

«УТВЕРЖДАЮ»

Ректор учреждения
образования «Полесский
государственный университет»,
кандидат биологических наук,
доцент



В. И. Дунай

2025 г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

оппонирующей организации

по результатам экспертизы диссертационной работы

Волнистого Арсения Андреевича

**на тему «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**

Кем и когда назначен руководитель

Диссертационная работа ВОЛНИСТОГО Арсения Андреевича «Филогеография и генетическая структура популяции благородного оленя в условиях его реинтродукции в Беларуси» выполнена в лаборатории молекулярной зоологии ГНПО «НПЦ НАН Беларуси по биоресурсам» под научным руководством Гомеля Константина Вячеславовича ведущего научного сотрудника лаборатории молекулярной зоологии ГНПО «НПЦ НАН Беларуси по биоресурсам», кандидата биологических наук, доцента (утвержден приказом Генерального директора ГНПО «НПЦ НАН Беларуси по биоресурсам» № 15 от 30.10.2020 г.)

Диссертация А.А. Волнистого представляется к защите впервые.

Соответствие названия диссертации ее содержанию

Тема диссертации «Генетическая структура популяции благородного оленя в условиях реинтродукции в Беларуси» утверждена на заседании Ученого совета ГНПО «НПЦ НАН Беларуси по биоресурсам» (протокол № 15 от 15.12.2020 г.) и приказом Генерального директора ГНПО «НПЦ НАН Беларуси по биоресурсам» №19 от 24.12.2020. Поскольку тематика диссертационного исследования соискателя была не достаточно конкретизирована, заседанием Совета Д 01.32.01. было рекомендовано уточнить название темы диссертации, изложив ее в следующей формулировке “Филогеография и генетическая структура популяции благородного оленя в условиях его реинтродукции в Беларуси” (протокол № 4 от 12 декабря 2024 года).

Рассматриваемая диссертация содержит в себе решение ряда задач:

определение происхождения белорусской метапопуляции благородного оленя посредством филогеографического анализа на основании полиморфизма нуклеотидных последовательностей митохондриального контрольного региона; выявление уровня генетической структурированности в белорусской метапопуляции благородного оленя с использованием Байесовского анализа полиморфизма микросателлитных локусов; оценка генетического разнообразия в белорусской метапопуляции благородного оленя исходя из полиморфизма микросателлитных локусов и нуклеотидных последовательностей митохондриального контрольного региона; разработка рекомендаций по управлению белорусской метапопуляцией благородного оленя на основании характеристик генетического разнообразия и выявленной генетической структурированности, что свидетельствует о соответствии названия диссертации ее содержанию.

Соответствие содержания диссертации отрасли науки и специальности

Объектом исследования является белорусская метапопуляция благородного оленя *Cervus elaphus*, предметом исследования – происхождение, структурированность и генетическое разнообразие белорусской метапопуляции благородного оленя на основании анализа молекулярно-генетических данных. По своему содержанию, степени новизны положений, выносимых на защиту, полученным результатам и методике проведения исследования работа имеет непосредственное отношение к отрасли биологических наук, поскольку цель исследования состоит в установление филогеографических связей, выявление генетической структурированности и оценка генетического разнообразия белорусской метапопуляции благородного оленя для его сохранения и осуществления эффективного управления ресурсами данного вида. Соответствует отрасли наук, по которой представлена к защите – биологические науки и паспорту специальности 03.02.04 – зоология, утвержденному приказом Высшей аттестационной комиссии №273 от 14 ноября 2023 г.:

1. Систематика. Описание, таксономическая идентификация и классификация животных с использованием морфологических и молекулярно-генетических методов.

2. Фаунистика, фауногенез, зоогеография, филогеография, история формирования фаун. Хорология и динамика ареалов.

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.

8. Эволюционные аспекты зоологии. Формообразование, эволюционная радиация в таксономических группах. Изменчивость фенетических, морфологических и генетических параметров, анализ внутривидовой дифференциации как основы микроэволюционных изменений.

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.

Достоверность результатов проведенных исследований, обоснованность выводов и рекомендаций

Исследования генетической структуры и разнообразия в белорусской популяции благородного оленя проводились автором посредством анализа ядерных ДНК-маркеров и митохондриального ДНК-маркера в репрезентативной выборке образцов генетического материала, собранного на территории Беларуси в период с 2006 по 2023 годы.

