

УТВЕРЖДАЮ:  
И.о. ректора ФГБОУ ВО РГАУ-  
МСХА имени К.А.Тимирязева,  
доктор экономических наук  
Валерия Павловна Чайка

«19» ноября 2018 г.

### ОТЗЫВ ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

на диссертационную работу Островерховой Надежды Васильевны «Медоносная пчела *Apis mellifera* L. в Сибири: биоразнообразие, эпидемиология болезней и аспекты селекции», представленной в диссертационный совет Д 212.267.09, созданного на базе федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский Томский государственный университет» на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.02.04 – Зоология

Диссертационная работа Н. В. Островерховой посвящена решению одной из актуальных проблем современной биологии – изучению биоразнообразия организмов. Медоносная пчела *Apis mellifera* является экологически и экономически значимым видом насекомых, однако в последние годы в развитии популяций медоносной пчелы наблюдаются негативные тенденции, такие как массовая гибель пчелиных семей и межпородная гибридизация пчел. Поэтому особую значимость имеют вопросы, касающиеся распространения подвидов *A. mellifera*, включая Сибирь, и степень их гибридизации, а также путей сохранения аборигенных подвидов, прежде всего, средне-русской пчелы *Apis mellifera mellifera*. В данном исследовании рассматриваются разные аспекты медоносной пчелы, такие как биологические (зараженность/устойчивость к болезням, паразито-хозяйинные отношения) и генетические (особенности митохондриального и ядерного геномов) характеристики, а также осуществлен поиск маркеров, ассоциированных с хозяйственно-значимыми показателями медоносной пчелы. Кроме того, в работе проведено детальное описание обнаруженных в ходе исследования популяций *A. m. mellifera* – уникального с точки зрения адаптационного потенциала подвида, находящегося в настоящее время на грани исчезновения. Вышесказанное позволяет заключить, что диссертационная работа Островерховой Н. В., несомненно, является актуальной, а её результаты имеют теоретическое и практическое значение.

**Научная новизна исследований.** С использованием ДНК-маркеров митохондриального и ядерного геномов в сочетании с классическими морфометрическими исследованиями, представлены сведения о биологическом разнообразии, адаптационном потенциале медоносных пчел среднерусской породы Сибири, как особого экотипа *A. mellifera mellifera*, разработан и апробирован научно-обоснованный алгоритм селекционной работы в Томской области и в пчелопитомнике Алтайского края.

Впервые идентифицирован возбудитель *Nosema ceranae* на пасеках Томской области и Красноярского края с использованием молекулярно-генетических методов и изучено распространение паразита в разных экологических регионах Северной Азии. В исследовании зараженности спорами *Nosema Naegeli*, 1857 медоносных пчел использован оригинальный подход – анализ пчелиной семьи на разных уровнях индивидуальности (на уровне целой семьи путем анализа пула пчел и на уровне отдельных осо-

бей). Впервые в России проведен поиск генетических факторов, обуславливающих различную восприимчивость пчел к паразитам и патогенам.

**Обоснованность, достоверность и новизна научных положений, выводов и практических предложений.** Обоснованность, достоверность и новизна научных положений выводов и практических предложений работы подтверждена тем, что все исследования выполнены с использованием классических и современных методик, полученные данные обработаны методом вариационной статистики на персональном компьютере с использованием пакета Microsoft Office Excel и определением критерия достоверности разности по Стьюденту-Фишеру при трёх уровнях вероятности.

**Значимость полученных результатов для науки и практики.**

Работа вносит вклад в изучение систематики медоносной пчелы и информативности разных методов исследования (морфометрического, молекулярно-генетических) для идентификации подвидов *A. mellifera*, относящихся к эволюционным линиям М и С; о статусе *A. mellifera carpatica*; о сибирском экотипе *A. mellifera mellifera* по данным микросателлитных локусов и многолетним и сезонным динамикам зараженности медоносных пчел паразитами, паразито-хозяйинным отношениям и межвидовых взаимоотношений микроспоридий, роли абиотических факторов в распространении возбудителей. В биологическом плане все это показывает необходимость сохранения биоразнообразия и адаптивной ценности медоносных пчел в Сибири, и, процесса гибридизации пчел разных эволюционных линий. Разработанные положения развивают и уточняют учение о биологической эволюции, в частности о паразито-хозяйинных отношениях и межвидовых взаимоотношениях микроспоридий. Обобщения, сделанные на изученном материале, могут быть использованы в филогенетике, паразитологии, генетике и экологии насекомых.

