

## ОТЗЫВ

официального оппонента, кандидата биологических наук, заведующего лабораторией генетики животных Института генетики и цитологии Национальной Академии наук Беларуси, доцента Михайловой Марии Егоровны на диссертацию **Волнистого Арсения Андреевича** «Филогеография и генетическая структура популяции благородного оленя в условиях его реинтродукции в Беларуси», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.04 – зоология

На основе изучения диссертации, автореферата и опубликованных работ по теме диссертации выявлено соответствие диссертации специальностям и отрасли науки соответствующей согласно паспорту специальности 03.02.04 – зоология, утвержденного ВАК от 14 ноября 2023 г. № 273 *по пункту 7.* Экологические предпочтения и механизмы адаптации животных к внешним факторам среды обитания, биологические ритмы, миграции, структура, демография и динамика численности популяций, видовое разнообразие, состав и функционирование сообществ; *пункту 8.* Эволюционные аспекты зоологии. Формообразование, эволюционная радиация в таксономических группах. Изменчивость фенетических, морфологических и генетических параметров, анализ внутривидовой дифференциации как основы микроэволюционных изменений; *пункту 11.* Сохранение и устойчивое использование биологического разнообразия животных. Оценка рисков и угроз популяциям животных, инвазии. Разработка общих принципов и конкретных мер охраны, использования и снижения негативного воздействия различных факторов на диких животных. Биологические основы содержания, разведения и восстановления популяций редких и исчезающих видов животных.

**Актуальность темы диссертации.** Благородный олень в настоящее время является одним из наиболее значимых видов лесных экосистем как в экологическом так и хозяйственном значении для Беларуси. Значительный успех в вопросе восстановления численности вида в республике и возвращении его на существенный сегмент исходного ареала достигли благодаря предпринимаемым обширным кампаниям по реинтродукции вида и восстановлению его численности в пределах исходного ареала, включавшие завоз особей как из стран СССР в советский период, так и из зарубежных государств в период с наступления независимости Республики Беларусь. Однако научные данные о статусе и происхождении современной популяции благородного оленя построены главным образом на изучении морфологии особей. Также не в полной мере проводились исследования по оценке успешности адаптации реинтродуцированных особей. То есть, фактическое происхождение современной метапопуляции благородного оленя в Беларуси, её генетический статус, структура и поток генов в результате миграции и/или расселения особей, а также адаптивный потенциал на сегодняшний день не известны. В этой связи диссертационное

исследование направлено на определение генетического разнообразия и оценку генетической структуры современной белорусской метапопуляции благородного оленя с целью эффективности управления её популяционными группировками в условиях реинтродукции в Беларуси.

**Степень новизны результатов, полученных в диссертации, и научных положений, выносимых на защиту.** С помощью современных молекулярно-генетических методов исследования впервые в Беларуси выявлены филогеографические связи благородного оленя с евразийскими популяциями вида и установлены условия формирования популяции на территории страны. Впервые в Беларуси описаны генетическая структура и генетический полиморфизм дикой популяции благородного оленя Беларуси, осуществлена генетическая сертификация его популяционных групп, сформировавшихся по итогам реинтродукции, генетический статус которых был не определен.

Для корректного управления видом на территории Беларуси с целью повышения его адаптационного потенциала необходимы знания о состоянии генетического пула популяции благородного оленя. Генетический полиморфизм современной популяции обусловлен присутствием маралоидных и тирренских геномов. Также известно, что геном современной популяции оленя значительно отличается от аборигенного генома, полученного исследованиями древней ДНК благородного оленя. Для ответа на вопрос хорошо это или плохо для жизнеспособности белорусской популяции и её дальнейшего существования на территории страны, диссертант Волнистый А.А. научно обосновал следующие положения, выносимые на защиту:

1. Белорусская метапопуляция благородного оленя *Cervus elaphus* характеризуется смешанным происхождением из четырёх обособленных источников: западноевропейской популяции иберийского происхождения, воронежской популяции иберийско-маралоидного происхождения, тирренской популяции, и балканской популяции, с наибольшей долей западноевропейской (74%) и маралоидной (21%) наследственностей. Наблюдаемое разнообразие гаплогрупп характеризует белорусскую метапопуляцию как уникальный в Европе пример смешения четырёх генетических линий.

