отметить, что эволюционные процессы, приведшие к образованию разнообразных “букетов видов” на столь ограниченных территориях, остаются пока явно недостаточно изученными. Для озера Байкал подобные исследования имеют также и большое практическое значение в контексте мониторинга состояния окружающей среды и рационального природопользования. Диссертационная работа Марии Владимировны Коваленковой “Анализ эволюции богатых видами групп байкальских беспозвоночных на основании последовательностей интронов генов  $\alpha$ - и  $\beta$ -субъединиц АТФ-синтазы” посвящена изучению возможностей применения интронов в качестве генетических маркеров при исследовании трех групп байкальских беспозвоночных. Актуальность данной темы, в первую очередь, обусловлена нехваткой достаточно изменчивых генетических маркеров для “молодых” представителей байкальской фауны. Поэтому важное практическое значение подобного исследования определяется возможностью использования нуклеотидных последовательностей интронов при проведении таксономической ревизии некоторых групп гидробионтов. Целью работы М.В. Коваленковой стало исследование особенностей эволюции нуклеотидных последовательностей интронов генов  $\alpha$ - и  $\beta$ -субъединиц АТФ-синтазы избранных модельных групп, а также оценка их пригодности для филогенетического анализа богатых видами групп байкальских беспозвоночных.

**Научная новизна исследования, полученных результатов и выводов, сформулированных в диссертации.** К наиболее важным научным результатам исследования, характеризующим его новизну, могут быть отнесены:

1. Впервые на примере избранных модельных групп байкальских беспозвоночных как на межвидовом, так и на внутривидовом уровнях охарактеризована изменчивость последовательностей интронов генов  $\alpha$ - и  $\beta$ -субъединиц АТФ-синтазы.

2. Показано, что разрешающая способность филогенетического анализа на основании интронных маркеров зависит от возраста и эволюционной истории анализируемых групп: для эволюционно более молодых групп

(байкальских полихет и моллюсков) затруднено использование последовательностей интронов для видовой идентификации.

3. Впервые получены подтверждения интрогрессии у гастропод сестринских видов рода *Pseudobaikalia* и у подвидов *Korotnewia semenkewitschi*.

4. В единственном интроне гена  $\beta$ -субъединицы АТФ-синтазы байкалийн обнаружена последовательность ретротранспозона, родственного семейству транспозонов MESC, широко распространенному у двустворчатых и брюхоногих моллюсков.

**Значимость для науки и практики полученных автором результатов.** Результаты диссертационной работы расширяют представления о механизмах эволюции “букетов видов” байкальских беспозвоночных. В частности, показано, что межвидовая интрогрессия оказала существенное влияние на формировании видового разнообразия эндемичных байкальских моллюсков подсем. Baicaliinae. Полученные автором новые данные могут быть использованы также как для проведения таксономической ревизии моллюсков подсемейства Baicaliinae и амфипод надсем. Gammaroidea, так и для моделирования микроэволюционных процессов гибридизации и интрогрессии. Нуклеотидные последовательности обнаруженного мобильного элемента могут быть использованы для поиска сходных структур в геномах моллюсков из других групп и для изучения эволюции SINE-элементов. Полученные автором результаты вошли в учебное пособие для бакалавров и магистров “Актуальные проблемы современной генетики: биоинформационные методы анализа биоразнообразия”, которое может быть использовано в учебных программах университетов РФ.

**Степень обоснованности научных положений и выводов, сформулированных в диссертации.**

Представленная диссертация изложена на 137 страницах машинописного текста и состоит из введения, трех глав, заключения, выводов, списка цитируемой литературы, содержащего 190 источников и приложения. Работа проиллюстрирована 42 рисунками и 9 таблицами.

**Обзор литературы** хорошо и разносторонне описывает контекст, в котором выполнено исследование М.В. Коваленковой. Описаны особенности формирования фаун древних озер, подчеркнута их значение как уникальных объектов эволюционных исследований. Здесь также представлен краткий обзор основных направлений и методов изучения микроэволюционных процессов. Достаточно подробно рассмотрены примеры использования интронов ядерных генов в качестве маркеров эволюции, гипотезы формирования видового разнообразия рассматриваемых групп байкальских беспозвоночных и особенности симпатрического видообразования.