В практическом плане данные по оценке генетического разнообразия медоносных пчел разного происхождения и различной географической локализации (анализ геномного полиморфизма с использованием микросателлитных ДНК-локусов, маркирующих биологические и хозяйственно-значимые показатели) представляют собой алгоритм по ведению селекционно-племенных работ по отбору и разведению семей, адаптированных к определенным природно-климатическим условиям. При этом выявленные регионы хромосом, могут представлять интерес для дальнейшего поиска конкретных генов, определяющих хозяйственные показатели пчелиных семей, а система оценки качества пчелиных семей для проведения генетической паспортизации среднерусской породы и созданию племенного ядра в пчелопитомниках среднерусской породы на территории Сибири.

**Структура диссертации.** Диссертационная работа изложена на 361 странице машинописного текста, построена по традиционной схеме и состоит из введения, 9 глав, заключения, включающего выводы, списка условных обозначений и сокращений, списка терминов и определений, списка литературы и приложения. Диссертация проиллюстрирована 49 рисунками и 43 таблицами. Список литературы содержит 560 источников, в том числе 359 ссылок на работы иностранных авторов.

**Во «Введении»** автор обосновывает актуальность выполненной научной работы, формулирует цели и задачи исследования, научную новизну, теоретическую и практическую ценность работы.

**В главе 1 («Обзор литературы»)** рассматриваются проблемы систематики, эволюции и распространения подвидов *A. mellifera* на территории Европы и России, а также методы исследования медоносной пчелы. Кроме того, детально освещены такие процессы, как коллапс пчелиных семей и массовая гибридизация пчел.

**В главе 2 «Материал и методы»** обстоятельно охарактеризованы объект и методы исследования. Весь большой материал, использованный в ходе выполнения рабо-

ты, удачно оформлен в виде таблиц и рисунков в тексте и Приложении. Представленный алгоритм исследования позволяет в целом оценить логику диссертационной работы, которая выполнялась по двум основным направлениям: (1) характеристика биологического разнообразия медоносных пчел по комплексу морфометрических признаков и ДНК-маркеров митохондриального и ядерного генома; (2) сравнительный анализ пчелиных семей разного происхождения и с различными биологическими и хозяйственно-значимыми признаками с целью поиска информативных ДНК-маркеров, позволяющих диагностировать различные породы (подвиды) медоносной пчелы и проводить отбор высококачественных пчелосемей при проведении селекционно-племенной работы.

Результаты собственных исследований показаны автором в главах 3–9. В главе 3 «Распространение подвидов медоносной пчелы в Сибири» согласно данным анализа мтДНК и морфометрии показано, что около 60% пчелиных семей представлено гибридными формами. Вместе с тем, обнаружены популяции (енисейская) и пасеки на территории Сибири, где обитает среднерусская порода. Выявленные пчелосемьи среднерусской породы *A. m. mellifera* детально исследованы с помощью микросателлитных локусов, чему и посвящен раздел 4.4 главы 4 «Микросателлитные локусы как маркеры генетического разнообразия медоносных пчел». В данной главе представлена как общая характеристика генетического разнообразия медоносных пчел, обитающих на территории Сибири, так и описаны генетические особенности отдельных подвидов медоносной пчелы по комплексу микросателлитных локусов. Для сравнительного исследования генетического разнообразия разных подвидов медоносной пчелы использованы данные по генетическому разнообразию «южных» подвидов по комплексу ДНК-маркеров (данные автора) и *A. m. mellifera* разных популяций России и Европы (данные публикаций). Показано, что среднерусские пчелы, обитающие в Сибири, представляют собой особый экотип *A. m. mellifera* и характеризуются специфическими генетическими особенностями как мтДНК, так и ядерного генома.

Оценка процесса гибридизации проведена в главе 5 «Особенности формирования разнообразия гибридных семей в популяциях со смешанным породным составом», в которой показано, что на территории Сибири у гибридов на основе «южных» пород наблюдается замещение генов карпатской породы (завозимой из питомников) «среднерусскими» генами.

