

УТВЕРЖДАЮ

Директор Института проблем экологии

и эволюции им. А.Н. Северцова РАН,

академик РАН

В. В. Рожнов

« 03 » декабря 2018 г.



ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

на диссертацию Татьяны Николаевны Киреевой

«Морфометрическое и генетическое разнообразие

медоносной пчелы *Apis mellifera* L. в Томской области»,

представленную на соискание ученой степени

кандидата биологических наук по специальности 03.02.04 – Зоология

Диссертация посвящена выявлению биологического разнообразия медоносной пчелы *Apis mellifera*, обитающей на территории Томской области, по морфометрическим и молекулярно-генетическим маркерам.

Актуальность работы определяется значимостью объекта исследования – медоносной пчелы. Медоносная пчела способствует получению максимальных урожаев, благоприятствует семеноводству, является производителем специфических продуктов пчеловодства. В связи с этим медоносная пчела является важным элементом почти всех наземных экосистем и одной из основ продовольственной безопасности. В то же время из-за деструктивных процессов, протекающих в популяциях пчелы, в том числе массовой гибели и гибридизации семей, снижается уровень приспособленности медоносных пчел к факторам окружающей среды, а темная лесная пчела *A. m. mellifera* признана подвидом, который находится под угрозой полного исчезновения. Успех в сохранении генофонда *A. mellifera* может быть достигнут только при четкой идентификации породной принадлежности исследуемых пчел с применением комплекса различных методов. Однако в условиях Томской области комплексный анализ пасек и пчелиных семей в регионе ранее не проводился.

Работа состоит из введения, четырех глав, заключения, списков условных обозначений и сокращений, терминов и определений, литературы, приложения. Общий объем диссертации – 163 стр., список литературы включает 287 названий, из них на русском языке – 154.

Во введении раскрыта актуальность исследования пчел Томской области комплексным методом в аспекте их межпородной гибридизации, снижения качества пчелиных семей, утраты генофонда среднерусской породы. Новизна работы заключается в представлении сведений о породном составе медоносных пчел *A. mellifera*, обитающих на территории Томской области, с использованием данных вариабельности митохондриального ДНК-маркера, выявлению генетического разнообразия по комплексу маркеров ядерного генома, определению роли экологического компонента в формировании генетического разнообразия популяций медоносных пчел на пасеках Томской области и выявлению локальных популяций *A. m. mellifera*, генетическое разнообразие которых описано с использованием комплекса микросателлитных локусов. Работа построена на решении 5 поставленных диссертантом задач.

В главе 1, посвященной обзору известной литературы по вопросам породности пчел, их распространению в мире и на территории России, методам установления породности пчел, генетическому разнообразию пчел, в доступной форме приведен материал, позволяющий оценить необходимость исследований и методы, позволяющие добиться требуемого результата. Литературный обзор включает анализ как современных, так и классических исследований по пчелам. В двух таблицах (данные по европейским государствам и России) приводится список микросателлитных локусов, изученных в отношении их изменчивости. В качестве промежуточного вывода из обзора указано, что необходима разработка диагностических ДНК-маркеров ядерного генома, в частности микросателлитных локусов (стр. 53). Заключается обзор выводом о необходимости проведения исследований медоносной пчелы, обитающей на территории Томской области,

по изучению распространения подвидов медоносной пчелы на пасеках области, оценке уровня гибридизации между среднерусской пчелой и породами южного происхождения, поиску и изучению популяций (пасек), где обитает среднерусская пчела *A. m. mellifera*.

В главе 2 подробно описаны районы исследования, методы работы с материалом, использованные статистические методы. В приведенном алгоритме исследования пчел Томской области (рис. 11) указано, что маркеры ядерного генома использованы только для оценки генетического разнообразия, а морфометрические показатели и мтДНК-маркеры – для определения породности пчел. Исходя из литературного обзора, микросателлитные локусы могут использоваться в качестве маркеров породы. Непонятно, почему проанализированные в работе диссертантом микросателлитные локусы не предполагается рассматривать как один из аспектов породных особенностей пчел Томской области. В разделе «Анализ вариабельности микросателлитных локусов» не объяснен принцип выбора использованных 10 локусов.

Основные результаты работы изложены в главах 3 и 4. В главе 3 изложены результаты исследований по мтДНК маркерам и морфометрическим параметрам.