Автором проведена обработка генетического материала, изоляция ДНК и амплификация локусов митохондриальных и микросателлитных маркеров, очистка и подготовка ампликонов к секвенированию, определение микросателлитных размеров, сборка нуклеотидных последовательностей, анализ молекулярно-генетических данных, их депонирование в международные базы данных, статистическая обработка и интерпретация результатов.

Генетический материал, задействованный в молекулярно-генетическом анализе, предоставлен Генетическим банком «ГНПО НПЦ НАН Беларуси по биоресурсам».

Тема, цель и задачи исследования сформулированы совместно с научным руководителем. Подготовка рукописи кандидатской диссертации выполнена автором лично при консультации научного руководителя.

В работе была задействована совокупность подходящих методов, в том числе использована методика формирования выборок генетического материала, применены подходы к обработке генетического материала, подобраны генетические маркеры и методики генетического анализа и средства статистического анализа генетических данных.

В исследованиях объясняется, как исходя из поставленных задач была сформирована выборка, включающая 161 пробу генетического материала благородного оленя из всех 5 областей и 36 районов Беларуси для осуществления микросателлитного анализа. В выборку включены образцы от 90 самцов, 36 самок и 35 особей, пол которых неизвестен. Также описывается отдельная выборка образцов для филогеографического анализа. Данная выборка включает 38 проб от особей благородного оленя из 26 районов Беларуси, в том числе пробы от 23 самцов, 7 самок и 8 особей неизвестного пола. Все особи, представленные в выборке для филогеографического анализа, были добыты в период 2016–2023 года. Ввиду использования образцов из различного биологического материала, для изоляции ДНК применялись две методики – из проб мягких тканей и проб рогового материала.

В качестве высоковариабельных ядерных ДНК-маркеров использовались микросателлитные локусы, полиморфизм которых определялся по их размерам. Измерение вариабельности микросателлитных локусов осуществлялось посредством их амплификации с последующим анализом фрагментов. Полученные данные обрабатывались статистически: проводилась их дискретизация (биннинг), проверка на присутствие распространенных артефактов измерения. Проверенные данные использовались для получения характеристик генетического разнообразия и для определения генетической структуры посредством иерархического Байесовского анализа, выполняемых с использованием программ *diveR*sity, *Arlequin*, *STRUCTURE* и *GENETIX*.

Описание генетической структуры дополнено анализом происхождения белорусской популяции благородного оленя посредством анализа последовательностей митохондриального ДНК-маркера.

Нуклеотидные последовательности в свою очередь выравнивались с использованием алгоритма MAFFT 7.490 и референсной последовательности контрольного региона мтДНК благородного оленя. Для полученного выравнивания проводился гаплотипический анализ совместно с выборкой последовательностей контрольного региона мтДНК благородного оленя из различных регионов Евразии, с целью получения филогеографической характеристики белорусской популяции вида. Для определения характеристик генетического разнообразия на основании данных нуклеотидных последовательностей анализируемого маркера использовалось программное обеспечение DNA SP 6.12.03, для построения филогенетических деревьев и классификации особей по генетическим линиям – Байесовский метод с использованием программного обеспечения MrBayes 3.2.6 с 1 000 000 итераций MCMC по модели Hasegawa-Kishino-Yano, и программное обеспечение NETWORK 10.2 по модели соединения соседних гаплотипов (Neighbour-Joining).

Основная часть диссертационной работы изложена на 96 страницах машинописного текста и состоит из шести глав. Приложения составляют 27 страниц. Работа иллюстрирована 12 таблицами и 30 рисунками общим объемом 23 страницы. Библиографический список источников представлен на 24 страницах и включает 265 литературных источников, из них 235 на иностранных языках.

Заключение и выводы по разделам диссертации обоснованы и отражены в 13 научных работах соискателя: 3 статьи (3,1 авторских листа) в научных изданиях, соответствующих п. 19 «Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий в Республике Беларусь», 10 публикаций в сборниках материалов и тезисов докладов конгресса, симпозиума, научных конференций. Общий объем опубликованных материалов составляет 4,7 авторских листа.

Практическая значимость результатов исследования подтверждена актом о внедрении в учебный процесс, а также двумя актами о внедрении в деятельность Республиканского государственного-общественного объединения

«Белорусское общество охотников и рыболовов» для мониторинга показателей генетического разнообразия и генетических линий субпопуляций благородного оленя.

Все вышеперечисленное указывает на обоснованность и достоверность результатов проведенного исследования, сделанных выводов и практических рекомендаций.

