

УТВЕРЖДАЮ
Директор ГНУ «Институт леса НАН
Беларуси»

А.Н.Никитин
«19» _____ 2026 г.

ОТЗЫВ

оппонирующей организации на диссертационную работу Гребенчук Александры Евгеньевны «Анализ молекулярно-генетического полиморфизма в семействе Псовые (*Canidae*) для решения судебно-экспертных задач», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.07 – «молекулярная генетика»

Соответствие содержания диссертации заявленной специальности и отрасли науки со ссылкой на область исследования паспорта соответствующей специальности, утвержденного ВАК.

Диссертационная работа Гребенчук А.Е. посвящена решению важной задачи молекулярной генетики в области судебно-генетических экспертиз – установлению молекулярно-генетических критериев для дифференциации видов (подвидов) и внутривидовой идентификации семейства Псовые (*Canidae*) с учетом процессов интрогрессивной гибридизации.

Представители семейства Псовые (*Canidae*) занимают ключевое положение в наземных экосистемах, выполняя важные регуляторные функции, и одновременно имеют высокое экономическое значение как объекты пушного звероводства и охотничьего хозяйства. Вместе с тем, всё более актуальной становится и криминалистическая составляющая: сами представители семейства Псовых могут быть задействованы в правонарушениях (нападения на людей и сельскохозяйственных животных), а в отношении них нередко совершаются противоправные действия – незаконная охота, браконьерство, нелегальная торговля и пр. Параллельно с этим обостряется и фундаментальная проблема гибридизации между дикими видами и их подвидами, а также одомашненными (фермерскими) формами. Традиционные молекулярно-генетические методы на основе анализа митохондриальной ДНК в отношении отдельных групп животных не позволяют надёжно дифференцировать виды, их гибридные формы и особей с интрогрессией. В настоящее время в мировой практике применяются отдельные подходы к ДНК-типированию представителей семейства Псовых, однако большинство из них либо недостаточно информативны для выявления гибридов, либо не адаптированы для судебно-экспертных задач. Проведение комплексной диагностики с использованием варибельных ядерных маркеров

(микросателлитов) и методов определения копийности генов, позволяет значительно повысить надёжность идентификации.

Целью работы являлось – оценить генетический полиморфизм и структуру популяций представителей семейства Псовые, на основе полученных результатов разработать технологии межвидовой ДНК-дифференциации видов (подвидов) и внутривидовой идентификации отдельных особей волка евразийского, собаки домашней, собаки енотовидной и лисицы обыкновенной и создать методическое и информационно-справочное обеспечение для использования в судебной экспертизе объектов животного происхождения.

В рамках диссертационной работы Гребенчук А.Е. получены следующие результаты:

- по результатам скрининга 70 аутомных микросателлитных локусов и полоспецифичных генов отобраны 6 STR-локусов и два маркера детерминации пола для внутривидовой ДНК-идентификации и установления половой принадлежности псовых;

- исследован внутривидовой и межвидовой полиморфизм аутомных STR-локусов представителей семейства Псовые и проведен анализ генетического разнообразия и генетической структуры природных популяций диких видов псовых, обитающих в Беларуси, который выявил высокий уровень их гомогенности, наличие панмиксии и мутационно-дрейфового равновесия;

- проведена оценка вариабельности количества копий гена альфа-амилазы (*Amy2b*) у диких и домашнего представителей семейства Псовые, установлена полная консервативность последовательности ДНК-локуса *Amy2b* исследованных видов. Показана дифференциация между подвидами волка евразийского и собаки домашней на основе численного значения количества копий гена *Amy2b*;

- разработаны технологии ДНК-дифференциации волка евразийского, собаки домашней, собаки енотовидной и лисицы обыкновенной, технология внутривидовой ДНК-идентификации псовых, а также методики судебно-экспертной ДНК-идентификации биологических образцов представителей семейства Псовые, обитающих и разводимых в Беларуси, методика дифференциации волка евразийского и собаки домашней.

При выполнении экспериментальных работ Гребенчук А.Е. широко применялись современные методы молекулярно-генетического анализа, которые включали: выделение нуклеиновых кислот, постановку полимеразной цепной реакции (ПЦР), включая цифровую капельную ПЦР и количественную ПЦР, с последующим анализом результатов генотипирования, конструирование мультилокусных композиций, секвенирование по Сэнгеру, статистический анализ данных.

