

## ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

на диссертационную работу Тотикова Азамата Альбертовича на тему:  
**«ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ И ФИЛОГЕНИЯ  
РОДА *MUSTELA* (СЕМ. MUSTELIDAE)»**, представленную на соискание ученой  
степени кандидата биологических наук  
по специальности 1.5.7 – Генетика (биологические науки).

**Актуальность темы диссертационного исследования.** Появление эффективных методов полногеномного секвенирования и новых инструментов обработки данных в биоинформатике создало совершенно новые возможности для эволюционной геномики и цитогенетики. Появилась и стала актуальной задача переисследовать на принципиально новом уровне разрешения, казалось бы, уже решенные молекулярной цитогенетикой вопросы эволюции кариотипов и геномов основных филогенетических ветвей млекопитающих (см., напр.: Graphodatsky et al. 2011. The genome diversity and karyotype evolution of mammals. *Molecular cytogenetics*, 4, p.22).

Объекты исследования диссертанта – геномы нескольких видов пушных зверей из подсемейства Mustelinae (Куньи). Это подсемейство представляет собой крупнейшую и разнообразную группу млекопитающих, многие виды которой имеют важное хозяйственное значение, являются объектами промысловой охоты и меховой индустрии, используются в качестве модельных объектов в биологии или нуждаются в природоохранных мерах. Однако классификация и понимание эволюционных взаимоотношений между видами этого таксона до настоящего времени являются предметами дискуссий из-за быстрой и недавней эволюционной диверсификации, морфологической внутривидовой изменчивости и межвидовой гибридизации. Несмотря на то, что геномы и кариотипы некоторых видов Куньих давно исследуются методами генетики и цитогенетики, полногеномные данные для многих видов до сих пор отсутствуют. В связи с этим, комплексное полногеномное исследование рода *Mustela*, направленное на оценку генетического разнообразия отдельных видов и подсемейства в целом, реконструкцию филогении на основе полногеномных сравнений и уточнение путей эволюции кариотипов, является, безусловно, своевременным и актуальным.

**Научная новизна и теоретическая значимость работы.** Научная новизна рецензируемой диссертации не вызывает сомнений. Диссертационная работа Азамата Тотикова является первым комплексным полногеномным исследованием нескольких важнейших видов рода *Mustela*. Автором впервые получены и проанализированы сборки геномов *de novo* сибирского колонка (*M. sibirica*) и белополосой ласки (*M. strigidorsa*), а также осуществлено переисследование и улучшение до хромосомного уровня сборки генома обыкновенной ласки (*M. nivalis*). Это позволило существенно расширить референсную базу для всего подсемейства Куньих. Принципиально новыми являются полученные автором данные о

хромосомных перестройках, которые ранее не были выявлены методами классической и молекулярной цитогенетики. Полученные диссертантом результаты, доказывающие базальное положение на древе вида *M. Strigidorsa* дало возможность пересмотреть ранее предложенные гипотезы о путях эволюции кариотипов Куньих, уточнить датировки ключевых событий слияния и разделения хромосом, сформировавших видоспецифичные кариотипы современных видов рода *Mustela*. Впервые на полногеномном уровне проведен сравнительный анализ гетерозиготности и гомозиготности, а также реконструирована историческая динамика эффективной численности популяций для большинства видов подсемейства, что позволило связать выявленные «бутылочные горлышки» с палеоклиматическими факторами. Полученные автором филогенетические деревья, построенные как на основе полногеномных сборок геномов ядра, так и на расширенном наборе митохондриальных геномов, позволили прояснить филогенетическое положение ряда видов и подтвердить обоснованность выделения *M. richardsonii* в качестве самостоятельного вида.

**Практическая значимость.** Практическая значимость диссертационной работы не вызывает сомнения. Полученные геномные сборки и обширный набор данных полногеномного ресеквенирования являются ценным ресурсом для последующих популяционно-генетических, филогенетических и функциональных исследований куньих. Результаты работы, в частности выявление видов с низким генетическим разнообразием и признаками инбредной депрессии (степной и лесной хорьки, черноногий хорек), могут быть непосредственно использованы при разработке научно-обоснованных стратегий сохранения этих видов пушных зверей. Полученные данные о генетической структуре популяций и демографической истории имеют важное значение для долгосрочного планирования природоохранных мероприятий.

**Обоснованность и достоверность научных положений и выводов.** Степень обоснованности и достоверности полученных диссертантом результатов определяется грамотно сформулированными целями и задачами исследования, значительным объемом проанализированного материала, включающего как новые, так и ранее опубликованные данные (9 сборок геномов, 50 образцов полногеномного ресеквенирования и 149 полных митохондриальных геномов). Автором применен широчайший арсенал современных молекулярно-генетических методов, в том числе новейшие технологии секвенирования и биоинформатической обработки данных, адекватные поставленным задачам. Полученные экспериментальные результаты обработаны многочисленными разнонаправленными современными методами биоинформатики. Выводы диссертации логично вытекают из полученных результатов, хорошо аргументированы и прошли апробацию на международных конференциях и в четырех рецензируемых научных изданиях, три из которых индексируются в высокорейтинговых базах данных (Scopus, Web of Science).

