

## ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу Островерховой Надежды Васильевны «Медоносная пчела *Apis mellifera* L. в Сибири: биоразнообразие, эпидемиология болезней и аспекты селекции», представленную в диссертационный совет Д 212.267.09 на базе Национального исследовательского Томского государственного университета на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.02.04 – зоология

**Актуальность избранной темы.** Разведение медоносных пчел, являющихся составной частью биологических ресурсов России, обеспечивает повышение урожайности энтомофильных сельскохозяйственных культур, получение от них диетических продуктов питания, лечебных препаратов для апитерапии, сырья для народного хозяйства, способствует сохранению биоразнообразия в природе, а также решению проблем экологического мониторинга и продовольственной безопасности. В нашей стране вследствие разнообразия природно-климатических условий рекомендованы для разведения несколько пород пчел, каждая из которых характеризуется специфичным комплексом отличительных признаков и приспособлена к эффективному использованию определенного типа медосбора.

Наиболее распространенной породой, благодаря исключительной зимостойкости, устойчивости к ряду заболеваний, высокой яйценоскости маток, эффективному использованию летнего сильного медосбора, является среднерусская, пчелы которой районированы в 52 регионах Северо-Западного, Центрального, Приволжского, Уральского и Сибирского федеральных округов. Занимая обширный ареал, эта порода включает ряд популяций, таких как бурзьянская, вологодская, прикамская, горноалтайская, красноярская, татарская, уральская. Сохранение и рациональное использование разводимых пород и популяций имеет важное значение для поддержания биоразнообразия в природе, отбора исходного материала при дальнейшем чистопородном разведении.

Однако, нарушение среды обитания пчел, бесконтрольный завоз в зоны чистопородного разведения других пород приводят к деградации внутривидовой изменчивости локальных популяций, сформировавшихся в течение многих поколений, утрате ценных генотипов. В первую очередь негативные процессы повлияли на разводимых в суровых климатических условиях пчел коренной среднерусской породы и ее популяций, что отразилось на их адаптивной способности, устойчивости к заболеваниям, продуктивности.

В Сибирском федеральном округе изученность медоносных пчел не дает целостного представления о породном составе, действительном состоянии популяций, степени их гибридизации и ее последствий.

Ведущая роль при сохранении и дальнейшем разведении пород и популяций пчел отводится надежному тестированию исходного материала, включающему наряду с оценкой морфометрических признаков использование молекулярно-генетических методов для его идентификации.

Изучение современного состояния разнообразия вида *Apis mellifera* L. в разных регионах России, поиск информативных породо-специфических и определяющих проявление хозяйственных признаков пчелиных семей ДНК-маркеров, может служить необходимым условием сохранения генофонда и представляет научную основу для селекционной работы с пчелами. Поэтому работа Островерховой Н.В., направленная на изучение породного состава медоносной пчелы (*Apis mellifera* L.) Сибири с использованием комплекса морфометрических и молекулярно-генетических методов, определение зараженности пчел различными заболеваниями, поиск ДНК-маркеров, обуславливающих степень проявления основных хозяйственных признаков у пчелиных семей различного происхождения, актуальна и отвечает насущным запросам пчеловодства.

**Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации.** Диссертант достаточно полно обосновал выбор темы и определил задачи диссертационной работы.

Работа выполнена в Федеральном Государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Национальный исследовательский Томский государственный университет» в течение 2008-2017 гг.

Материалом исследований послужили пробы пчел от более 400 пчелиных семей, отобранные с пасек Томской, Кемеровской областей, Красноярского, Алтайского краев и республики Алтай. Для характеристики биологического разнообразия вида *Apis mellifera* L. применен комплексный подход, включающий оценку морфометрических признаков пчел и ДНК-маркеров митохондриального и ядерного геномов.

Проведено изучение распространения заболеваний пчелиных семей на 199 пасеках Томской области, ряда других регионов Сибирского федерального округа и диагностированы вызывающие их возбудители.