Таким образом, содержание диссертационной работы Гребенчук А.Е. соответствует паспорту специальности 03.01.07 – «молекулярная генетика»

(п. 7. Повторяющиеся последовательности ДНК, транспозоны, ретротранспозоны. Их использование в молекулярно-генетических исследованиях; п. 8. ДНК маркеры. Методы молекулярно-генетического картирования геномов; п.9. Молекулярные механизмы эволюции геномов, генетический полиморфизм; п. 12. Секвенирование ДНК, генов, геномов; п. 19. ДНК-типирование микроорганизмов, растений и животных).

Научный вклад соискателя в решение научной задачи с оценкой его значимости.

Диссертационная работа Гребенчук А.Е. вносит существенный научный вклад в решение судебно-экспертных задач на основе использования молекулярно-генетических критериев для дифференциации видов (подвидов) и внутривидовой идентификации семейства Псовые (*Canidae*). Впервые для Беларуси на обширном материале (более 1000 образцов, включая дикие популяции, обитающие и разводимые в Беларуси волка евразийского, собаки домашней, рыжей (дикой) и черно-бурой (фермерской) морф лисицы обыкновенной, песца обыкновенного, собаки енотовидной, гибридных особей евразийского и собаки домашней, а также выборки лисицы обыкновенной из Шотландии и волка евразийского из Австрии, шакала золотистого, красного волка, гиеновидной собаки и дикой собаки Динго) проведён комплексный анализ генетического полиморфизма с использованием 70 аутосомных микросателлитных локусов, 4 локусов половой принадлежности и варибельной копияности гена альфа-амилазы (*Amy2b*). На основе анализа варибельности гена *Amy2b* отмечен факт гибридизации волка евразийского и собаки домашней. Нуклеотидные последовательности большинства изученных аллельных вариантов STR-локусов для белорусских популяций Псовых были охарактеризованы впервые, что в совокупности вносит существенный вклад в генетику семейства *Canidae*.

Соискателем установлен факт отсутствия пространственно-генетической подразделённости для волка евразийского и лисицы обыкновенной не только на территории Беларуси, но и в сравнении с другими регионами Европы, что указывает на эффективную панмиксию и генетическое единство популяций. Для интродуцированной енотовидной собаки впервые охарактеризован уровень полиморфизма, типичный для популяций, возникших в результате интродукции. На основе полученных данных разработаны, валидированы и внедрены в практику оригинальные тест-системы (CPlex, VPlex, NPlex, CDplex и Canis-RT), позволяющие с высокой достоверностью проводить внутривидовую ДНК-идентификацию с установлением половой принадлежности псовых, а также ДНК-дифференциацию волка евразийского и собаки домашней (и их гибридов), лисицы обыкновенной и енотовидной собаки. Вышесказанное обуславливает

практическую, социальную и экономическую значимость диссертационной работы для судебно-экспертной деятельности, охраны животного мира, популяционной и ветеринарной генетики.

Конкретные научные результаты (с указанием их новизны и практической значимости), за которые соискателю может быть присуждена искомая ученая степень.

Руководствуясь пунктами 20-21 Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий, автору диссертационной работы «Анализ молекулярно-генетического полиморфизма в семействе Псовые (*Canidae*) для решения судебно-экспертных задач» Гребенчук А.Е. может быть присуждена ученая степень кандидата биологических наук по специальности 03.01.07 – «молекулярная генетика» за новые научно обоснованные результаты исследований, включающие:

- комплексное исследование популяций диких и домашних псовых с использованием 70 STR-локусов и гена *Amy2b*, анализ генетического разнообразия и генетической структуры белорусских популяций волка евразийского, собаки домашней, лисицы обыкновенной и собаки енотовидной, по результатам которого выявлен высокий уровень их гомогенности, наличие панмиксии и мутационно-дрейфового равновесия;

- разработку и внедрение в судебно-экспертную практику инновационных технологий экспертного ДНК-генотипирования псовых, включающие тест-системы для идентификации особей (волк евразийский / собака домашняя, лисица обыкновенная, собака енотовидная), тест-систему для дифференциации видов псовых и тест-систему ДНК-дифференциации волка евразийского и собаки домашней, включая идентификацию гибридных особей первого поколения;

- разработку информационно-статистических комплексов для автоматизированного анализа генетических данных псовых, установление коэффициентов подразделенности популяций (θ -value) с учетом инбредных и гибридных особей, необходимых для оценки значения уровня достоверности идентификационного криминалистического исследования.

Соответствие научной квалификации соискателя ученой степени, на которую он претендует.

