



МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ РАЗВИТИЯ им. Н.К. КОЛЬЦОВА РАН

ул. Вавилова д. 26, Москва, 119334

Тел.: (499) 135-33-22. Факс (499) 135-80-12. E-mail: info@idbras.ru

ОКПО: 02699062 ОГРН 1027700450800 ИНН/КПП 7736044850/773601001

<http://idbras.ru>

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор

Федерального государственного
бюджетного учреждения науки
Института биологии развития
им. Н.К. Кольцова (ИБР РАН)
д.б.н., член-корреспондент РАН

На № 24.10.2023 от 12506/01-339
03/09-99 от 19.09.2023

А.В. Васильев

«24» октября 20 23 г.

Отзыв ведущей организации
на диссертационную работу Комаровой Валерии Александровны
«Микроэволюционные процессы на выраженном высотном
градиенте в горных тропиках на примере крапчатых
жестковолосых мышей *Lophuromys flavopunctatus* s.l.», представленной к защите на
соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности:
1.5.12. – Зоология

АКТУАЛЬНОСТЬ ТЕМЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Одной из ключевых задач современной эволюционной биологии является выявление факторов и процессов, приводящих к образованию и обособлению новых видов. Дивергенция, связанная как с экологической, так и с географической изоляцией, разделяет вид на обособленные группы, характеризующиеся своими комплексами признаков. Однако дальнейшая судьба новых таксонов во многом зависит от того, как поведут себя их генофонды при вторичном контакте. В данной работе рассмотрена модель взаимодействия генофондов видов, возникших в результате экологической диверсификации (градиентная модель видообразования) вдоль высотного градиента природных условий и оказавшихся в условиях симпатрии из-за сдвига границ высотных поясов растительности в горных экосистемах в результате периодических колебаний климата в плейстоцене, на примере девяти видов крапчатых жестковолосых мышей надвидового комплекса *Lophuromys flavopunctatus* sensu lato

(s. l.) Эфиопского нагорья. Особенности экологии и распространения видов данного комплекса делает их удобными объектами для исследования различных микроэволюционных процессов на выраженном высотном градиенте природных условий.

Актуальность темы исследования не вызывает сомнений.

НОВИЗНА НАУЧНЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ, НАУЧНАЯ И ПРАКТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ

В работе при помощи высокопроизводительного метода секвенирования ddRADseq получена окончательно разрешенная филогения эфиопских видов комплекса *Lophuromys flavopunctatus* s.l. Впервые получены полные последовательности митохондриальных геномов девяти видов комплекса, на основании которых проведен детальный анализ филогенетических взаимоотношений внутри комплекса. Между некоторыми видами подтверждены события древней и современной интрогрессии мтДНК, чем объясняется несоответствие ядерной и митохондриальной филогений, выявленное ранее.

Полученные в исследовании результаты вносят существенный вклад в эволюционную биологию, особенно в ее области, связанные с генетикой популяций, способствуют лучшему пониманию механизмов формирования и поддержания современного биологического разнообразия. Комплексный подход, использованный в работе, может быть применен при изучении филогенетических отношений других групп мелких млекопитающих, населяющих горные тропики. Кроме того, проведенное исследование имеет потенциальное природоохранное значение. Некоторые из исследованных видов являются малочисленными эндемиками (*L. menageshae*, *L. chercherensis*, *L. pseudosikapusi*) или занимают крайне ограниченные участки афро-альпийских местообитаний (*L. melanopus*), в связи с чем подлежат особой охране. Материалы исследования могут быть использованы при подготовке лекций по зоологии, генетике и эволюционной биологии.

ДОСТОВЕРНОСТЬ И АПРОБАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

По теме диссертации опубликовано 6 печатных работ, из них статей в журналах из списка ВАК РФ и в журналах, индексируемых в международных базах данных Scopus и Web of Science - 6. Основные результаты диссертации были представлены на 4 международных и отечественных конференциях. Результаты исследования являются достоверными, а выводы обоснованными.

СТРУКТУРА И СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Диссертация изложена на 234 страницах текста и состоит из Аннотации, Введения, 5 глав основной части (Обзор литературы, Материалы и методы, Результаты, Обсуждение, Заключение), Выводов, Благодарностей, Списка публикаций автора, Списка литературы и Приложения. Список цитируемой литературы включает 434 источника. Приложение занимает 26 страниц. Работа проиллюстрирована 16 рисунками и 6 таблицами в основном тексте, 4 рисунками и 4 таблицами в приложении.