2. Структурированность белорусской метапопуляции благородного оленя определена процессами реинтродукции вида на территории страны. Популяция сформирована девятью популяционными группами, коррелирующими с историей расселения вида, и демонстрирующими выраженные потоки генов, снижающие их дифференциацию.

3. Белорусская метапопуляция благородного оленя характеризуется высоким адаптивным потенциалом по своим характеристикам аллельного богатства ( $A_r = 14,83$ ), гаплотипического разнообразия, ( $H_d = 0,651$ ), нуклеотидного разнообразия ( $\pi = 0,0112$ ) и гетерозиготности ( $H_o = 0,56$ ;  $H_e = 0,74$ ).

## **Обоснованность и достоверность выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации.**

Примененные в данной работе методы исследования соответствуют поставленным задачам, а объем полученного и обработанного материала (161 проба генетического материала из 36 административных районов Беларуси) вполне достаточен для обоснования приведенных в тексте диссертации данных и сделанных на их основе выводов. *Первое положение*, выносимое на защиту, обосновано, достоверно, подкреплено следующими выводами:

- выявленное происхождение белорусской метапопуляции благородного оленя указывает на её формирование из множества источников племенного материала: современная популяция обладает наследственностью по меньшей мере четырёх митохондриальных генетических линий;

- наибольшую роль в формировании белорусской метапопуляции благородного оленя играет западноевропейская наследственность ( $\approx 74\%$ ), при значительно меньшей доле кавказской ( $\approx 21\%$ ), тирренской ( $\approx 5\%$ ) и балканской ( $< 5\%$ ). Наблюдаемое разнообразие гаплогрупп характеризует белорусскую метапопуляцию как уникальный в Европе пример смешения четырёх генетических линий.

*Второе положение*, выносимое на защиту, обосновано, достоверно, подкреплено выводом:

- генетическая структурированность в белорусской метапопуляции благородного оленя определена процессами реинтродукции вида на территории страны, и не определяется географически-ландшафтными факторами природного или антропогенного происхождения.

*Третье положение*, выносимое на защиту, обосновано и достоверно подкреплено следующими выводами:

- белорусская метапопуляция благородного оленя характеризуется выраженными потоками генов между популяционными группами вида в стране, снижающими внутреннюю дифференциацию и обособление популяционных групп.

- в белорусской метапопуляции благородного оленя отмечаются высокие для наблюдаемой численности генетическое разнообразие и адаптивные показатели. Полученные показатели характеризуют популяцию как самодостаточную для дальнейшего роста и развития.

## **Научная, практическая, экономическая и социальная значимость результатов диссертации с указанием рекомендаций по их использованию.**

Диссертант Арсений Андреевич для определения генетической структуры белорусской популяции благородного оленя проанализировал SNP-полиморфизм нуклеотидных последовательностей локусов HD8 и LD5 переменного участка контрольной области D-loop mt-ДНК, в которой происходят основные эволюционные изменения, а также полиморфизм высоковариабельных ядерных ДНК маркеров изучен методом фрагментного анализа 14 STR-локусов. Проанализирована обширная выборка особей, покрывающая все значимые субпопуляции благородного оленя в Беларуси в

период активной реинтродукции вида в стране – между 2008 и 2023 годом.

Выявлено генетическое разнообразие митохондриальных гаплогрупп благородного оленя, обнаруженных на территории Беларуси, которые отражают матрилинейное происхождение особей в исследуемой выборке. Полученные данные подтверждают, что формирование белорусской метапопуляции благородного оленя, как смешанной популяционной группы, обусловлено естественной миграцией и искусственным расселением племенного материала из многочисленных источников в ходе последовательных кампаний по реинтродукции вида. Преимущественную роль в формировании метапопуляции сыграли материнские особи благородного оленя из Беловежской пуши центральноевропейского происхождения, относящиеся к Иберийской гаплогруппе А, распространенной по всему ареалу вида в Беларуси. Северо-восточная часть ареала благородного оленя представлена особями, по материнской линии относящимися к Маралоидной гаплогруппе Е, завезёнными или мигрировавшими из воронежской популяции в советский период реинтродукции вида. В то же время присутствие Тирренской гаплогруппы В на востоке страны (Чаусский район Могилёвской области) весьма неожиданно, что может быть объяснено только завозом животных одной из европейских популяций в ходе последнего этапа реинтродукции. В данном исследовании Балканская гаплогруппа С не была обнаружена из-за малой выборки, взятой в данное исследование, однако так как польскими учеными (2011 г.) эта гаплогруппа была выявлена в южной части Беларуси, диссертант включает и Балканскую линию в метапопуляцию. Таким образом, с помощью филогенетического анализа охарактеризована белорусская метапопуляция благородного оленя как уникальный пример смешения четырёх генетических линий благородного оленя: Западноевропейской (Иберийской), Ближневосточной (Маралоидной), Тирренской и Балканской.