Основные научные результаты исследований, представленные в диссертационной работе, получены и проанализированы лично соискателем.

Работа выполнена с применением современных молекулярно-генетических методов исследования. Результаты диссертационной работы, сформулированные на их основе выводы и положения, выносимые на защиту,

обсуждены на 8 международных научных и научно-практических конференциях и отражены в 28 печатных работах, 5 из которых опубликованы в изданиях, соответствующих требованиям п. 19 Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий.

На основе комплексного молекулярно-генетического анализа популяций диких и домашних псовых с использованием 70 аутосомных микросателлитных локусов, 4 локусов половой принадлежности и гена *Amy2b* разработаны и изданы методики видовой ДНК-дифференциации представителей семейства Псовые, ДНК-дифференциации волка и собаки, а также методики внутривидовой ДНК-идентификации биологических образцов волка и собаки, собаки енотовидной и лисицы. Разработанные методики включены в Реестр методических материалов в сфере судебно-экспертной деятельности Государственного комитета судебных экспертиз Республики Беларусь, что соответствует практической реализации разработок в национальной правовой системе.

Гребенчук А.Е. получены 2 патента на изобретение: «Способ и тест-система для видовой ДНК-идентификации биологических образцов представителей семейства псовых методом ПЦР» под № 24445 и «Способ дифференциации биологического материала животного, относящегося к семейству псовых, методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени» под № 24287, предназначенных для проведения судебных экспертиз объектов животного происхождения.

Диссертация и автореферат оформлены согласно инструкции, утвержденной постановлением Президиума ВАК Республики Беларусь от 28.02.2014 № 3 (в редакции постановления ВАК Республики Беларусь от 22.08.2022 № 5) и в соответствии с приказами ВАК Республики Беларусь. Содержание автореферата в целом соответствует содержанию диссертации.

Представленная диссертационная работа выполнена на высоком научном уровне, характеризуется научной новизной, полученные результаты являются теоретически и практически значимыми, что дает основание утверждать о соответствии научной квалификации Гребенчук А.Е. ученой степени кандидата биологических наук.

Рекомендации по практическому использованию результатов диссертации.

1. Изданы методики видовой ДНК-дифференциации представителей семейства Псовые, ДНК-дифференциации волка и собаки, а также методики внутривидовой ДНК-идентификации биологических образцов волка и собаки, собаки енотовидной и лисицы. Разработаны методики и автоматизированные средства расчета уровня достоверности экспертного вывода при установлении принадлежности образца к волку, собаке или их гибридам в идентификационном

исследовании и установлении биологического родства животных. Все методики включены в Реестр методических материалов в сфере судебно-экспертной деятельности Государственного комитета судебных экспертиз Республики Беларусь, что соответствует имплементации разработок в национальную правовую систему.

2. Получены 2 патента на изобретение: «Способ и тест-система для видовой ДНК-идентификации биологических образцов представителей семейства псовых методом ПЦР» под № 24445 и «Способ дифференциации биологического материала животного, относящегося к семейству псовых, методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени» под № 24287, предназначенные для проведения судебных экспертиз объектов животного происхождения.

3. Полученные научные сведения рекомендуется применять в системе ведения охотничьего хозяйства, при мониторинге состояния и численности диких стай, выявлении уровня гибридизации, а также при мониторинге соблюдения правил содержания домашних животных и генетических технологий разведения животных на зверофермах.

Таким образом, результаты, полученные в ходе выполнения данного диссертационного исследования, рекомендуются для использования в сфере судебно-экспертной деятельности Государственного комитета судебных экспертиз Республики Беларусь, также могут быть использованы в системе ведения охотничьего хозяйства Министерства лесного хозяйства Республики Беларусь при мониторинге состояния и численности представителей семейства Псовые, в учреждениях Национальной академии наук Беларуси для проведения популяционно-генетических исследований и высших учебных заведениях соответствующего профиля для ознакомления обучающихся с современными молекулярно-генетическими методами ДНК-идентификации и установления половой принадлежности на примере представителей семейства Псовые.

В качестве замечания по диссертации, необходимо отметить следующее:

1. В работе недостаточно раскрыта причина высокой дифференциации генофонда между белорусскими выборками дикой и фермерской морф лисицы обыкновенной, и низкой вариацией между белорусской и шотландской выборками. Выраженная дивергенция требует обоснования в контексте эффекта основателя, дрейфа генов в закрытых популяциях зверохозяйств и специфики микросателлитных маркеров.

