

Отзыв официального оппонента
на диссертацию Томаровского Андрея Александровича
на тему «ПОСЛЕДСТВИЯ МЕЖВИДОВОЙ ГИБРИДИЗАЦИИ И
ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОТНОШЕНИЯ В РОДЕ *MARTES* (СЕМ. MUSTELIDAE)»,
представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук
по специальности 1.5.7 – Генетика (биологические науки)

Диссертационное исследование Андрея Александровича Томаровского посвящено изучению генетических процессов, которые определяли эволюцию, демографическую историю и таксономическую структуру рода *Martes* и сестринского рода *Charronia* с особым вниманием к процессам межвидовой гибридизации между соболем и лесной куницей - интересными с точки зрения их биологии и хозяйственно значимыми видами. Работа основана на большом фактическом материале, который анализировался с использованием самых современных подходов, среди которых особенно следует отметить методы получения и анализа геномных сборок хромосомного уровня.

По материалам исследования опубликовано пять полноценных, больших по объему статей. Из них четыре опубликованы в международных журналах *Genome Biology and Evolution*, *Journal of Heredity* (две статьи) и *Molecular Ecology* и одна статья опубликована в российском журнале *Экологическая генетика*, то есть в изданиях по геномике, генетике и эволюции, которые имеют высочайшую научную репутацию. В четырех статьях Андрей Александрович является первым автором. Это очень внушительный список, который априори вызывает уважение. Чтение основанной на них диссертации полностью подкрепляет первоначальное, очень положительное мнение о выполненном научном исследовании.

Моя задача как оппонента – сделать анализ защищаемой диссертации и дать ей оценку с разных сторон, как с позиций рецензента, который делает неформальный разбор работы, так и с позиций более формальных требований ВАКа. Начну с обзора диссертации в целом, ее структуры и содержания, стараясь при этом не повторять то, что написано в отдельных главах.

Структура и содержание диссертации

Диссертационная работа изложена на 186 страницах (без учета приложений, которые занимают страницы 187-254) и построена по плану классической экспериментальной работы, то есть включает разделы Введение, Обзор литературы, Материалы и Методы, Результаты, Обсуждение, Заключение, Выводы и Список литературы. Диссертация четко структурирована и читается с большим интересом.

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ включает четыре раздела. Три из них касаются методологий и методов, которые были использованы в работе. В силу сложности и многочисленности этих методов для их детального изложения в диссертации не хватило бы места, поэтому они описаны лаконично, однако информативно и дают адекватное представление о современных подходах к получению и анализу геномных сборок, выявлению гибридизации, и изучению демографической истории и филогенетических отношений. На этом фоне может быть излишним является изложение метода присоединения соседей (Neighbor-Joining, NJ), который уже давно не применяется в серьезных исследованиях по филогенетике (включая данную диссертацию) ввиду многочисленных ограничений и низкой разрешающей способности. Более детальным является четвертый раздел этой главы, который дает обзор тех результатов по генетике, филогенетике и популяционно-генетическим исследованиям представителей родов *Martes* и *Charronia*, которые были получены предшествовавшими авторами.

Следующая глава описывает используемые в работе материалы и методы. Здесь следует отметить большое разнообразие примененных в исследовании подходов, которые потребовались для осуществления для проведения популяционных, демографических и филогенетических анализов, и, конечно же, современных методов работы с геномными сборками хромосомного уровня, которые характеризуют передовой современной геномики и цитогенетики, позволяя осуществлять детальное сравнение кариотипов и выявлять хромосомные перестройки любых типов и размеров. Помимо современных и адекватных методов следует отметить большой объем и продуманность используемой выборки образцов позволили решить все основные задачи исследования.

Глава РЕЗУЛЬТАТЫ включает 13 подразделов (очень большое число), в которых подробно и понятно описаны фактические полученные данные и основанные на них анализы. В качестве небольшого косметического замечания можно отметить, что эти подразделы бы лучше смотрелись, если их объединить в небольшое число более крупных блоков, таких как, например, (1) получение и анализ полногеномных данных, (2) анализ синтений, (3) анализ уровня гетерозиготности, (4) филогения и (5) популяционная история. Названия подразделов 3.7 и 3.8 “Классификация по видовой принадлежности...” кажется не совсем удачным. В этих подразделах речь идет о видовой идентификации с использованием разных типов молекулярных маркеров и выявлении гибридов. Может быть, так и следовало бы назвать эти подглавы?

В главе Обсуждение подразделов меньше, их всего 11, то есть, уже есть тенденция к олигомеризации, которую я предложил выше. Эта глава отлично написана и логично обосновывает основные положения диссертации, выносимые на защиту.

Короткое Заключение (две страницы) и пять Выводов (одна страница) в значительной степени дублируют друг друга при том, что Заключение написано в форме аннотации о том, что было сделано, а Выводы в форме положений, констатирующих, что было получено. ВЫВОДЫ работы сформулированы корректно и резюмируют проведенные исследования, полученные результаты и вытекающие из них заключения (однако см. мои замечания ниже).

Автореферат построен по стандартной схеме, отлично оформлен, полностью отражает содержание диссертационной работы.

Актуальность диссертационного исследования. В течение последних лет исследования в генетике и эволюционной биологии характеризовались повышенным интересом к проблеме межвидовой гибридизации. Было многократно показано, что это явление встречается гораздо чаще, чем предполагалось ранее, а многие виды не только растений, но и животных имеют гибридное происхождение, не являясь при этом полиплоидами. Это говорит о том, что гибридизация на диплоидном уровне наряду с мутагенезом, естественным отбором, дрейфом генов и изоляцией является существенным фактором эволюционного процесса. В этом контексте диссертационное исследование Андрея Александровича Томаровского, направленное на изучение феномена и роли гибридизации в эволюции необычайно интересной с точки зрения биологии и физиологии и к тому же хозяйственно значимой группы млекопитающих, выглядит чрезвычайно актуально.