**Структура и объем диссертации.** Диссертационная работа построена по традиционному плану и состоит из Введения, Обзора литературы, раздела Материалы и методы, глав Результаты, Обсуждение, Заключение, Выводы, списка литературы и 18 приложений. Общий объем работы составляет 204 страницы текста, включает 28 иллюстраций и 3 таблицы. Список литературы насчитывает 335 источников.

Обзор литературы показывает хорошую общебиологическую подготовку диссертанта. Обстоятельно, достаточно подробно он описывает биологию и распространение видов Куньих. Детально разобраны ранее опубликованные данные о кариотипической эволюции куниц и хорьков. Отдельная глава посвящена вопросам филогении и систематики семейства Mustelidae и подсемейства Mustelinae. Характерная черта обзора литературы – особо пристальное внимание, которое диссертант уделяет проблемам охраны природы, вопросам сохранения в природе видов пушных зверей, находящихся под угрозой исчезновения.

Очень интересен и важен для понимания уровня профессиональной подготовки диссертанта как генетика раздел **Материал и методы**. Видно, что диссертант уверенно владеет широким арсеналом методов современной геномики, биоинформатики, популяционной генетики и молекулярной филогении.

Главы Результаты и Обсуждение дают ясное представление о проделанной работе, исчерпывающе доказывают, что выводы работы и положения, вынесенные на защиту, обоснованы большим экспериментальным материалом, все данные статистически обработаны, критически и всесторонне обсуждены. Текст диссертации показывает, что перед нами исследование, выполненное по самым высоким стандартам эволюционной геномики. Полученные результаты значительно расширяют наши представления об организации ядерных и митохондриальных геномов куньих, о филогенетических отношениях видов этого подсемейства. При этом некоторые формулировки выводов не слишком удачны и могли быть подвергнуты косметической редакторской правке. Так в выводе 1, говоря о внутривидовом и межвидовом разнообразии полногеномных сборок исследованных видов Куньих (вывод, вполне обоснованный полученными диссертантом результатами) диссертант пишет, что «виды рода *Mustela* <...> демонстрируют высокую вариабельность в оценках генетического разнообразия». ... высокую вариабельность в оценках.... В выводе 3 написано о «топологических несоответствия между **филогеномным** и **филогенетическим** деревьями». Ясно, что филогеномным древом диссертант называет филогенетические конструкции, построенные на основании сравнения полностью секвенированных геномов ядра объектов исследования. По-видимому, в данном контексте говоря о филогенетических деревьях диссертант имеет в виду филогении, построенные на основании сравнения однородительно наследуемых маркеров митохондриальных геномов?

**Замечания и вопросы**, возникшие при чтении текста диссертации, касаются распределения по длине хромосом гомозиготных и гетерозиготных SNPs (напр. данные, приведенные в приложении 13, стр. 182 и далее). Мне кажется, что для диплоидных видов это два альтернативных состояния – пара SNP могут находиться или в гомозиготном или гетерозиготном состоянии. Тогда «тепловые» картины распределения должны быть реципрокными: если в скользящем окне много гомозиготных SNPs, в нем мало гетерозиготных SNPs и наоборот. Но на некоторых хромосомах мы этого не видим: например, прицентромерный район хромосомы 19 в геноме SRR696388; прицентромерный район хромосомы 21 и X-хромосома в геноме SRR693884. Почему частоты гомо- и гетерозиготных SNPs в ряде случаев не взаимно альтернативны?

Распределение частот гомо- и гетерозиготных SNPs по хромосомам Кунных примечательно неравномерно. Представленная картина напоминает G/R-(Q<sup>+</sup>/Q<sup>-</sup>)-бэндинг высокого разрешения. Вопрос: связаны ли относительные частоты гомозиготных SNPs в хромосомах млекопитающих с G/R-сегментацией? С распределением GC-богатых R-сегментов (Т-блоков) и темных G-сегментов («генных пустынь»)? С насыщением района генами?

В методическом отношении самым сложным разделом работы, с моей точки зрения, является раздел, посвященный популяционной истории исследуемых видов Кунных и, прежде всего, попытки привязать выявляемые методами биоинформатики «бутылочные горлышки» в популяционной истории вида к конкретным климатическим колебаниям в плейстоцене. Хронологические расчеты критически зависят от принятой автором частоты мутаций на поколение. В данном случае, за основу были взяты частоты мутаций у американской норки (среднее значение  $4.64 \times 10^{-9}$  с пределами  $2.94 \times 10^{-9}$  и  $7.37 \times 10^{-9}$ ). Диссертант пишет, что вид лесной хорек *M. putorius*, широко распространенный в Европе, пережил два резких снижения числа особей ( $N_e$ ) – первое ~500 тыс. л. н. (в интервале между 314.8 тыс. и 789.1 тыс. л.), второе, около ~200 тыс л.н. (в интервале 125.9 тыс. - 315.6 тыс. л.). Далее диссертант полагает, что эти события в популяционной истории хорька можно отнести, соответственно, к стадии MIS 12 (Эльстерское оледенение 478-728 тыс. л. назад) и стадии MIS 6 (191-123 тыс. лет назад, Заальское оледенение). Может быть это и так, но в допустимые пределы в первом случае попадают стадии MIS18-MIS9), а во втором - MIS8-MIS5e, где нечетные индексы соответствуют стадиям межледниковых потеплений. К этому разделу вопрос: кажется, что более древние события в меньшей степени могут быть отражены в современном состоянии внутригеномного и межгеномного разнообразия пушных зверей, чем события недавние. Однако шкала  $N_e$ , отображающая популяционную историю видов, на графиках рис. 25 для *Neogale vison*, *Mustela nigripes*, *M. putorius* начинается с 50 тыс. лет назад и не затрагивает последний ледниковый период. Почему?