В разделе 3.1. разнообразие медоносных пчел по локусу COI–COII мтДНК отражено в процентном отношении по 331 пчелиной семье из 33 мест сбора материала. Выделены семьи, имеющие происхождение от среднерусской породы, определена их генетическая гетерогенность. Выявлены варианты (в %) гетерогенности в семьях смешанного состава. Отдельная часть работы посвящена изучению генетической гетерогенности 65 пасек Томской области и выявлены варианты локуса COI–COII мтДНК, характерные как для среднерусской породы, так и для «южных» пород. Завершается раздел анализом географической дифференциации пчелиных семей по локусу COI–COII мтДНК, т.е. конкретизацией распределения выше полученных результатов по местам сбора.

Раздел 3.2. посвящен изменчивости трех пороодо-определяющих морфометрических показателей пчел. Установлен процент пчелиных семей, соответствующих стандарту определенной породы или гибридам разного происхождения. Исследована географическая локализация пасек и степень чистопородности и, таким образом, выявлены особенности географического распределения пчелиных семей (пчел) разного происхождения.

Общий вывод раздела состоит в том, что, согласно данным морфометрического анализа, на пасеках Томской области идентифицированы семьи среднерусской породы и пород южного происхождения (карпатской, кавказской). На стр. 82 указано, что «неожиданным было выявление пчел (8,72 % особей от общего числа исследованных), соответствующих стандарту серой горной кавказской породы». К сожалению, в предыдущих разделах нет данных о вкладе серой горной кавказской породы в гетерогенность пасек и семей по мтДНК критериям породности. Возможно, недочетом работы является отсутствие информации от пчеловодов по исходной породности пасеки, что помогло бы в расшифровке проблемы гетерогенности и вкладе разных пород.

Раздел 3.3 посвящен характеристике процесса гибридизации пчел. Сравнительный анализ групп пчел с вариантами мтДНК, характерными для среднерусской породы, показал различия в значениях кубитального и гантельного индексов. Анализ кривых распределения значений кубитального и гантельного индексов для подгрупп RQQ/Q и RQQQ/RQQ/Q выявил несоответствие их нормальному распределению, что указывает на влияние «южных» пород. По результатам раздела можно сделать вывод о том, что в ряде случаев есть статистически значимые различия между морфометрическими показателями для чистых и гибридных линий. Однако в выводе раздела указывается, что не установлено зависимости между данными мтДНК анализа и морфометрического исследования между морфометрическими показателями (кубитальный и гантельный индексы) и вариантами локуса COI-COII мтДНК. Указано, что «проведенные

исследования морфометрических особенностей групп пчел, отличающихся вариантами локуса COI–COII мтДНК, позволили выявить митохондриальные линии пчел, наиболее перспективные для племенной работы – линии PQQ, PQQQ и PQQQ/PQQ». Этот вывод предопределен изначально, поскольку речь идет о среднерусской пчеле, имеющей данные варианты мтДНК. По нашему мнению, материал данного раздела диссертации представляет собой самостоятельное исследование, слабо интегрированное в контекст диссертации. Большой интерес представляют результаты исследования по уровню интрогрессии генов пород южного происхождения в М-линию (среднерусская порода), поскольку они важны как в теоретическом, так и прикладном аспекте изучения гетерогенности популяций.

Глава 4 посвящена анализу гетерогенности материала с помощью микросателлитов. Исследован аллельный спектр по изучаемым локусам, выявлены различия в спектре и частоте аллелей изученных локусов у пчел различной географической локализации. Выявлены различия по соотношению наблюдаемой и ожидаемой гетерозиготности. Вывод раздела: «Таким образом, для пчел с пасек южных районов показано большее генетическое разнообразие по большинству изученных локусов по сравнению с пчелами с пасек северных районов области, что может определяться различными факторами, такими как географические (экологические) особенности локализации пасек (специфическая адаптация к местным условиям), породная принадлежность пчелиных семей (происхождение), деятельность человека (различное развитие пчеловодства в разных районах Томской области) и др.». Однако результаты работы подтверждают только генетическое разнообразие, роль отдельных факторов диссертантом не рассмотрена. Влияние факторов диссертант пытается определить в следующем разделе – «Факторы, определяющие генетическое разнообразие медоносных пчел, обитающих на пасеках Томской области», используя метод главных компонент. Диссертантом указано, что «суммарно первая и вторая главные компоненты объясняют менее 50 % изменчивости, что

свидетельствует о том, что географическая локализация, если и вносит вклад в определение генетического разнообразия медоносных пчел, но является не единственным фактором». В качестве иного фактора формирования генетического разнообразия исследована породность пчел. Расчет показал, что первая главная компонента объясняет около 30 % суммарной изменчивости признака. Известно, что метод главных компонент достоверен при $\geq 75\%$, когда без потери информации факторы могут быть представлены в системе двух координат. Вероятно, необходимо было провести расчет кумулятивного процента вариации. Необходимо приводить коэффициенты корреляции между признаком и главными компонентами. Оценки коэффициентов корреляции важны для интерпретации каждой компоненты. Поэтому упрощенный анализ ситуации методом главных компонент в диссертации не позволяет в полной мере подтвердить выводы раздела.