Степень новизны научных результатов, выносимых на защиту

В результате исследований соискателем впервые установлены филогеографические связи благородного оленя с мировой популяцией вида с использованием молекулярно-генетических методов. Описана генетическая структура и генетическое разнообразие дикой популяции и осуществлена генетическая паспортизация диких популяционных групп благородного оленя в целях научно-обоснованного управления популяцией вида, что также сделано впервые.

Диссертационная работа выполнена в рамках следующих научных исследований:

1) Базовое задание 2.5 «Создание научных основ управления целевыми признаками популяций редких и хозяйственно-значимых видов животных и растений на основе исследования структурно-функциональной организации их геномов» по теме ГПНИ «Природные ресурсы и окружающая среда» на 2021-2025 гг. «Оценка молекулярно-генетических последствий и связанных с ними рисков при популяционных нарушениях у проблемных ресурсных, биоценотически значимых и редких видов животных» (№ госрегистрации 20210241).

2) Задание П.5.1 «Генетическая паспортизация популяций оленя благородного как основа по формированию и поддержанию высокой степени разнообразия и темпов воспроизводства» ГНТП «Природопользование и экологические риски» на 2016-2020 годы, подпрограмма 01 «Рациональное природопользование и инновационные технологии глубокой переработки природных ресурсов» (№ госрегистрации 20181983).

3) Задание 2.14 «Генетические аспекты микроэволюционных процессов у чужеродных и аборигенных видов животных» подпрограммы 2 «Биоразнообразие, биоресурсы, экология» государственной программы научных исследований «Природопользование и экология» на 2016-2020 годы (№ госрегистрации 20160596).

4) Грант НАН Беларуси «Выявление потока генов марала *Cervus elaphus maral* в западной части белорусской популяции благородного оленя *Cervus elaphus*» по договору № 2023-28-029 (№ госрегистрации 20230843).

Тема диссертационной работы соответствует пункту 3. «Энергетика, строительство, экология и рациональное природопользование» перечня «Приоритетных направлений научных исследований Республики Беларусь на 2021–2025 годы» по Указу Президента Республики Беларусь от 7 мая 2020г.

№156, а также пункту 3.2.9 «Экология и рациональное природопользование» стратегии «Наука и технологии» на 2018–2040 гг.

Научная, практическая, экономическая и социальная значимость исследования

Научная новизна диссертационной работы:

впервые в Беларуси проведено исследование филогеографических связей благородного оленя в структуре евразийской популяции вида с использованием молекулярно-генетических методов и установлены источники формирования популяции на территории страны;

впервые в Беларуси описана генетическая структура и генетическое разнообразие дикой популяции благородного оленя, осуществлена генетическая паспортизация его диких популяционных групп.

Практическая новизна диссертационной работы заключается в использовании разработки «Рекомендации по генетической паспортизации и мечению популяции оленя благородного в системе ООПТ и охотхозяйствах» в учебном процессе на кафедре зоологии биологического факультета при проведении спецпрактикума по учебной дисциплине «Современные технологии генетического мониторинга и управления ресурсами животного мира» для студентов специальности 1-31 01 01 Биология (по направлениям) (акт внедрения от 12.10.2020 г.); генетического паспорта «южной» популяции благородного оленя Республики Беларусь для научно-исследовательских целей РС РГОО «Белорусское общество охотников и рыболовов» (акт внедрения от 01.12.2021 г.); генетического паспорта «центральной» популяции благородного оленя Республики Беларусь для научно-исследовательских целей РС РГОО «Белорусское общество охотников и рыболовов» (акт внедрения от 10.10.2022 г.).

Рекомендации по использованию полученных соискателем научных и практических результатов охватывают все стороны диссертационного исследования, затрагивая его исследовательскую и практическую составляющие. Рекомендации достаточно полно представлены в тексте диссертации и автореферате.

Экономическая и социальная значимость диссертации – не вызывает сомнений и может быть положительно оценена уже по результатам апробации и внедрения.

Апробация диссертации и информация об использовании ее результатов, подтверждающая основные положения и результаты диссертационного исследования

Результаты диссертационного исследования были представлены на 7 республиканских и международных конференциях.

