

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу

Томаровского Андрея Александровича

«ПОСЛЕДСТВИЯ МЕЖВИДОВОЙ ГИБРИДИЗАЦИИ И ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЕ
ОТНОШЕНИЯ В РОДЕ *MARTES* (СЕМ. MUSTELIDAE)»,

представленную на соискание учёной степени кандидата биологических наук

по специальности 1.5.7 — генетика (биологические науки)

в диссертационный совет 24.1.239.01 (Д 003.011.01)

при ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр

Институт цитологии и генетики Сибирского отделения РАН»

Актуальность исследования.

Семейство куньих (Mustelidae) является одним из наиболее богатых видами и родами семейств хищных млекопитающих. Представители этого семейства обладают рядом специфических адаптаций к условиям окружающей среде и распространённых практически по всему миру. Несмотря на ряд интересных биологических особенностей и промышленную ценность куньих, это семейство до сих пор остаётся недостаточно изученными с точки зрения генетики, популяционной геномики и эволюционной биологии. Для ряда видов полногеномные данные отсутствуют или крайне бедны. Как следствия, филогенетические связи в семействе куньих, несмотря на несколько ревизий, остаются не до конца прояснёнными. Особый интерес представляет род *Martes*, в систематике которого до настоящего времени сохраняется ряд нерешенных вопросов. В частности, до сих пор остается дискуссионным систематическое положение харзы (*M. flavigula*), которая занимает базальное положение в филогении и отличается от других представителей рода *Martes* по фенотипическим и морфологическим признакам. В этой связи высказывались предположения о необходимости выделения харзы в отдельный род и о подразделении на несколько самостоятельных видов, однако отсутствие полногеномных данных не позволяло окончательно разрешить эту проблему. Наконец, следует отметить, что популяционная история ряда видов куньих, например, соболя, который находится под сильным влиянием человеческой деятельности. Несмотря на значительные усилия по реинтродукции этого вида на территории, на которых он ранее был выбит, и расширение его ареала, остаётся неизвестным уровень генетического разнообразия этого вида. Получение полногеномных данных и точная оценка гетерозиготности может привести к пересмотру статуса соболя в Красной Книге МСОП. Отдельный интерес в этом отношении вызывает факт гибридизации

на территории Северного Урала и Западной Сибири между лесной куницей и соболем. Хотя практическая возможность гибридизации была подтверждена в исследованиях середины XX века, существование гибридов — кидасов — в естественной среде удалось подтвердить молекулярно-генетическими методами относительно недавно. При этом, в значительной мере остаётся неизвестным ни интенсивность процесса гибридизации, ни его направление.

Структура диссертации.

Диссертационная работа Томаровского А. А. изложена на 254 страницах и имеет следующую структуру: состоит из введения, обзора литературы, данных и методов, результатов, их обсуждения, заключения, выводов, списка литературы, содержит 39 рисунков, 12 таблиц и 38 приложений. Материал изложен последовательно и четко, воспринимается легко. Список литературы включает 476 ссылок. Во введении описана актуальность проблемы, сформулированы цель и задачи, научная новизна и практическая ценность работы. Перечислены положения, выносимые на защиту, апробация работы, личный вклад соискателя, публикации по теме работы, благодарности.

Глава «Обзор литературы» делится на две больших смысловых части. Первая часть посвящена применению технологий секвенирования для целей природоохранной и эволюционной биологии. Акцент поставлен на описании используемых биоинформатических методов исследования генома, генетического разнообразия и популяционной истории, и достигнутых с помощью этого результатов. Вторая смысловая часть посвящена проблемам филогении и генетического разнообразия видов рода *Martes*. Значительное внимание уделено вопросам гибридизации в роде *Martes* и популяционной структуре отдельных видов.