Новизна исследования. Залогом успеха и фактором, обуславливающим очень высокий элемент новизны данного исследования, явилось то, что оно использует ультрасовременные подходы к получению и анализу геномов, основанные на получении длинных прочтений и использовании Hi-C технологии. Эти подходы позволили диссертанту получать сборки, в которых подавляющее большинство прочтений с высокой точностью разложено по отдельным хромосомам, причем все или хотя бы значительная часть хромосом прочитаны от теломеры к теломере. В настоящее время мало кто будет сомневаться в том, что использование хромосомных сборок становится стандартом современной геномики, но важно подчеркнуть, что первые работы диссертанта в этой области и первые сборки геномов – представителей рода *Martes* - появились еще в самом начале 20-тых годов 21 века. На тот момент это были абсолютно пионерские работы, которые раздвигали границы познания, ломая барьеры, которые казались совершенно неприступными.

Теоретическая и практическая значимость. Диссертационное исследование Андрея Александровича Томаровского выполнено и написано под флагом таких

революционных новаций современной биологии, как осознание особенной роли межвидовой гибридизации в эволюции и использование геномных сборок хромосомного уровня для решения поставленных задач. Это позволило диссертанту по-новому взглянуть на демографическую историю, эволюцию и филогению изучаемой группы, что определяет теоретическую значимость диссертации.

Диссертантом обнаружен невероятно высокий уровень гибридизации между соболем и куницей, причем убедительно показано с использованием генетических методов, что гибриды F1 фертильны и происходят многократные возвратные скрещивания, приводящие к очень сложной популяционно-генетической структуре в пределах изучаемого комплекса. Важные моменты при этом, что соболь и лесная куница – это не сестринские виды, и что, несмотря на такой уровень гибридизации, виды в общем сохраняют свою дискретность – очень важные заключения с позиций эволюционной и природоохранной биологии.

Помимо необычного паттерна выявленной межвидовой генетической интрогрессии следует отметить такие теоретически и практически значимые выводы, как выявление высокого уровня гетерозиготности у соболя, выявление мультимодального распределение гетерозиготности, которое является следствием активной гибридизации и обнаружение инверсии, разделяющей геномы соболя и куницы.

Личный вклад автор очень велик. Понятно, что как и в любой современной геномной работе, в исследовании принимали участие специалисты по смежным дисциплинам, однако все основные результаты и заключения получены диссертантом самостоятельно. Первое авторство в четырех статьях из пяти опубликованных подтверждают этот вывод.

Достоверность результатов в первую очередь зависит от объема собранного и изученного материала и от адекватности используемых подходов, в данном исследовании в значительной степени от молекулярных методов. В этом отношении у меня нет никаких сомнений. Приведенные в работе данные и публикации в высокорейтинговых журналах, которые прошли через сито многочисленных строгих рецензий, подтверждают высочайшее качество исследований. Все полученные нуклеотидные последовательности, включая хромосомные сборки геномов, представлены в международных базах данных и доступны для дальнейшего использования.

Обоснованность выводов и положений. Все выводы и положения, выносимые на защиту, обоснованы большим объемом изученного материала, тщательно обработанного с использованием наиболее адекватных и наиболее современных методов анализа.

Замечания

(1) Из названия диссертации неспециалисту трудно понять, о каком объекте исследования идет речь. Этой проблемы не было бы, если в названии указать русское название изучаемой группы или, если это трудно, указать в скобках не только семейство, но и отряд.

(2) Диссертант пишет о возможности разделения вида *M. foina* на два вида на основании в первую очередь анализа митохондриальной ДНК (стр. 153), при том, что дифференциация на ядерной ДНК невелика. Кажется, что такое заключение противоречит логике о ведущей роли ядерной ДНК и небольшой роли митохондриальной ДНК при принятии таксономических решений?

(3) Первая часть вывода 4 диссертации кажется очевидной – единичные маркеры всегда будут менее информативны для филогенетических и популяционно-генетических анализов, чем мультигенные и, тем более, полногеномные данные.

(4) Вывод 5 в том виде, как он представлен, включает два субъективных момента, которые заключены в словах “необходимость выделения” и “род”. Выделение линии харзы в отдельный род было бы объективно необходимо, если бы автор выявил полифилию (парафилию), которая бы исчезала при выделении харзы в отдельный род. В данном случае нет строгой необходимости выделения, так как харза является сестринской группой к линии *Martes*, а сами линии можно интерпретировать в качестве подродов. Поэтому, чтобы избежать субъективности и сформулировать вывод более строго, можно было бы написать: “Проведенные филогеномные исследования подтвердили, что филогенетическая линия харзы (*Charronia*) и линия куниц (*Martes sensu stricto*) являются сестринскими. Исходя из этого, их можно таксономически интерпретировать как два сестринских подрода, образующих вместе монофилетический род *Martes sensu lato* или как два отдельных сестринских рода. Последнее кажется нам более предпочтительным с учетом уровня морфологической и молекулярной дивергенции.»

(5) Предложенное разделение харзы на три вида скорее всего является правильным, но в контексте изученного материала несколько неопределённым (генетически изучены единичные особи). Я также не нашел в диссертации данных о молекулярном изучении вида *M. gwatkinsii*, который тем не менее фигурирует в выводе 5.

(6) В обозначениях к рис. 27 есть противоречие: на самом рисунке указано, что зеленым цветом показана поддержка >90%, а в подписи сказано, что зеленый цвет использован для поддержек 100%.

Все вышеуказанные замечания носят частный характер. Они не умаляют научных достоинств работы А.А.Томаровского, не влияют на достоверность полученных