Основные результаты и положения диссертационного исследования доложены и обсуждены на отчетных заседаниях лаборатории молекулярной зоологии ГНПО «НПЦ НАН Беларуси по биоресурсам», а также заседаниях

аттестационной комиссии по итогам обучения в аспирантуре. Основные результаты исследований доложены и обсуждены на II Международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы охраны животного мира в Беларуси и сопредельных регионах», Минск, 2022 г.; Всероссийской конференция «Зоологические коллекции как источник генетических ресурсов мировой фауны – классические и современные подходы к их изучению, хранению и использованию», Санкт-Петербург, 2022 г.; XIX Международной научной конференции «Молодежь в науке», Минск, 2022 г.; V Республиканской научно-практической экологической конференции «Проблемы оценки, мониторинга и сохранения биоразнообразия», Брест, 2023 г.; Международной научно-практической конференции «Современные проблемы охотоведения и сохранения биоразнообразия», Минск, 2023 г.; VII Международной научно-практической конференции «Зоологические чтения», Гродно, 2023 г.; II Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Актуальные проблемы биоразнообразия», Ульяновск, 2023 г.

Полнота изложения научных результатов диссертации в опубликованных работах с указанием количества и характера публикаций

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 конгрессов, симпозиумов, научных конференций.

Основные результаты, выводы и положения, приведенные в диссертации, в полной мере опубликованы в научных работах.

Конкретное личное участие автора в получении научных результатов, представленных в диссертации

Тема, цель и задачи исследования сформулированы совместно с научным руководителем. Подготовка рукописи кандидатской диссертации выполнена автором лично при консультации научного руководителя.

Представление результатов в виде научных работ проводилось соискателем лично, при консультации научного руководителя. Интерпретация и изложение полученных результатов проведены совместно с научным руководителем. Подготовка рукописи кандидатской диссертации выполнена автором лично при консультации научного руководителя.

Автором проведена обработка генетического материала, изоляция ДНК и амплификация локусов митохондриальных и микросателлитных маркеров, очистка и подготовка ампликонов к секвенированию, определение микросателлитных размеров, сборка нуклеотидных последовательностей, анализ молекулярно-генетических данных, их депонирование в международные базы данных, статистическая обработка и интерпретация результатов.

Генетический материал, задействованный в молекулярно-генетическом

анализе, предоставлен Генетическим банком «ГНПО НПЦ НАН Беларуси по биоресурсам».

Выполнение требований п. 24-26 Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий в Республике Беларусь

В диссертационной работе приводятся ссылки на использованные литературные источники и на собственные работы соискателя, в соответствии с требованиями пункта 26 Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий.

Проверка диссертационной работы на корректность использования заимствованных материалов была выполнена в Центральной научной библиотеке Национальной академии наук Беларуси 10.06.2024 с использованием сервиса «Антиплагиат».

Анализ результатов проверки выполнен ведущим научным сотрудником лаборатории наземных беспозвоночных животных ГНПО «НПЦ НАН Беларуси по биоресурсам», кандидатом биологических наук, доцентом О.В. Прищепчиком.

Степень оригинальности текста с учетом корректных заимствований (цитирование – 21,45 %, самоцитирование – 2,37 %) составила 92,46 %.

Соответствие автореферата содержанию диссертации

Автореферат и диссертация написаны на русском языке, в полной мере раскрывают ее содержание. Разделы текста автореферата «Общая характеристика работы», «Основная часть», «Заключение», «Список публикаций соискателя ученой степени» и «Резюме».

Вместе с тем, общее благоприятное впечатление, создающееся при чтении диссертационной работы соискателя, не может не отнести эксперта к некоторым вопросам и замечаниям:

– в разделе 1.1 «История формирования современной популяции благородного оленя» соискатель подробно рассматривает процесс реакклиматизации благородного оленя в Беларуси с 1865 года по настоящее время. Исходя из представленной информации, завоз на территорию Беловежской Пущи оседей осуществлялся из охотохозяйств Польши, Австрии, Российской Федерации, Литвы и Германии. Соискателю следовало бы более четко пояснить, какие генетические линии благородного оленя использовали в качестве племенного материала для восстановления популяции на территории Беларуси;

– в диссертационной работе хорошо представлены результаты молекулярно-генетического анализа европейской популяций благородного оленя в аналитическом обзоре данных, однако отсутствует информация о популяциях благородного оленя в России, что было бы полезно, поскольку племенной материал был завезен в Беловежскую пушчу также и из Российской Федерации. В диссертационной работе уместно смотрелись бы результаты исследования Голосовой Ольги Станиславовны, изучающей структуру и

разнообразии благородного оленя в России по генетическим и акустическим характеристикам;

– поскольку диссертационное исследование сосредоточено на определении происхождения белорусской метапопуляции благородного оленя посредством филогенетического анализа целесообразно его дополнить результатами анализа митохондриального гена цитохрома *b*, что снизит вероятность получения недостоверных данных.