В главе «Материалы и методы» детально описаны все источники используемых в работе данных. Для образцов, взятых из природных популяций приведена карта с указанием мест отбора. Подробно описаны методики сборки и аннотации ядерных и митохондриальных геномов и подход к фильтрации гаплотипов. Детально описаны методы анализа гетерозиготности и выявления интрогрессии, на основе которых проводилась классификация предположительно гибридных особей. Тщательно указаны биоинформатические инструменты, используемые автором для филогеномного анализа и анализа популяционной истории. Стоит отметить, что автор не ограничивался простым приведением списка программ и параметров, но кратко описывал мотивацию к их использованию.

Раздел «Результаты» можно разделить на четыре основных части. В первой была проведена сборка геномов, их аннотация и анализ синтении. С помощью данных Hi-C и программ 3D-DNA и Juicebox были получены первые геномы хромосомного уровня сборки

для каменной куницы и соболя. Программой BUSCO была подтверждено высокое качество и полнота полученных сборок. С использованием данных РНК-секвенирования проведена аннотация полученных геномных сборок исследуемых видов рода *Martes* (лесная куница, соболь, харза и каменная куница). Всего автору удалось аннотировать более 20 тысяч генов для каждого вида. На основе базы Dfam_3.7 проведена аннотация повторов в исследуемых геномах. С использованием полногеномных выравниваний установлена синтения исследуемых видов и показано крайне небольшое число фиксированных в эволюции хромосомных перестроек. Примечательно, что уже анализ k-меров позволил выявить образцы предполагаемых гибридов. Анализ синтении между видами *Martes* позволил выявить четыре фиксированных в эволюции инверсии, однако небольшое количество генов, затронутых перестройками, не позволило сделать достоверных выводов о значимости этих инверсий в эволюции исследуемых видов.

Во второй части работы проведён анализ гетерозиготности соболей, лесных куниц, их предполагаемых гибридов, и их сравнение с другими видами рода (*M. flavigula*, *M. foina*, *M. americana* и *M. caurina*). Выявлено, что наибольшей гетерозиготностью обладают предполагаемые гибриды соболя и куницы, а также «чистые» соболи. Проведение анализа с помощью метода главных компонент показало возможность отделения образцов соболя, лесной куницы и их возможных гибридов. В этой же части работы была проведена апробация разработанного автором метода анализа компонентов распределения гетерозиготности. Автору удалось показать существование непрерывного перехода от «чистых» лесных куниц к «чистым» соболям через ряд гибридов.

Исследование гибридных особей показало существование постоянного потока генов между лесными куницами и соболями. Все взятые в исследования гибридные особи из зоны симпатрии имели мозаичный характер хромосом по происхождению, что указывает как на сохранения отдельными гибридами плодовитости, так и на не подавленный кроссинговер у гибридов. Автором на конкретных примерах показано, что глобальный ADMIXTURE анализ может быть недостаточно чувствительным для при уровне интрогрессии около 5-10% и с задачей выявления гибридов лучше справляется локальный ADMIXTURE анализ. Кроме этого автором продемонстрировано, что использование STR-маркеров для определения гибридов и доли интрогрессии сильно зависит от используемого набора и обладает низкой эффективностью в сравнении с полногеномными данными.

В третьей части работы проведено построение филогенетических деревьев на основании ядерных и митохондриальных геномов, и их последующее сравнение для исследуемых видов рода *Martes* в целом и для соболя и лесной куницы в отдельности. Выявлено интересное противоречие: топология филогенетических деревьев, построенных

методами ML и VI по ядерному геному, совпадает, но при этом противоречат топологии дерева, построенного по мтДНК для тех же видов. Автором показано, что генетические расстояния между особями хазы из различных частей ареала сопоставимы с межвидовыми, что поднимает вопрос о необходимости выделения хазы в отдельный род и разделение его на 2 или более видов. В ходе реконструкции филогении соболей и лесных куниц по мтДНК подтверждена активная гибридизация этих видов, так в 7 из 9 образцов «чистых» лесных куниц обнаружена мтДНК соболя, притом из разных клад. Также большинство гибридов несло мтДНК соболей.