Особое место в исследованиях уделено поиску ДНК-маркеров, влияющих на проявление хозяйственных признаков пчелиных семей. При выполнении научной работы использованы принятые в биологии и пчеловодстве современные методы, предусмотренные методическими

указаниями к постановке экспериментов. Первичные данные обработаны с помощью широко применяемых стандартных методов.

Результаты научных исследований, сформулированные на их основе положения, выводы вполне обоснованы и соответствуют поставленным задачам. Они базируются на аналитических, экспериментальных данных, полученных в лабораторных, пасечных исследованиях, статистической обработке первичного материала.

Основные положения диссертационной работы доложены и получили положительную оценку на международных, всероссийских и региональных конференциях.

**Достоверность и новизна научных положений, выводов и рекомендаций.** Диссертантом выполнен значительный объем научной работы с применением современных методик и оборудования. Исследования проведены на более 400 пчелиных семьях из различных регионов Сибири, проанализировано 2500 пчел различного происхождения. У пчелиных семей учтены происхождение, биологические и хозяйственные признаки. Все анализы выполнены на сертифицированном оборудовании в лаборатории молекулярно-генетических исследований кафедры зоологии беспозвоночных Томского Государственного университета и на базе ЦКП «Медицинская геномика» НИИ МГ ТПИМЦ РАН. Достоверность подтверждена обработкой полученных экспериментальных данных методами биологической статистики с применением компьютерных программ MICROSOFT EXCEL 2010, POPULATIONS 1.2.28, STRUCTURE 2.3.4, STATISTICA 8.0.

Новизна диссертационной работы состоит в том, что соискателем с использованием комплексной оценки морфометрических признаков пчел и анализа ДНК-маркеров митохондриального и ядерного геномов представлены сведения о биологическом разнообразии вида *Apis mellifera* L. на территории Сибири. Установлено, что в процессе гибридизации пчел различного происхождения происходит «вытеснение» генов карпатской породы генами среднерусской породы.

Впервые идентифицирован возбудитель нозематоза *N. ceranae* у *Apis mellifera* L. на пасеках Томской области и Красноярского края с помощью молекулярно-генетических методов и изучено его распространение в разных экологических условиях. Получены новые данные по возможности использования микросателлитных локусов геномной ДНК в качестве маркеров для определения породной принадлежности и оценки хозяйственных признаков пчелиных семей.

Новизна диссертационной работы подтверждается предложенными Ноу хау способами оценки породной принадлежности пчелиных семей.

**Содержание диссертации, ее завершенность, замечания.**  
Диссертационная работа Островерховой Н.В. изложена на 361 странице компьютерного текста и состоит из введения, обзора литературы, материала и методов, результатов собственных исследований, заключения, списка условных обозначений и сокращений, списка терминов и определений, списка литературы, приложения; включает 31 таблицу и 43 рисунка (в том числе 12 таблиц в приложении). Список литературы содержит 560 источников, в т.ч. 366 на иностранных языках.

Во «Введении» обоснована актуальность выбранной темы, сформулированы цель и задачи исследований, показаны научная новизна и практическая значимость работы, приведена конкурсная поддержка проводимых исследований и апробация работы, а также личный вклад автора в ее выполнение.

В «Обзоре литературы» на основе анализа большого количества источников отечественных и зарубежных авторов показана экологическая и экономическая значимость *Apis mellifera* L., ее систематика, эволюция и распространение на территории Европы и Российской Федерации. Подробно описаны методы идентификации подвидов *Apis mellifera* L., включая классический морфометрический и молекулярно-генетические анализы.

Изложена характеристика селекционных признаков пчелиных семей и методы ведения селекционной работы, которая является одним из ведущих направлений интенсификации производства продуктов пчеловодства и повышения за счет опыления урожайности энтомофильных сельскохозяйственных культур. Перспективным направлением в селекции может служить выявление молекулярно-генетических маркеров, обуславливающих степень проявления хозяйственных признаков у пчелиных семей. Диссертант обобщил последствия бесконтрольного завоза пород пчел в зоны чистопородного разведения и проанализировал возможные причины массовой гибели пчелиных семей в разных странах. Приведена история развития пчеловодства и современное состояние вида *Apis mellifera* L. в Сибири.