В главе «Введение» автор лаконично обосновывает актуальность выбранной темы и формулирует цель и задачи исследования, выделяет научную новизну, теоретическое и практическое значение, описывает свой личный вклад в работу, а также перечисляет положения, выносимые на защиту. Цель исследования и задачи сформулированы корректно.

Глава «Обзор литературы» состоит из 3-х разделов, в которых автор описывает понятие сетчатой эволюции и приводит известные к настоящему времени данные о существенной роли межвидовой гибридизации и последующей ядерной и митохондриальной интрогрессии в эволюции видов разных групп организмов. Далее автор рассматривает Эфиопское нагорье как полигон для микроэволюционных исследований и дает подробную характеристику надвидового комплекса крапчатых жестковолосых мышей *Lophuromys flavopunctatus* s.l. Обзор литературы составляет 56 страниц и представляет отдельный законченный научный труд, содержащий исчерпывающую аналитически переработанную информацию по теме и заслуживающий занять место в качестве главы в учебнике эволюционной биологии.

В главе «Материалы и методы» приводится методика сбора материала в полевых условиях, перечисляются основные молекулярно-биологические методы, используемые в работе (выделение ДНК, подбор праймеров, амплификация и секвенирование митохондриальных и ядерных генов, подготовка библиотек случайных фрагментов методом ddRAD и их секвенирование, пробоподготовка библиотек и сборка полных митохондриальных геномов), методы филогенетического анализа и разграничения видов, датирования узлов дивергенции, оценки степени межвидовой интрогрессии на основе данных ddRADseq. Следует отметить широкий арсенал современных биоинформатических методов и программ, освоенных автором и используемых в работе.

Глава «Результаты» состоит из 4х разделов. Первый посвящен исследованию филогенетических отношений в комплексе эфиопских *Lophuromys* по данным мтДНК. В ходе выполнения этой части исследования были получены последовательности фрагмента гена Cytb от 322 образцов девяти видов эфиопских *Lophuromys*, оценено генетическое разнообразие мт-гаплотипов и их географическое распространение. Для трех видов комплекса (*L. simensis*, *L. brunneus*, и *L. melanonyx*) показано, что в их эволюционной истории были события межвидовой гибридизации с интрогрессией мтДНК. Эти же выводы подтверждены данными анализа 40 полных митохондриальных геномов девяти видов эфиопских *Lophuromys*, полученных в ходе выполнения работы. Второй раздел посвящен исследованию филогенетических отношений в комплексе по данным ядерного генома. Используется метод высокопроизводительного генотипирования ddRADseq 209 экземпляров эфиопских *Lophuromys* и данные секвенирования последовательностей 4х ядерных локусов (*WLS-7* – 7й интрон гена интегрального мембранного белка, *DHCR24-7* – 7й интрон гена дегидрохолистерол редуктазы, *IRBP* – 1й экзон ретиноид связывающего белка, *GHR* - экзон гена рецептора гормона роста) от 54 экземпляров. Полученная топология дерева хорошо согласуется с ранее известными хромосомными данными, показывая четыре хорошо разрешенные монофилетические клады, объединяющие виды с одинаковым диплоидным набором хромосом, и девять хорошо поддержанных основных митохондриальных клад, соответствующих девяти видам эфиопских *Lophuromys*. Однако популяции трех видов, у которых наблюдается интрогрессия мтДНК, показали гомогенность по ядерному геному, хотя метод разграничения видов все же разделил два из них (*L. simensis*, и *L. melanonyx*) на выраженные филогеографические группировки. В третьем разделе главы «Результаты» приводится топология видового древа и датирование узлов дивергенции, а также проводится анализ отличий топологий, полученных по разным наборам маркеров. Последний раздел главы «Результаты» посвящен выявлению следов интрогрессии в

ядерных геномах комплекса эфиопских видов *Lophuromys*. Незначительные следы ядерной интрогрессии были обнаружены в геноме *L. simensis* из Национального Парка Борена Сэйт от *L. menageshae* ($D = 0,046$, доля интрогрессии составляет 0,9%), и между *L. flavopunctatus* и *L. brunneus* ($D = 0,092$, доля интрогрессии составляет 9,43%).