В главе 6 «Некоторые проблемы идентификации подвидов медоносной пчелы и пути их решения» рассматривается информативность классического морфометрического и молекулярно-генетических методов исследования для дифференциации подвидов медоносной пчелы и показано, что только комплексный анализ, а именно использованием дополнительно морфометрического метода (анализ основных крыловых параметров) и анализ мтДНК (например, варибельности локуса COI-COII) обеспечивает точную идентификацию подвидов *Apis mellifera*.

Глава 7 «Зараженность пчелиных семей Сибирского региона паразитами и патогенами» посвящена оценке эпизоотологической ситуации на пасеках. Показано широкое распространение варроатоза, нозематоза (обоих возбудителей *Nosema* (*N. apis* и *N. ceranae*)) и грибковых инфекций на пасеках Сибири.

Довольно интересны результаты работы, посвященные поиску ДНК-маркеров, ассоциированных с параметрами продуктивности и устойчивости к заболеваниям у медоносных пчел различной породной принадлежности (глава 8). Детальное исследование локуса *mrj3*, кодирующего секрецию белков маточного молочка у пчел р. *Apis*, показало важность и необходимость геногеографических исследований медоносной пчелы, и невозможность автоматического переноса данных, полученных на одном подвиде (популяции) на другой. При поиске ДНК-маркеров, ассоциированных с забо-

леваемостью/устойчивостью пчел к болезням, выявлены потенциальные локусы, представляющие интерес с точки зрения установления их роли в определении заболеваемости/устойчивости к нозематозу.

**Заключительная глава 9** диссертационной работы «Алгоритм проведения селекционной работы по отбору и разведению семей, адаптированных к определенным природно-климатическим условиям и обладающих высокими хозяйственно-значимыми показателями» имеет практическую направленность; в ней автор предлагает систему оценки качества пчелиных семей при проведении селекционных работ в пчелопитомнике с использованием диагностических морфометрических и ДНК-маркеров, а также алгоритм проведения мониторинговых исследований пасек Томской области по зараженности пчелиных семей паразитами и патогенами.

Главный научный результат исследований состоит в обобщении данных по современному состоянию популяций медоносной пчелы в Сибири с учетом биологических (породный состав, заболеваемость/устойчивость к болезням и др.) и генетических (генетическое разнообразие по мтДНК и микросателлитным локусам, процесс гибридизации пчел и уровень интрогрессии генов эволюционной линии С в М-линию) особенностей, а также хозяйственно-значимых показателей семей (сила семьи, медопродуктивность, продуктивность маточного молочка).

Оценен адаптационный потенциал медоносных пчел Сибири, прежде всего среднерусских пчел, и доказано существование сибирского экотипа *A. mellifera mellifera* на основании данных анализа микросателлитных локусов, а также сравнительного анализа нуклеотидных последовательностей локуса *mrjp3* и локуса COI-COII мтДНК. Соискателем впервые разработана стандартная аллельная лестница по 30 микросателлитным локусам, охарактеризована изменчивость данных локусов в обследованных популяциях Сибири, что позволило выявить специфичные маркеры для пород разных эволюционных ветвей (*A. m. mellifera* – эволюционная линия М; *A. m. carpatica* и *A. m. carnica* – эволюционная линия С), проанализировать особенности формирования биологического разнообразия у межпородных гибридов (в том числе в ряду поколений), а также провести поиск маркеров, значимых для формирования устойчивости к нозематозу и ассоциированных с хозяйственными признаками, такими как медопродуктивность, «сила семьи», продуктивность маточного молочка. На основе полученных результатов разработан и апробирован научно-обоснованный алгоритм селекционной работы в Томской области и в пчелопитомнике (Алтайский край).

Особое внимание уделено такому заболеванию как нозематоз: установлено широкое распространение *N. ceranae*, в том числе и на изолированных пасеках Красноярского Края, где длительное время разводятся пчелы породы *A. m. mellifera*; в отличие от других регионов мира, в Сибирском регионе не выявлено вытеснения микроспоридий *N. apis* более патогенным видом *N. ceranae*; установлена сезонная динамика представленности видов *N. apis* и *N. ceranae*, которая определяется такими погодными показателями как температура и влажность.

