

Отзыв официального оппонента
на диссертацию Голубевой Евгении Павловны
**«Зараженность медоносных пчёл
микроспоридиями рода *Nosema* в Томской области»**,
представленной на соискание учёной степени
кандидата биологических наук по специальности 03.02.04 – Зоология.

Среди возбудителей нозематоза медоносных пчёл известно три вида микроспоридий. Формально все они относятся к роду *Nosema*, при этом для двух из них, *Nosema apis* и *Nosema ceranae*, отмечено глобальное распространение, то есть встречаемость на всех континентах, за исключением Антарктиды, где пчеловодство не распространено и дикие пчёлы не обитают (Fries, 2010). Общеизвестен тот факт, что нозематоз относится к опасным болезням пчёл и требует пристального внимания со стороны как пчеловодов-практиков, так и учёных - специалистов в области зоологии, сельскохозяйственной энтомологии и ветеринарии. Работами последних нескольких лет показано широкое распространение *N. apis* и *N. ceranae* в различных регионах Европейской и Азиатской частей России с преобладанием второго паразита в районах с более теплым климатом (Игнатьева и др., 2012), что соответствует общемировым тенденциям.

В связи с этим рассматриваемая работа характеризуется высоким уровнем **актуальности**, поскольку посвящена анализу зараженности медоносной пчелы в Томской области, где до сих пор, судя по информации, приведённой в диссертации (с. 5), систематические исследования этого вопроса не проводились и видовой состав паразитов не изучался. Диссертация изложена на 143 страницах, состоит из введения, 4 глав основной части, заключения, списка литературы и 1 приложения, содержит 16 рисунков и 29 таблиц. В ней приведён значительный по объёму материал, содержащий определённый уровень **научной новизны**, который, хоть и носит региональное значение (новые сведения о видовом составе, распространённости и сезонной динамики заражения пчёл возбудителями нозематоза ограничены рядом районов Томской области), можно признать удовлетворительным, поскольку диссертационная работа по нозематозу медоносной пчелы, учитывающая видовой состав микроспоридий, защищается в России, насколько мне известно, впервые.

В то же время, нельзя не отметить ряд слабых сторон работы, достойных того, чтобы стать предметом дискуссии во время защиты.

1. Обнаружив в нескольких пробах споры микроспоридий и не получив положительного сигнала при ПЦР анализе с помощью дуплексной смеси праймеров, специфичных к двум видам микроспоридий, автор делает предположение о присутствии на пасеках Томской области третьего вида микроспоридий. Мнение автора о том, что данный случай аналогичен ситуации в Уганде (с. 96), вряд ли может быть признано валидным, поскольку в работе Chemurot et al. (2017) новый вид микроспоридий описан на основе не ложноотрицательных результатов ПЦР, а особенностей тонкого строения клеток паразита и нуклеотидной последовательности гена, кодирующего малую субъединицу рибосомальной РНК. В связи с этим не вполне понятно, почему, зная о наличии трёх видов микроспоридий, заражающих медоносных пчёл (что указывает на теоретическую возможность существования и других видов паразитов, особенно в географических областях, где ранее исследования видового состава не проводились), авторы применяли систему, позволяющую диагностировать только два из них, и не использовали менее узкоспецифичные праймеры, тем более, что в их распоряжении имелась возможность секвенирования амплифицированных фрагментов геномной ДНК. Очевидно, что данная часть работы носит незаконченный характер, а сделанное заключение ничем не обосновано.

2. Описывая методику оценки зараженности пчелиных семей клещом *Varroa*, диссертант указывает, что в качестве биологического материала использовался «в основном подмор рабочих пчел». Поскольку клещ варроа - облигатный паразит, питающийся гемолимфой живых пчёл, использованная в работе методика ГУВ МСХ СССР (1984), разработана для оценки зараженности живых пчёл, и хотя в ней есть фраза «этим методом можно диагностировать варроатоз также и в ветеринарных лабораториях при исследовании проб погибших пчел», использовать подморы для целей научного исследования, направленного на выявление закономерностей взаимоотношений облигатных паразитов различных групп при совместном заражении насекомых, не представляется методически корректным.