По тексту диссертации имеются немногочисленные опечатки и стилистические ошибки, так например, на страницах 8, 9, 11–16, 22, 28, 34, 37, 40, 41, 54, 67 и другие.

Приведенные замечания носят редакционный либо рекомендательный характер и не снижают общей высокой оценки рассматриваемой диссертационной работы.

Выводы с формулировкой, за что рекомендуется присудить ученую степень кандидата биологических наук в соответствии с полученными научными результатами, совокупность которых позволяет претендовать на присуждение искомой степени

Диссертационная работа А.А. Волнистого «Филогеография и генетическая структура популяции благородного оленя в условиях его реинтродукции в Беларуси» соответствует пунктам 19–22 Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий, утвержденного Указом Президента Республики Беларусь от 17 ноября 2004 г. № 560 и является завершенной научной, квалификационной работой, которая по актуальности, теоретической и практической значимости может быть рекомендована для представления в совет по защите диссертационных работ.

Ученая степень кандидата биологических наук по специальности 03.02.04 – зоология может быть присуждена за:

– определение происхождения белорусской метапопуляции благородного оленя посредством анализа полиморфизма последовательностей митохондриального контрольного региона и установление генетических линий на территории Беларуси, что сделано впервые;

– определение генетической структуры и генетического разнообразия белорусской метапопуляции благородного оленя по результатам микросателлитного анализа, что сделано впервые;

– определение уникальности белорусской метапопуляции по разнообразию гаплогрупп и смешиванию генетических линий благородного оленя, в которой наибольшую роль сыграла западноевропейская наследственность ($\approx 74\%$), при значительно меньшей доле кавказской ($\approx 21\%$), тирренской ($\approx 5\%$) и балканской ($< 5\%$), что сделано впервые;

– установление отсутствия гибридизации благородного оленя *Cervus elaphus* с родственными видами – пятнистым оленем *Cervus nippon* и маралом *Cervus canadensis sibiricus*, обитающими на территории Беларуси;

– рекомендации по управлению белорусской метапопуляцией благородного оленя, разработанные на основании характеристик аллельного богатства ($A_r=14,83$), гаплотипического разнообразия ($H_d=0,651$), нуклеотидного разнообразия ($\pi=0,0112$) и гетерозиготности ($H_o=0,56$; $H_e=0,74$).

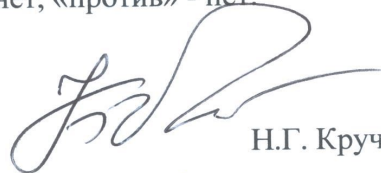
Отзыв составлен и одобрен на основании обсуждения диссертационной работы и автореферата и устного доклада соискателя Волнистого Арсения Андреевича на заседании научного собрания по биологическим и сельскохозяйственным наукам (протокол №1 от 7 февраля 2025 года).

Приказом ректора УО «ПолесГУ» № 65 от 28.01.2025 г. экспертом назначен кандидат биологических наук, доцент, доцент кафедры биотехнологии «Полесский государственный университет» Воробьева Мария Михайловна.

На заседании присутствовало 23 человека, из них 1 доктор биологических наук, 1 доктор медицинских наук, 2 доктора сельскохозяйственных наук, 7 кандидатов биологических наук, 7 кандидатов сельскохозяйственных наук, 1 кандидат ветеринарных наук, 4 человека без степени.

Голосовали: «за» - 19, в том числе 1 доктор биологических наук, 1 доктор медицинских наук, 2 доктора сельскохозяйственных наук, 7 кандидатов биологических наук, 7 кандидатов сельскохозяйственных наук, 1 кандидат ветеринарных наук; «воздержались» - нет, «против» - нет.

Председательствующий на заседании
научного собрания
доктор медицинских наук, профессор



Н.Г. Кручинский

Эксперт
кандидат биологических наук, доцент



М.М. Воробьева

Секретарь научного собрания,
кандидат биологических наук, доцент



С.Н. Лекунович

7 февраля 2025 года

Подписи Н.Г. Кручинского, М.М. Воробьевой и С.Н. Лекунович удостоверяю: начальник отдела правовой и кадровой работы учреждения образования «Полесский государственный университет»

07.02.2025 г.



Н.М. Лира