Все разделы диссертации взаимосвязаны между собой, что позволило автору обосновать ряд методических рекомендаций, в частности, предложены система оценки качества пчелиных семей при проведении селекционных работ в пчелопитомнике и алгоритм проведения мониторинговых исследований пасек Томской области по зараженности пчелиных семей паразитами и патогенами, что, несомненно, имеет практическую значимость для отрасли пчеловодство. Составленные Н. В. Островерховой карты распространения основных болезней на пасеках ряда районов Томской области с учетом очагов заболеваемости пчел являются основой для мониторинга эпизоотологического состояния пчелиных семей и пасек области, что необходимо для научно-

обоснованного управления пчеловодством и формирования стратегии развития данной отрасли в регионе.

Выводы логично отражают содержание диссертации, обоснованно вытекают из текста и адекватны поставленным задачам. Опубликованные работы (52, включая 16 – из перечня ВАК, из которых 7 статей опубликованы в изданиях, включенных в международные базы Web of Sciences и Scopus, а также 3 монографии (в соавторстве; 2 – опубликованы за рубежом, одна из которых проиндексирована в Web of Science)) освещают основные результаты научных исследований автора. Результаты работы представлены на многочисленных конференциях различного уровня, включая международные, и хорошо известны специалистам; внедрены в учебный процесс и используются в таких курсах, как «Генетика насекомых».

Личный вклад автора состоит в подготовке методики исследований, постановке, проведении экспериментов и получении результатов исследований и их обобщении, написании научных статей, участия в российских и международных конференциях и оформлении диссертации к защите.

Автореферат адекватно отображает содержание и структуру диссертации.

**Рекомендации по использованию результатов диссертационного исследования.**

Результаты исследований рекомендуются к внедрению и использованию:

1. Сибирскому отделению РАН, лабораториям научно-исследовательских институтов и профильных кафедр университетов в субъектах РФ расположенных в Сибири для сравнительного исследования генетического разнообразия разных подвидов медоносной пчелы использовать данные по генетическому разнообразию «южных» подвидов по комплексу ДНК-маркеров (данные автора) и *A. m. mellifera* разных популяций России и Европы показывающие, что среднерусские пчелы, обитающие в Сибири, представляют собой особый экотип *A. m. mellifera* и характеризуются специфическими генетическими особенностями как мтДНК, так и ядерного генома.

2. Для производственных медотоварных пасек любой формы собственности находящихся на территории Сибири, содержать и разводить семьи, представляющие собой особый экотип *A. m. mellifera*, которые адаптированы к конкретным природно-климатическим условиям и обладают высокими хозяйственно-значимыми показателями.

3. На пасеках НИИ пчеловодства, СО РАН Министерства науки и образования при планировании и составлении планов селекционно-племенной работы с пчелиными семьями в регионах Сибири и Дальнего Востока использовать «Алгоритм проведения селекционной работы по отбору и разведению семей, адаптированных к определенным природно-климатическим условиям и обладающих высокими хозяйственно-значимыми показателями» представленным в диссертационной работе.

4. Министерством сельского хозяйства в субъектах РФ Сибири и Дальнего Востока, а также пасекам любой формы собственности руководствоваться результатами оценки процесса гибридизации, и, в частности «Особенностями формирования разнообразия гибридных семей в популяциях со смешанным породным составом», где доказано, что на территории Сибири у гибридов на основе «южных» пород наблюдается замещение генов карпатской породы (завозимой из питомников) генами «среднерусских пчел».

5. В лабораториях биоморфологии селекционных центров и заповедников по охране пород пчел для более точной идентификации подвидов *Apis mellifera* осуществлять исследования на основе классического морфометрического (анализ основных крыловых параметров) и молекулярно-генетических методов исследования с анализом мтДНК (например, вариабельности локуса COI-COII).

6. Полученные экспериментальные данные рекомендуются к использованию при подготовке научно-педагогических кадров.

При высокой положительной оценке диссертационной работы в целом необходимо отметить следующие замечания:

1. Автором, детально освещен такой процесс, как коллапс пчелиных семей. Однако какое влияние оказывает на данный процесс массовая гибридизация пчел, особенно в Сибири, автором не достаточно аргументировано. Не получили отражение данные об использовании химических средств по борьбе с вредными насекомыми и сорными растениями на основе неоникотиноидов, с помощью которых уже протравливают и семенной материал, что создает реальную угрозу отрасли пчеловодства.