3. Выявив различия по показателям зараженности пчёл микроспоридиями между южными и северными районами, диссертант приводит и возможное объяснение: «Полученные различные результаты по зараженности пасек северных и южных районов могут быть связаны с меньшим количеством изученных пасек и пчелосемей в северных районах области по сравнению с южными». Несмотря на то, что полученный результат, по мнению автора работы, может быть артефактом исследования, это не помешало ему сделать соответствующее заключение (вывод № 2, с. 106).

4. Пытаясь проанализировать причины заболеваемости нозематозом пчёл на исследованных пасеках, автор сообщает: «согласно данным пчеловодов микроспоридии *N. ceranae* были выявлены у медоносных пчел вскоре после завоза новых семей». Данная фраза способна ввести в заблуждение неподготовленного читателя, который может воспринять это как информацию о том, что микроспоридии *N. ceranae* были выявлены по данным пчеловодов. Факт выявления нозематоза может объясняться завозом уже зараженных семей, но, поскольку при завозе новые семьи не проверялись на присутствие микроспоридий, а нозематоз (без опреде, по данным, приведённым в работе, встречался в Томской области и раньше (с. 5), нельзя однозначно утверждать, как это сделано в диссертации: «следовательно, одной из причин является завоз».

5. На с. 97 сказано следующее: «Таким образом, согласно полученным данным метод ПЦР является высоко информативным и имеет значительные преимущества по сравнению с классическим методом световой микроскопии». Затем приводится ряд сведений о том, что «метод микроскопии не всегда позволяет выявить спорую форму *Nosema* на начальном этапе развития болезни» (с. 98-99), «метод световой микроскопии не позволяет идентифицировать вид возбудителя», «Исследование того же материала методом ПЦР, выявило присутствие возбудителя нозематоза во всех образцах» (с. 99) (авторская стилистика и пунктуация сохранены), и сразу после этого сделан следующий вывод: «Таким образом, несмотря на высокое разрешение метода ПЦР при диагностике нозематоза, особенно видовой принадлежности возбудителя, микроскопический метод необходим при первичном анализе пчелиных семей на пасеках», хотя необходимость микроскопического анализа в предшествующем тексте никак не продемонстрирована и ничем не обоснована.

6. Как указано в выводе № 1, «Зараженность медоносных пчел в Томской области микроспоридиями р. *Nosema* возросла с 0% в 2012 г. до 70% в 2017 г.» Данный размах варьирования показателей зараженности с течением времени не позволяет утверждать, как это сделано в выводе № 2, что «более 50% пчелиных семей и пасек Томской области заражены нозематозом» (авторская стилистика сохранена), поскольку данное заключение справедливо лишь для короткого периода времени (2016-2017 гг.). Автор указывает, что нозематоз выявлялся в Томской области и ранее 2012 г., то есть изменение зараженности в многолетней динамике возможно как в сторону увеличения (что наблюдалось с 2012 по 2017 гг.), так и уменьшения (что привело к нулевым значениям в 2012 г.). К сожалению, кроме сообщения о том, что ранее полученные результаты фрагментарны, диссертант не приводит данных об уровнях зараженности пчёл нозематозом, зарегистрированных ранее в Томской области.

Помимо указанных проблем, следует отметить, что хотя работа в целом и носит законченный характер, её оформление оставляет желать лучшего. В ней много неточностей, смысловых, стилистических и грамматических ошибок, а знаки препинания расставлены в стиле «казнить нельзя помиловать». Выражения «диплокария» (с. 15) и «инцистирование, которое инициирует формирование спор» (с. 18) свидетельствуют о слабом знании автором биологической терминологии и/или особенностей биологии микроспоридий. Фраза «паразито-хозяйинных отношений “микроспоридии – медоносная пчела”, а также “микроспоридии – другие возбудители болезней медоносной пчелы”» (с. 7) не соответствует результатам работы, так как паразито-хозяйинные отношения между микроспоридиями и другими патогенами пчёл (например, заражение клеща *Varroa* микроспоридиями р. *Nosema*) в ней не были зафиксированы.