Приведенные вопросы носят дискуссионный характер и ни в коей мере не умаляют общей высокой оценки рецензируемой работы.

К рецензируемой диссертации у меня лишь одно замечание технического характера и касается оно списка литературы. По всему списку если цитируется работа, в которой больше, чем три соавтора, цитирование такое: Mathur S. и др. Functional genomic diversity is correlated with neutral genomic diversity in populations of an endangered rattlesnake // Proc. Natl. Acad. Sci., 2023. Т. 120, № 43. С. e2303043120. – то есть, не ...et al., ...V. ... Р. ..., как принято в научной литературе, а кириллицей: ....и др., ...Т. .... С.

При этом все издания, которые опубликованы на русском языке даются в английской транскрипции:

Написано: Minprirody of Russia. State report “On the State and Environmental Protection of the Russian Federation in 2023”: 32. Ministry of Natural Resources and Environment of the Russian Federation, 2024. С. 152–183.

Надо: О состоянии и об охране окружающей среды Российской Федерации в 2023 году. Проект Государственного доклада. – М.: Минприроды России, 2024. С. 152-183.

Graphodatsky A. S., Radzhabli S. I. Chromosomes of farm and laboratory mammals // Nauka. 1988. Надо: Графодатский А.С., Раджабли С.И. Хромосомы сельскохозяйственных и лабораторных млекопитающих: Атлас. Новосибирск : Наука : Сиб. отд-ние, 1988. 127 с.

Lomanov I. K. и др. Status of resources game animals in Russian Federation 2003-2007. Information and analytical materials. Game animals of Russia (biology, protection, study of resources, rational use). Moscow, FGU Centrokhotkontrol. 8:164, 2007. Т. 8. 164 с.

Должно быть: Губарь Ю.П. (ред.) Состояние ресурсов охотничьих животных в Российской Федерации в 2003-2007 гг. Информационно-аналитические материалы // Охотничьи животные России (биология, охрана, ресурсоведение, рациональное использование). Вып. 8. М.: Изд-во ФГУ Центрохотконтроль, 2007. 164 с.

Ломанова И.К. среди авторов этого издания нет, издание посвящено его памяти.

Название журнала в ссылке иногда сокращается, иногда дается полностью – следовало остановиться на одном из этих вариантов.

Но что совершенно необычно и вряд ли оправдано, это указание кроме названия журнала его издателя:

Bozzuto C. и др. Inbreeding reduces long-term growth of *Alpine ibex* populations // Nat. Ecol. Evol. Nature Publishing Group, 2019. Т. 3, № 9. С. 1359–1364.

Wilder A. P. и др. The contribution of historical processes to contemporary extinction risk in placental mammals // Science. American Association for the Advancement of Science, 2023. Т. 380, № 6643. С. eabn5856.

**Заключение.** Диссертация Тотикова Азамата Альбертовича на тему: «ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ И ФИЛОГЕНИЯ РОДА *MUSTELA* (СЕМ. MUSTELIDAE)» является завершенной научно-квалификационной работой, в которой решены задачи по комплексной оценке генетического разнообразия и реконструкции филогении рода *Mustela* на основе полученных им оригинальных полногеномных данных, которые с привлечением широкого круга современных методов биоинформатики квалифицировано обсуждены. Работа полностью соответствует требованиям «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. №842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.7 – Генетика (биологические науки).

Официальный оппонент:

Главный научный сотрудник, зав. Лабораторией биосистематики и цитологии ФГБУН «Ботанический институт имени В.Л. Комарова Российской академии наук»,

доктор биологических наук, профессор



Александр Викентьевич Родионов

12 мая 2026 года

Контактные данные:

тел.: 7(921)7740792, e-mail: [avrodionov@binran.ru](mailto:avrodionov@binran.ru)

Специальность, по которой официальным оппонентом защищена диссертация: 03.00.15 – генетика, 03.00.25 – гистология, цитология, клеточная биология.

Адрес места работы:

197022, г. Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 2, Ботанический институт имени В.Л. Комарова Российской академии наук (БИН РАН), лаборатория биосистематики и цитологии

Подпись руки

ЗАВЕРЯЮ

ОТДЕЛ КАДРОВ

Ботанического института

им. В.Л. Комарова

Российской академии наук