2. В тексте диссертационной работы и автореферате некоторые рисунки (1.1 – 1.4 в тексте диссертации; рисунок на стр.8 в автореферате) низкого качества и мелкие детали мало разборчивы при чтении.

3. В тексте диссертационной работы на стр. 22 не приведены названия 26 STR-локусов, используемых в работе М. Akesson с соавторами, что требует обращения к самой публикации при анализе результатов.

4. В тексте диссертационной работы присутствуют стилистические неточности.

Следует подчеркнуть, что данные замечания носят рекомендательный характер и не влияют на высокую положительную оценку работы в целом.

Заключение

Диссертационная работа Гребенчук Александры Евгеньевны представляет собой завершённое квалификационное исследование, содержащее оригинальный экспериментальный материал. Работа по теоретическому уровню выполнения, современным методам исследований, объёму проведенных работ и значимости полученных результатов отвечает требованиям, предъявляемым ВАК Беларуси к кандидатским диссертациям.

Руководствуясь пп. 20-21 Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий, автору диссертационной работы «Анализ молекулярно-генетического полиморфизма в семействе Псовые (*Canidae*) для решения судебно-экспертных задач» Гребенчук А.Е. может быть присуждена ученая степень кандидата биологических наук по специальности 03.01.07 – «молекулярная генетика» за совокупность новых научно обоснованных результатов, включающих:

– комплексное исследование популяций диких и домашних псовых с использованием 70 STR-локусов и гена *Amy2b*, анализ генетического разнообразия и генетической структуры белорусских популяций волка евразийского, собаки домашней, лисицы обыкновенной и собаки енотовидной, по результатам которого выявлен высокий уровень их гомогенности, наличие панмиксии и мутационно-дрейфового равновесия;

– разработку и внедрение в судебно-экспертную практику инновационных технологий экспертного ДНК-генотипирования псовых, включающие тест-системы для идентификации особей (волк евразийский / собака домашняя, лисица обыкновенная, собака енотовидная), тест-систему для дифференциации видов псовых и тест-систему ДНК-дифференциации волка евразийского и собаки домашней, включая идентификацию гибридных особей первого поколения;

– разработку информационно-статистических комплексов для автоматизированного анализа генетических данных псовых, установление коэффициентов подразделенности популяций (θ -value) с учетом инбредных и гибридных особей, необходимых для оценки значения уровня достоверности идентификационного криминалистического исследования.

Отзыв составлен на основе всестороннего анализа материалов представленной диссертационной работы и устного доклада соискателя и одобрен на расширенном заседании Ученого совета Института леса НАН Беларуси (протокол № 8 от 19.05.2026), состоявшемся на основании приказа директора № 24 от 30.04.2026.

На заседании присутствовало 15 сотрудников института, имеющих ученую степень, из них докторов наук – 2: чл.-корр. НАН Беларуси, д.б.н., профессор Падутов В.Е. (03.02.07, 06.03.01); д.с.-х.н., профессор Копытков В.В. (06.03.01); кандидатов наук – 13: к.б.н., доцент Можаровская Л.В. (03.02.07); к.с.-х.н. Никитин А.Н. (06.03.02); к.с.-х.н., доцент Ковалевич А.И. (06.03.01); к.с.-х.н., доцент Бордок И.В. (06.03.02); к.с.-х.н., доцент Коваленко С.А. (06.02.08); к.б.н. Кончиц А.П. (06.03.01); к.б.н., доцент Пантелеев С.В. (06.03.01); к.б.н., доцент Разумова О.А. (06.03.01); к.б.н., доцент Севницкая Н.Л. (06.01.07); к.с.-х.н., доцент Сидор А.И. (06.03.01); к.б.н., доцент Ивановская С.И. (06.03.01); к.б.н., доцент Маркевич Т.С. (06.03.01); к.б.н., доцент Острикова М.Я. (06.03.01).

При открытом голосовании: за – 15, против – нет, воздержались – нет.

Председатель расширенного заседания
Ученого совета,
директор Института леса НАН Беларуси,
кандидат сельскохозяйственных наук

А.Н.Никитин

Эксперт,
ученый секретарь
Института леса НАН Беларуси,
кандидат биологических наук, доцент

Л.В.Можаровская

Секретарь расширенного заседания
Ученого совета,
научный сотрудник лаборатории селекции,
семеноводства и сохранения генетических
ресурсов леса
Института леса НАН Беларуси

А.П.Сачек



19.05.2026