Также для белорусской популяции характерно относительно высокое генетическое разнообразие по данным анализа полиморфизма митохондриального маркера контрольного региона. Отдельного внимания заслуживает полное отсутствие в результатах филогенетического анализа признаков нежелательной гибридизации благородного оленя *Cervus elaphus* с пятнистым оленем *Cervus nippon* и сибирским маралом *Cervus canadiensis sibiricus*.

Так как филогеографический анализ отражает только материнскую линию наследственности, наблюдаемая картина распространения генетических линий и встречаемости генотипов неполная. Поэтому генетическая структура белорусской метапопуляции благородного оленя оценена по ядерной ДНК микросателлитным анализом. С помощью Байесовского анализа выявлена слабая структурированность, отсутствие обособленности большинства выделенных подгрупп, их низкая дифференциация и высокие показатели генетического разнообразия исследуемой метапопуляции, что указывает на интенсивные, разнонаправленные и неравномерные потоки генов в белорусской

метапопуляции благородного оленя, что также соответствует характеру искусственного расселения особей в ходе реинтродукции. Современная генетическая структура вида на территории Беларуси отражает стадию динамичного процесса и не является долгосрочной, сформирована миграционными процессами в виде искусственного расселения животных в ходе мероприятий по реинтродукции вида, с последующей естественной миграцией в течение ближайших поколений, подразумевая формирование новых популяционных групп.

Средняя наблюдаемая гетерозиготность и относительно высокий для популяций Европы оценочный показатель эффективной численности популяции указывают на высокое число активно размножающихся особей в белорусской метапопуляции и положительный прогноз её дальнейшего роста. Адаптационный потенциал белорусской метапопуляции благородного оленя в целом может быть охарактеризован как весьма высокий для белорусского региона.

**Практическая значимость** диссертации обусловлена тем, что предложены рекомендации по созданию системы генетического мониторинга белорусской метапопуляции благородного оленя на основании использования молекулярно-генетического подхода. Выявленное высокое генетическое разнообразие свидетельствует о самодостаточности белорусской популяции для дальнейшего роста и развития без дальнейшего привлечения внешних источников племенного материала. Однако наряду с традиционными зоотехническими приёмами слежения за состоянием метапопуляции необходимо проводить молекулярно-генетическую паспортизацию с целью корректного управления видом на территории Беларуси. Следует подчеркнуть, что так как, с одной стороны, маралоидная и тирренская наследственность формируют значительную долю генетического разнообразия в популяции и повышают её адаптивный потенциал, однако, с другой стороны – присутствие этих генетических линий отдаляют геном существующей популяции от аборигенного генома, полученная при исследовании древней ДНК.

Необходимо отметить, что выявленное высокое генетическое разнообразие указывает на самодостаточность белорусской метапопуляции благородного оленя для дальнейшего роста и развития без дальнейшего привлечения внешних источников племенного материала.

Полученные результаты вносят значительный вклад в разработку важной народно-хозяйственной задачи – повышение экономической эффективности использования природных ресурсов с целью эффективного управления белорусской популяцией благородного оленя на основании разработанной системы Единиц управления, а также разработанных молекулярных методов для генетического мониторинга и паспортизации популяций. Результаты исследований внедрены в РГОО «Белорусское общество охотников и рыболовов (акт от 10.10.2022, 11.12.2021), биологический факультет УО «Белорусский государственный университет» (12.10.2020). Данные о новых нуклеотидных последовательностях ДНК,

присущие благородному оленю Иберской, Тирренской, Кавказской, Вапити и Азиатской гаплогруппам, депонированы в международную базу данных NCBI 'Genbank', что позволяет говорить о практической значимости диссертационной работы.