**Глава “Материалы и Методы”** содержит подробное описание методов, использованных для получения и анализа данных, достаточное для воспроизведения результатов. Однако, следует заметить, что в этой главе (как

и в диссертации в целом) приведена лишь методика измерения тринадцати морфометрических признаков раковин моллюсков. В то же время, отсутствует описание конкретных использованных методов многомерной (геометрической) морфометрии. Хотя морфометрическая часть работы и является явно второстепенной в общем контексте диссертации, все же следовало привести хотя бы краткое описание этих методов со ссылками на использованные программы. Все методы анализа, применявшиеся в работе, достаточно современны и адекватны поставленным задачам. В целом, можно сказать, что работа хорошо продумана в методическом отношении и выполнена на высоком уровне.

**Глава “Результаты и обсуждение”** состоит из 10 разделов. В первых двух из них представлены результаты анализа нуклеотидных последовательностей интрона гена  $\beta$ -субъединицы АТФ-синтазы амфипод. Показано, что межвидовые генетические дистанции между нуклеотидными последовательностями интрона гена  $\beta$ -субъединицы АТФ-синтазы и фрагментами митохондриального генома (CO1 и LSU rRNA) амфипод сем. Acanthogammaridae, Eulimnogammaridae и Pallaseidae коррелируют и позволяют получить сходные топологии филогенетических древ. Кроме того, установлено, что интрон гена  $\beta$ -субъединицы АТФ-синтазы является информативным маркером для изучения внутривидового разнообразия на примере *Gmelinoides fasciatus*. Показано, что генетическая структура этого вида в Байкале согласуется с установленной ранее на основании изучения последовательностей митохондриального гена.

Семь последующих разделов посвящены результатам анализа нуклеотидных последовательностей интронов генов  $\alpha$ - и  $\beta$ -субъединиц АТФ-синтазы байкальских гастропод подсем. Baicaliinae. Полученные результаты позволили предположить, что эволюция интрона гена  $\beta$ -субъединицы АТФ-синтазы может быть не нейтральна, из-за наличия в нем мобильного элемента (см. Замечание 2). Установлено сходство нуклеотидных последовательностей диспергированного повтора и транспозонов семейства MESC, широко распространенного у моллюсков. Показано, что интрон гена  $\alpha$ -субъединицы АТФ-синтазы является информативным филогенетическим маркером байкальских моллюсков, что позволило на основании генетических и морфологических исследований описать новый вид гастропод, установить случаи межвидовой интрогрессии у сестринских видов гастропод подсем. Baicaliinae и изучить внутривидовую изменчивость одного из видов. Объединение нуклеотидных последовательностей митохондриального и интронного маркеров с морфологическими и экологическими характеристиками видов позволило получить полностью разрешенную филогению моллюсков подсем. Baicaliinae. Сделанные в этой части выводы очень интересны, но, по моему мнению, могут быть не полны (см. Замечания 3,5).

В заключительном разделе данной главы описаны результаты анализа нуклеотидных последовательностей интрона гена  $\alpha$ -субъединицы АТФ-синтазы трех видов байкальских полихет рода *Manayunkia*. Полученное на

основании интронных последовательностей древо сильно отличается от топологии установленной ранее на основании последовательностей митохондриального маркера. На митохондриальном древе два из трех видов формируют монофилетичные группы гаплотипов. Все интронные последовательности на филогенетическом древе формируют только две группы: в первую входят *M. godlewskii* и *M. zenkewitschii*; во вторую – представители всех трех байкальских видов. На основании этого высказано достаточно логичное предположение, что данное несоответствие является следствием сохранения предкового полиморфизма некоторых ядерных генов. В заключении диссертационной работы кратко обобщены основные результаты исследования. По результатам работы сформулированы обоснованные выводы.