2. В научной новизне автор работы указывает, что впервые с использованием комплексного подхода, включающего анализ ДНК-маркеров митохондриального и ядерного геномов и данные морфометрического исследования, представлены сведения о биологическом разнообразии медоносных пчел *A. mellifera*, обитающих в Сибири. Необходимо указать автору, что комплексный подход это, прежде всего методология раскрытия цели и задач исследований, но не научная новизна.

3. Анализируя результаты гибридизации семей, автор подчеркивает, что высокое генетическое разнообразие особей в пределах семьи увеличивает ее приспособленность – жизнеспособность, устойчивость к болезням и т.д. (Targy et al., 2015). При этом диссертант указывает, что по результатам их исследований, одна из гибридных семей также показала высокое генетическое разнообразие и характеризовалась как сильная продуктивная семья. Однако две другие гибридные семьи, при таком же уровне генетического разнообразия, характеризовались как слабые, с низкой зимостойкостью и продуктивностью. Напрашивается вопрос, почему гибридизация привела к неблагоприятным последствиям в двух других семьях?

4. В заключении диссертант указывает, что выявлена прямая зависимость общей зараженности особей в пчелиных семьях спорами *Nosema* от температуры, а зараженность разными видами возбудителя – от влажности. Эту закономерность указывают авторы многих работ с 1997 года.

5. Вывод 11-ый можно было с успехом изложить в качестве практических предложений.

6. В диссертации 34 % исследований уделено болезням медоносных пчел, что также отражено и в названии. Вследствие этого желательно было бы защищать данную фундаментальную работу на стыке двух специальностей: 03.02.04 – Зоология и 03.02.11 – Паразитология.

Высказанные в отзыве замечания не носят принципиального характера, и не снижают научной и практической значимости выполненного исследования.

В целом, диссертационная работа Островерховой Н. В. выполнена на высоком научно-методическом уровне, содержит новые научные данные, которые имеют теоретическое и практическое значение. Ее характеризует многоуровневый структурно-функциональный подход, осуществленный на основе современных методов адекватных цели и задачам исследований.

Таким образом, диссертация Островерховой Н. В. на тему «Медоносная пчела *Apis mellifera* L. в Сибири: биоразнообразие, эпидемиология болезней и аспекты селекции» на соискание ученой степени доктора биологических наук является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение научной проблемы по оценке биологического разнообразия и адаптационного потенциала медоносной пчелы *Apis mellifera* Сибирского региона, имеющей существенное значение в области биологии и генетики медоносной пчелы, биологии и экологии микроспоридий, отражающих соот-

ветствие работы паспорту специальности 03.02.04 – зоология и пунктам области исследований 1-6, 11, 13.

По актуальности, научной значимости, практической перспективности, объему выполненных исследований, полноте решения и глубине проработки задач диссертационная работа полностью соответствует требованиям ВАК РФ, предъявляемым к докторским диссертациям, изложенным в Постановлении Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года № 842 «О порядке присуждения учёных степеней» (в ред. от 01.10.2018 г.), а ее автор, Островерхова Надежда Васильевна, заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.02.04 – зоология.

Отзыв обсужден и утвержден на заседании кафедры аквакультуры и пчеловодства ФГБОУ ВО РГАУ – МСХА имени К.А. Тимирязева, протокол заседания № 3 от 27 ноября 2018 г.

Составитель отзыва:  
Заведующий кафедрой  
аквакультуры и пчеловодства,  
доктор биологических наук,  
профессор



Маннапов Альфир Габдуллович

ПОДПИСЬ ЗАВЕРЯЮ

НАЧАЛЬНИК УКИДО  
Ю.Р. БАХМЕТЬЕВА

Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева» (ФГБОУ ВО РГАУ – МСХА имени К.А. Тимирязева) Адрес: 127550, г. Москва, ул. Тимирязевская, д. 49; тел.: +7(499)976-04-80, E-mail: [info@rgau-msha.ru](mailto:info@rgau-msha.ru)