**Опубликованность результатов диссертации в научной печати соответствие оформления диссертации требованиям ВАК.** По материалам диссертации опубликовано 13 научных работ (общий объем – 4,7 авторских листа): 3 статьи в изданиях, соответствующих п. 19 «Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий в Республике Беларусь», объемом 3,1 авторских листа, 10 публикаций в сборниках материалов и тезисов докладов конгресса, симпозиума, научных конференций. Основные результаты, выводы и положения, приведенные в диссертации, в полной мере опубликованы в научных работах.

**Оформление диссертации и реферата** соответствуют требованиям ВАК. Диссертация изложена на 166 страницах и состоит из следующих разделов: термины и определения, перечень сокращений и обозначений, введение, общая характеристика работы, шесть глав, заключение и пять приложений. Приложения составляют 31 страницу. Работа иллюстрирована 12 таблицами и 28 рисунками общим объемом 22 страницы. Библиографический список источников представлен на 24 страницах и включает 264 литературных источника, из них 232 на иностранных языках.

Диссертация написана хорошим научным языком, все используемые термины корректны и приняты научным сообществом. Однако, выявлены и некоторые опiski и неточности в оформлении работы.

В реферате (стр.8) и диссертации (стр.70) указано, что исследован локус мтДНК HD6 и LD5, а на стр. 62 приводятся локусы HD8 и LD5.

Рисунок 13 не информативен, необходимо было добавить сиквенс изучаемых локусов (стр.62).

На рисунке 14 не указаны размерный ряд маркера молекулярных весов, поэтому трудно определить правильность размера продуктов амплификации локусов мтДНК (стр.63).

В табл.10 (стр.92) не корректно указаны «Значения для популяции» в последней строке таблице, было бы более корректно привести стандартное отклонение для параметров генетического разнообразия. В табл.12 (стр.94) не понятно, что обозначает термин N, и в Перечне сокращений и обозначений значение N не приводится.

Однако, допущенные в диссертационной работе опiski и некоторые неточности в оформлении диссертации никоим образом не уменьшают её научного значения.

#### **Замечания по диссертации.**

1. Почему важно проводить мониторинг генетической структуры метапопуляции оленя, не допуская «вымывания» генов, характерных для древнего аборигенного благородного оленя?

2. Чем объясняется тот факт, что «...популяции благородного оленя имеет высокий адаптационный потенциал благодаря присутствию

генов маралоидного и тирренского происхождения»)?

**Соответствие (несоответствие) научной квалификации соискателя ученой степени, на которую он претендует**

Диссертационная работа Арсения Андреевича Волнистого «Филогеография и генетическая структура популяции благородного оленя в условиях его реинтродукции в Беларуси», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук, по методологии, объекту, предмету исследования, выводам, разработанным практическим рекомендациям и сведениям о внедрении результатов в учебный процесс и положениям, выносимым на защиту, соответствуют специальности 03.02.04 – зоология и отрасли биологические науки, и является законченной, самостоятельно выполненной квалификационной научной работой, вносящей в совокупности значительный вклад в зоологию.

Ученую степень кандидата биологических наук по специальности 03.02.04 – зоология в соответствии с требованиями пп. 20, 21 и 22 Положения о присуждении ученых степеней и присвоения ученых званий в Республике Беларусь (в редакции Указа Президента Республики Беларусь от 02.06.2022) следует присудить Арсению Андреевичу Волнистому за: научное доказательство происхождения белорусской метапопуляции благородного оленя вследствие комбинирования четырёх гаплогрупп (западноевропейской Иберийской ( $\approx 74\%$ ); кавказской Маралоидной ( $\approx 21\%$ ); Тирренской ( $\approx 5\%$ ) и Балканской ( $< 5\%$ )), генетическая структурированность которой произошла в процессе реинтродукции вида, установление регионов, из которых завозились особи в ходе реинтродукции, подтверждение высокой эффективности проводимых мероприятий по реинтродукции, описание высокого адаптивного потенциала современной белорусской популяции благородного оленя, выявление наиболее адаптивных популяционных групп для рационального использования в качестве племенного материала, а также установление миграционно-обусловленных потоков генов между гаплогруппами.

Официальный оппонент  
кандидат биологических наук, доцент,  
заведующий лабораторией генетики  
животных Института генетики и  
цитологии НАН Беларуси



М.Е. Михайлова

12.02.2025