### **Замечания по диссертационной работе**

1. В литературном обзоре использован термин “очищающий отбор” (стр. 24), что является прямым переводом английского “purifying selection”, в русскоязычной литературе должен быть заменен на “стабилизирующий отбор”.
2. Отсутствует проверка нейтральности эволюции интронных последовательностей байкальских гастропод и полихет.
3. Никак не обсуждается отличие топологии, полученной для гастропод с использованием интрона гена  $\beta$ -субъединицы АТФ-синтазы от древ, полученных на основании последовательностей другого интрона и CO1.
4. Описанный автором в 2016 г. новый вид *Pseudobaikalia michelae* постоянно приводится в диссертации как “sp. n.” (= species nova). Следует отметить, что подобным образом новый вид обозначается только в его первоописании (т.е. в публикации, где впервые приведено это название). Во всех последующих работах (включая диссертационные) подобное обозначение неуместно.
5. Вывод 4 (стр. 105) не совсем корректен, поскольку полностью дихотомическое дерево моллюсков подсем. *Baicaliinae* получено на основе объединения в рамках единого анализа не только генетических и морфологических, но и экологических характеристик отдельных видов (стр. 84-85). В этой ситуации вряд ли стоит подчеркивать, что полученное древо “объясняет экологическую специализацию видов” (что было заложено в анализ, то и получили “на выходе”?).
6. В тексте встречаются явно неудачные словосочетания и фразы: “быстрых ядерных маркеров” (вместо “быстро эволюционирующих ядерных маркеров”, стр. 7), “микробопопуляционных процессов” (вместо “микроеволюционных процессов”, стр. 15), “видообразование, связанное с ..., принято называть парапатрией” (хотя “парапатрия” обозначает лишь определенный тип распространения видов, стр. 12).

В целом, все сделанные замечания носят дискуссионный или редакционный характер, и никоим образом не могут повлиять на общую высокую оценку диссертационной работы Коваленковой М.В.

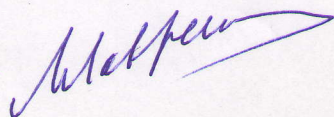
**Заключение о соответствии диссертации критериям, установленным Положением о порядке присуждения ученых степеней.**

Можно заключить, что обсуждаемая диссертация вносит важный вклад в сравнительное изучение эволюционных историй эндемичных “букетов видов” древних озер. Она является самостоятельным законченным научным исследованием, выполненным на высоком научном уровне. Полученные автором результаты достоверны, выводы и заключения обоснованы. По работе сделаны ясные выводы, соответствующие поставленным задачам. Автореферат полностью соответствует основному содержанию диссертации. Основные положения диссертации опубликованы в 13 работах, из которых 3 – статьи в изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией при Министерстве образования и науки Российской Федерации. Результаты работы докладывались на 6 российских и международных конференциях. Таким образом, работа Марии Владимировны Коваленковой “Анализ эволюции богатых видами групп байкальских беспозвоночных на основании последовательностей интронов генов  $\alpha$ - и  $\beta$ -субъединиц АТФ-синтазы”, представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук, является законченным самостоятельным исследованием, которое по актуальности, объему и новизне, а также по степени опубликованности основных результатов отвечает требованиям п. 9 “Положения о порядке присуждения ученых степеней ВАК РФ”, утвержденным Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 г., а её автор, безусловно, заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – “генетика”.

**Официальный оппонент:**

доктор биологических наук,  
заведующий лабораторией микроэволюции млекопитающих  
ФГБУН Института проблем экологии и эволюции  
им. А.Н. Северцова Российской академии наук,

18 января 2019 г.



Лавренченко Леонид Александрович

Адрес: 119071, г. Москва, Ленинский проспект, д. 33, ИПЭЭ РАН  
Тел.: 8 (499) 135-98-65, электронная почта: llavrenchenko@gmail.com

Подпись заведующего лабораторией д.б.н. Лавренченко Л.А. ЗАВЕРЯЮ.  
Ученый Секретарь ФГБУН Института проблем экологии и эволюции  
им. А.Н. Северцова Российской академии наук,  
доктор биологических наук Феоктистова Н.Ю.