Четвёртая часть результатов наиболее короткая и посвящена реконструкции популяционной истории исследуемых видов куньих, в том числе, на основе данных от гибридов соболей и лесных куниц. Показано, что гибриды в основном повторяют динамику родительских видов, при этом можно выделяется два паттерна динамика. Виды *M. martes*, *M. saurina* и *M. americana* характеризуются постоянным снижением эффективной численности популяции на протяжении последнего миллиона лет. Виды *M. zibellina*, *M. flavigula* и *M. foina* характеризуются стабильной эффективной численность с небольшой депрессией около 20 тысяч лет назад и пиком около 10 тысяч.

В разделе «Обсуждение» автор обобщает полученные результаты по каждой части работы, отмечает наиболее интересные наблюдения. Подтверждена эффективность разработанной автором концепции анализа распределения гетерозиготности по компонентам. Автором делается вывод, что мозаичный характер хромосом у гибридов лесной куницы и соболя указывает на полупроницаемую границу видов.

В разделе «Заключение» даётся общее заключение, содержащее краткое изложение сути работы.

Замечания.

Главным замечанием к диссертационной работе является недостаточно целостное описание разработанной автором концепции анализа распределений гетерозиготности. Представление этой концепции — от мотивации её разработки до конечных результатов — разбросано по трём разным разделам, что препятствует ясному восприятию.

Кроме этого имеется ряд замечаний к иллюстративному материалу. В Таблице 9 перепутаны названия столбцов для русского и латинского названия вида. На Рисунке 37В используются «бытовые» англоязычные названия видов, которые никак не пояснены в подписи. Восприятие ряда рисунков затруднено из-за трудночитаемости обозначений и подписей на многих рисунках.

Имеется замечание и к содержательной части работы. В разделе 3.5 при исследовании синтении между видами *Martes*, автор не использовал данных от внешних

групп, как следствии, из 5 выявленных хромосомных перестроек, только для одной восстановлено предковое состояние. Также возникает вопрос о точности определения границ инверсий на хромосоме 12 (13 у харзы) у сравниваемых видов. Между какими генами проходит граница инверсий? Есть ли какие-то геномные особенности регионов в границах инверсий? В разделе 3.14 возникает вопрос к реконструкции популяционной истории для *M. flavigulo* и *M. foina*. Автор указывает на то, что данные виды, исходя из измеренных генетических расстояний, могут быть разделены на несколько новых. Можно предположить, что и само видообразование произошло относительно недавно. Насколько сильно это влияет на полученную реконструкцию? Не может ли уменьшение эффективной численности популяции отражать прекращение потока генов между новыми видами?

Тем не менее возникшие замечания никак не отражаются на высокой положительной оценке диссертационной работы Андрея Александровича.

Заключение.

Диссертация Андрея Александровича является завершённым и хорошо продуманным научным исследованием, вносящим существенный вклад в понимании филогении рода *Martes* и тонкости отношений между видами *M. zibellina* и *M. martes*. Работа выполнена на высоком научном уровне и полностью соответствует требованиям пункт 9 «Положения о присуждения учёных степеней» от 24 сентября 2013 года №842 (в текущей редакции), а её автор, Томаровский Андрей Александрович, заслуживает присуждения учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7 — генетика.

Официальный оппонент:

младший научный сотрудник

лаборатории геномных технологий для медицинской генетики

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение

«Федеральный исследовательский центр

Институт цитологии и генетики


Сибирского отделения Российской академии наук»

(ИЦиГ СО РАН)

кандидат биологических наук

Нуриддинов Мирослав Абдурахимович

Подпись
ученого
к.б.н.
Нуриддинов
М.А.
ИЦиГ СО РАН
20.04.2026



ИЦиГ СО РАН
20.04.2026