Далеко не всегда последовательно и логично выстроено изложение материала, как литературного, так и собственного. Например, автор заявляет, что «на территории России исследования зараженности микроспоридиями рода *Nosema* пчелиных семей и пасек относительно немногочисленны» и приводит ссылки на 15 печатных работ, хотя анализ открытых ресурсов (включая список цитируемой литературы рассматриваемой диссертации) показывает, что таких работ значительно больше. При этом утверждение о том, что «на пасеках России установлено ежегодное увеличение количества пчелиных семей, зараженных микроспоридией *N. ceranae*» (с. 38), не подкреплено ссылками на литературу.

Сведения, приведённые в автореферате и диссертации, не всегда совпадают; так, если в автореферате указано, что из 213 источников литературы 155 опубликовано на иностранных языках, однако в самой диссертации в списке процитированных работ приведено 66 наименований публикаций на русском языке, что в сумме со 155 даёт 221.

Целый ряд словосочетаний указывает на не вполне уверенное владение нормами литературного языка и научной терминологией («возбудители *Nosema*», «пасеки заражены спорами», «признаки болезни, характерные для *N. apis*», «заражённость возросла за счёт варианта», «динамика ... изменялась», «заражённость пасек видами», «изменение процента», «выявлена высокая регистрация», «наблюдается значительное снижение количества расплода (до 44%) и продуктивность», «идентичность результатов ... составляет 66.7 %», «наблюдалось как увеличение, так и количества», «патогенность спор»), а отдельные фразы выглядят как бессмысленный набор слов: «Количества проводимых исследований недостаточно для корректной оценки эпизоотологической на пасеках области» (с. 5); «Перед методами Сезонная

динамика микроспоридий р. *Nosema*» (с. 28). Примеры отсутствия согласования между членами предложения не привожу с целью экономии времени.

Имеются недочёты и в оформлении иллюстративного материала. В частности, в авторской подписи к рисункам 1 и 2 наименование таксона *Nosema neitanni* неожиданно сопровождается аббревиатурой «n. sp.», то есть новый вид, хотя он описан не в диссертации Голубевой Е.П., а в другой работе, на которую дана ссылка. Легенда рисунка 12 содержит обозначение на иностранном языке, не имеющее перевода («no infection»). Таблица 5, несмотря на своё название («Характеристика пасек...»), не содержит каких либо характеристик, кроме названия населённого пункта. Аналогично, в автореферате, говоря о материале, использованном в исследованиях на нозематоз, автор ссылается на Таблицу 1, в которой, однако, приведены данные об исследованиях на варроатоз, бактериозы и микозы, но нет информации о нозематозе.

В целом, несмотря на выявленные замечания, рассмотренная работа удовлетворяет минимальным требованиям п. 9 «Положения о присуждении ученых степеней» (Постановление Правительства РФ N 842 от 24 сентября 2013 г.), предъявляемым ВАК Министерства образования и науки РФ к кандидатским диссертациям, а её автор, Голубева Евгения Павловна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.04 - Зоология.

Официальный оппонент

ведущий научный сотрудник лаборатории микробиологической защиты растений Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений», доктор биологических наук (03.02.05 – Энтомология; 03.02.11 – Паразитология), профессор РАН

Токарев Юрий Сергеевич
тел. +7 (812) 4704384
ytokarev@vizr.spb.ru

04.12.2018

196608, Санкт-Петербург,
г. Пушкин, ш. Подбельского, д. 3
Телефон: +7 (812) 470-51-10
E-mail: info@vizr.spb.ru
http://vizrspb.ru