В разделе «Материал и методы» освещена общая схема исследований, условия выполнения работы, материалы и методики, использованные при проведении исследований, способы статистической обработки экспериментальных данных.

Результаты собственных исследований представлены в нескольких главах, в которых подробно изложены полученные материалы в соответствии с поставленными целью и задачами.

В главе 3 дана характеристика породного состава вида *Apis mellifera* L. с использованием морфометрических признаков и анализа вариабельности

мт ДНК, на пасеках разных регионов Сибири. Установлено, что большинство исследованных семей являются гибридами среднерусской и карпатской пород, но выявлено несколько пасек с чистопородными среднерусскими пчелами.

В главе 4 приведены данные генетического разнообразия чистопородных пчел и гибридов с помощью 11 микросателлитных локусов геномной ДНК на территории Томской области.

При сравнительном анализе вариабельности изученных локусов у чистопородных среднерусских и карпатских пчел выявлены различия в спектре и/или частоте аллелей между подвидами. (Для локуса A008 у *A.m mellifera* аллель «162», частота 0,87, а у *A.m.carpatica* - аллель «174», частота 0,46). Эти различия у чистопородных пчел были использованы для оценки генетического разнообразия гибридных пчел.

В главе 5 рассмотрен процесс гибридизации пчел. Анализ вариабельности микросателлитных локусов показал, что как у гибридов на основе среднерусской породы, так и у гибридов «южных» пород ядерный геном более соответствует среднерусской породе. При гибридизации среднерусские пчелы теряют чистопородность, а завезенные карпатские также подвергаются гибридизации, при этом митохондриальный геном соответствует южной породе, а ядерный – среднерусской. Процесс интеграции генов среднерусской породы у карпатских пчел протекает значительно по сравнению с генами карпатской породы в среднерусскую, как имеющих больший процент ядерных генов.

Данные сравнительного анализа генетических особенностей среднерусских пчел из Сибири, Урала и Европы указывают на наличие маркеров, потенциально значимых для адаптации к определенным экологическим условиям обитания. Выявлено существование сибирского экотипа среднерусской породы (локус A008, аллель «162», локус A088, аллель «140», локус A007, аллель «107»).

В главе 6 приведена оценка информативности различных методов для идентификации подвидов *Apis mellifera* L. Для выделения чистопородных пчелиных семей и дифференциации подвидов *Apis mellifera* L. предлагается комплексный подход, включающий анализ вариабельности локуса COI-COII мт ДНК и морфометрических признаков (кубитальный, гантельный индексы, дискоидальное смещение), оценку степени гибридизации и уровня интрогрессии между подвидами проводят на основании анализа изменчивости микросателлитных локусов геномной ДНК.

Глава 7 посвящена результатам обследования эпизоотического состояния пасек Сибири. Наиболее распространенными заболеваниями

зарегистрированы варрооз, нозематоз, а также аскофероз и аспергиллез. Наряду с нозематозом типа А, возбудителем которого служит *Nosema apis*, при помощи генетико-молекулярных методов диагностирована *Nosema ceranae* – возбудитель нозематоза типа С, характеризующаяся более высоким уровнем патогенности. На исследованных пасеках преобладал вариант поражения пчелиных семей нозематозом совместно обоими возбудителями (38,5-65,0 %). Выявлен ряд факторов, влияющих на заражение пчелиных семей разными видами возбудителя нозематоза.

Заслуживают внимания материалы по поиску ДНК-маркеров, взаимосвязанных с параметрами продуктивности и устойчивости к заболеваниям пчелиных семей различного происхождения. Наиболее перспективными ДНК-маркерами для определения устойчивости к нозематозу у пчел Сибири могут служить локусы AC117, AP243, H110. Проявление продуктивных качеств пчелиных семей обусловлено уровнем разнообразия пороодо-специфических аллелей локуса *mtjр3*.

В заключительной части диссертации автором проведен анализ полученных экспериментальных данных, их обсуждение и по результатам исследований сформулированы достаточно обоснованные выводы.

На основании полученных результатов предложена программа по сохранению и селекционному улучшению популяций среднерусской породы пчел приспособленных к определенным природно-климатическим условиям с использованием диагностических, морфометрических и молекулярно-генетических маркеров.