Полученные результаты всесторонне рассмотрены в главе «Обсуждение». Здесь проводится анализ полученных в работе данных с целью сопоставления с их имеющимися ранее. Обсуждаются гипотезы возможных сценариев филогеографической истории надвидового комплекса крапчатых жестковолосых мышей *Lophuromys flavopunctatus* s.l. Отмечается, что современное генетическое разнообразие эфиопских видов *Lophuromys* сформировалось в результате сочетания дивергентных и ретикулярных процессов. Большое внимание уделяется эволюционным сценариям наблюдаемой интрогрессии мтДНК в истории некоторых видов комплекса, обсуждается их возможное адаптивное значение. Основные результаты и их обсуждение изложены в соответствии с поставленными задачами.

Результаты диссертационной работы суммируются в главе «Заключение»

Результаты представлены в семи выводах, которые полностью соответствуют поставленным задачам.

Замечаний к работе нет.

Есть вопрос к пункту 2.5.2. (Построение видового дерева и датирование узлов дивергенции): Почему видовым древом автор считает древо, построенное по данным секвенирования четырех ядерных локусов, а не, например, по данным ddRADseq?

Текст автореферата в достаточной мере отражает содержание диссертационной работы.

Диссертационная работа Комаровой В.А. представляет собой законченный научно-исследовательский труд. Работа практически не содержит технических недостатков, выполнена на высоком методическом уровне, производит очень благоприятное впечатление и в целом по качеству проведенного анализа и его изложения в виде текста диссертации значительно превосходит средний уровень, а идеи, обобщенные в диссертации, отражают мировоззрение и опыт сформировавшегося высококвалифицированного ученого-эволюционного биолога.

Помимо соответствия основной специальности, работа по нескольким пунктам паспорта специальности соответствует также специальности 1.5.7. - Генетика и, таким образом, могла бы быть защищена по двум специальностям.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационная работа Комаровой Валерии Александровны «Микроэволюционные процессы на выраженном высотном градиенте в горных тропиках на примере крапчатых жестковолосых мышей *Lophuromys flavopunctatus* s.l.», является завершённой научно-квалификационной работой, выполненной на высоком научно-методологическом уровне с использованием современных методов исследования. Результаты, приведённые в работе, представляют высокую значимость для решения проблем современной систематики и эволюционной биологии. Диссертационная работа по содержанию, актуальности, новизне, научному и методическому уровню, практической ценности полученных результатов полностью соответствует требованиям «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденных постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842,

предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, соответствует заявленной специальности - 1.5.12. - Зоология, а ее автор, Комарова Валерия Александровна, заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.12. - Зоология.

Отзыв на диссертационную работу Комаровой В. А. заслушан, обсужден, одобрен и утвержден на объединенном семинаре лабораторий: молекулярно-генетических процессов развития, эволюционной генетики развития, эволюции генома и механизмов видообразования, эпигенетики развития ИБР РАН 24 октября 2023 г. (Протокол № 5 от 24.10.2023 г.).

Кандидат биологических наук
Сорокина Светлана Юрьевна

_____/ Сорокина С.Ю./

Председатель объединенного семинара

_____/ Куликов А.М./

«Подписи Сорокиной С.Ю. и Куликова А.М. удостоверяю»

Ученый секретарь ИБР РАН,
кандидат биологических наук, доцент
Хабарова Марина Юрьевна

_____/ Хабарова М.Ю./

Сведения о составителе отзыва:

Сорокина Светлана Юрьевна, кандидат биологических наук (1.5.7. – Генетика), старший научный сотрудник лаборатории эволюционной генетики развития Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН (ИБР РАН)

Адрес: 119334, г. Москва, ул. Вавилова, д. 26.

Тел: +7 (915) 081-69-90; e-mail: svetlana_ibr@mail.ru

Сведения о председателе объединенного семинара:

Куликов Алексей Михайлович, доктор биологических наук (1.5.7. – Генетика), заведующий лабораторией эволюционной генетики развития, заместитель директора по научной работе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН (ИБР РАН)

Сведения о лице, утвердившем отзыв:

Васильев Андрей Валентинович, доктор биологических наук (1.5.22.- Клеточная биология), член-корреспондент РАН, директор Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН (ИБР РАН)

Дата: 24 октября 2023 года.