Следующий раздел посвящен изучению генетического разнообразия пчелиных семей, соответствующих стандарту среднерусской породы, по комплексу микросателлитных локусов. Первоначально по результатам комплексного исследования, включающего морфометрический и мтДНК анализ, были определены пчелиные семьи, соответствующие стандарту среднерусской породы. Из них, по результатам анализа варибельности 9 микросателлитных локусов, были установлены наиболее «чистые» семьи с пасек (с. Тегульдет и с. Дубровка), ядерный геном которых представлен генами пчел среднерусской породы.

В заключении приведено обобщение материалов исследования и представлены 5 выводов работы. Выводы работы, в целом, раскрывают поставленные задачи исследования.

Текст работы оставляет в целом благоприятное впечатление, однако необходимо высказать несколько **замечаний** по методике, анализу и интерпретации результатов:

1. Методика работы, построенная на сборе только рабочих пчел для анализа гетерогенности пасеки методом микросателлитного анализа, может быть недостаточно достоверна.

2. Текст диссертации построен на последовательном изложении результатов, полученных разными методами. Однако преимущества комплексного подхода с использованием всех методов в работе раскрыты слабо, что снижает уровень новизны исследования.

3. Представленный в диссертации обширный материал проанализирован по ряду аспектов недостаточно подробно. Так, роль экологического компонента в формировании генетического разнообразия популяций медоносных пчел на пасеках Томской области, которая отмечается в промежуточных выводах и учтена как новизна работы, лишь отчасти подтверждается материалами диссертации.

4. Автор работы не попытался проанализировать критерий variability микросателлитных локусов для идентификации породного состава (как это было сделано по морфометрическим и молекулярно-генетическим признакам мтДНК), хотя по литературным данным такие исследования возможны.

5. Задача 5 в значительной мере дублирует задачи 1, 2 и 3, так как представляет собой выделение одного аспекта (среднерусской породы) при предполагаемом анализе общего разнообразия пород.

Перечисленные выше замечания не влияют на общую высокую оценку работы и могут быть легко исправлены в дальнейшем. Результаты работы имеют большое практическое значение и вносят вклад в развитие пчеловодства Томской области.

Таким образом, диссертация Т. Н. Киреевой представляет собой законченное научно-квалификационное исследование, выполненное на актуальную тему, в котором представлено научно обоснованное решение современных проблем формирования и поддержания гетерогенности популяций медоносной пчелы *A. m. mellifera*.

Диссертационное исследование соответствует паспорту научной специальности 03.02.04 – Зоология.

Автореферат полностью отражает текст диссертации.

Диссертация соответствует квалификационным требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям, установленным пп. 9–11, 13, 14 «Положения о присуждении ученых степеней», принятого постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24 сентября 2013 г. (в редакции от 01. октября 2018 г.), а ее автор, Киреева Татьяна Николаевна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.04 – Зоология.

Отзыв обсужден на коллоквиуме лаборатории почвенной зоологии и общей энтомологии ИПЭЭ РАН, протокол № 7 от 22 ноября 2018 г.

Отзыв составлен старшим научным сотрудником лаборатории почвенной зоологии и общей энтомологии ИПЭЭ РАН, доктором биологических наук (шифр специальности 03.02.05 – Энтомология) Андреем Феликсовичем Сафонкиным.

Старший научный сотрудник
лаборатории почвенной зоологии и общей энтомологии
Федерального государственного бюджетного учреждения науки
Института проблем экологии им А.Н. Северцова
Российской академии наук
119071, г. Москва, Ленинский пр., 33, тел. (495) 954-75-53;
(E-mail: admin@sevin.ru; сайт: <http://www.sevin.ru>;
новый сайт: <http://www.sev-in.ru>)
доктор биологических наук

Сафонкин Андрей Феликсович

03 декабря 2018 г.