Следует отметить, диссертант выполнил значительный объем научных исследований с помощью современных методик и сертифицированного оборудования, в результате которых получены новые данные для науки и практического пчеловодства.

Оценивая диссертационную работу Островерховой Н.В. положительно считаем необходимым высказать ряд замечаний и пожеланий.

1. Полученные данные сезонной изменчивости поражения пчелиных семей возбудителями нозематоза в течение одного сезона недостаточны и могут считаться предварительными. Случаи массового поражения пчелиных семей нозематозом на пасеках повторяются с интервалом в три-пять лет.

2. При изложении результатов анализа локуса *mtjр3* у пчелиных семей с различным уровнем медовой продуктивности следовало привести и показатели, которые характеризуют семьи с низкой продуктивностью. Продуктивность по маточному молочку оценивают не по среднему отбору его из одного маточника, а отобранного из всех маточников, отстроенных пчелами за этот период, которое может различаться у сравниваемых семей.

3. При разработке алгоритма проведения селекционной работы наряду с системным определением чистопородности пчел следовало привести методы оценки хозяйственных признаков (зимостойкость, яйценоскость матки, продуктивность) пчелиных семей. Лишь наиболее ценные по комплексу признаков, отнесенные к высшим бонитировочным классам (элита, первый класс) пчелиные семьи могут служить исходным материалом для дальнейшего разведения.

4. Не правомерно использование термина селекционно-племенная работа, так как селекция часть племенной работы, включающая оценку пчелиных семей, отбор и подбор по фенотипу и генотипу с целью повышения и консолидации положительных качеств. Термин эпидемиология – наука, изучающая болезни человека, а болезни животных – область эпизоотологии. Термин метисация – используют при смешении человеческих рас, а при скрещиваний пород животных, сортов растений – метизация.

5. Целесообразно привести материалы, подтверждающие апробацию алгоритма селекционной работы на пасеках региона.

6. Следует отметить и ряд грамматических опечаток и неточностей, на которые указано по тексту диссертации.

Указанные недостатки не снижают общей положительной оценки диссертационной работы,

Научные результаты, отражающие основные положения диссертации Островерховой Н.В., достаточно полно изложены в автореферате и 52 научных публикациях, в т.ч. 16 изданных в рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК, и 7 включенных в международные базы Web of Science, Scopus и PubMed.

Заключение. Диссертационная работа Островерховой Надежды Васильевны «Медоносная пчела *Apis mellifera* L. в Сибири: биоразнообразие, эпидемиология болезней и аспекты селекции» – самостоятельное завершённое исследование, в результате которого обоснована система анализа чистопородности пчелиных семей с использованием морфометрических и ДНК-маркеров, получены материалы о биоразнообразии вида *Apis mellifera* L. на территории Сибири, дана оценка эпизоотического состояния на пасеках Томской области и других регионов., проведен поиск генетических факторов, обуславливающих, различную продуктивность и восприимчивость пчел к заболеваниям.

Представленная диссертация по актуальности избранной темы, новизне и научно-практической значимости, обоснованности и достоверности содержащихся в ней положений и выводов соответствует требованиям Положения о присуждении ученых степеней, утвержденного постановлением

Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842, а ее автор Островерхова Н.В. заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.02.04 – зоология.

Доктор сельскохозяйственных наук  
(06.02.07 – разведение, селекция и генетика сельскохозяйственных животных), главный научный сотрудник направления селекции и разведения пчел федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр пчеловодства», профессор

23.11.2018г

*А.В. Бородачев*

Бородачев  
Анатолий Владимирович

391110, г. Рыбное Рязанской области,  
ул. Почтовая, 22  
E-mail: [rybnoebee@mail.ru](mailto:rybnoebee@mail.ru)  
Тел. 8(49137) 51-547

Подпись Бородачева Анатолия Владимировича ЗАВЕРЯЮ:

Начальник отдела кадров  
ФГБНУ «ФНЦ пчеловодства»

*Л.П. Лебедева*

Лебедева  
Валентина Павловна

