

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

на диссертацию **Острроверховой Надежды Васильевны**
МЕДОНОСНАЯ ПЧЕЛА *APIS MELLIFERA* L. В СИБИРИ:
БИОРАЗНООБРАЗИЕ, ЭПИДЕМИОЛОГИЯ БОЛЕЗНЕЙ И АСПЕКТЫ
СЕЛЕКЦИИ, представленную на соискание учёной степени доктора
биологических наук по специальности 03.02.04 – Зоология

Во всем мире подавляющее большинство продовольственных культур зависят, по крайней мере, частично от опыления насекомыми. Медоносные пчёлы в силу своих биологических характеристик являются самыми эффективными опылителями. Не только создание существенного количества растительной продукции, но и, что самое важное, функционирование сложившихся биоценозов определяется опылительной деятельностью насекомых, и прежде всего – медоносных пчёл. В силу своих биологических особенностей медоносные пчёлы являются лучшими опылителями цветковых растений и этим поддерживают существование продуцентов в экологических системах.

Кроме того, пчёлы являются источником уникальной продукции, обладающей как пищевой, так и лечебно-профилактической ценностью.

Изучение этой группы насекомых представляет интерес как для экологов и энтомологов, так и для сельскохозяйственной и медицинской отраслей.

Недостаток наших знаний об этих общественных насекомых связан с их внутривидовой систематикой. Важным и информативным методом изучения генетического биоразнообразия у различных видов животных служит анализ микросателлитных локусов. Известно, что полиморфизм микросателлитных повторов настолько высок, что позволяет различать хромосомы при семейном анализе, прослеживая их передачу в поколениях, а также при идентификации принадлежности биологического образца к подвиду (породе), популяции. Поскольку данные о генетической структуре популяций исключительно важны для рационального использования генетических ресурсов сельскохозяйственных объектов, в том числе и пчёл, ФАО (FAO) осуществила глобальный проект по оценке генетического разнообразия домашних животных (Global Project for the Measurement of Domestic Animal Genetic Diversity, MoDAD). В частности, с помощью 30 микросателлитных локусов было выполнено генотипирование от 6 до 50 пород одного вида. Работы по характеристике генофонда пород медоносной пчелы, разводимых в Российской Федерации, фрагментарны, а на территории Западной Сибири – отсутствуют. Несмотря на то, что некоторое число микросателлитных локусов у медоносной пчелы определены и картированы, до настоящего времени не предложена унифицированная микросателлитная панель для *Apis mellifera*, не проведена оценка степени генетической консолидации и дифференциации пород медоносной пчелы сибирских популяций на основании анализа их микросателлитных профилей.

Исследования аллелофонда и изучение внутривидовой дифференциации различных популяций медоносной пчелы в настоящее время в России находятся на начальном этапе.

Мировой проблемой остаётся выявление причин массовой гибели пчелиных семей по всему миру в последние десятилетия. Роль патогенов и паразитов в этом процессе, а также снижение толерантности пчелосемей к ряду антропогенных воздействий являются общепризнанным фактом. Изучение эпизоотологической ситуации в пасечных хозяйствах, экологии экономически значимых возбудителей заболеваний медоносных пчёл и выявление особенностей взаимоотношений «паразит–хозяин» является общепринятым и эффективным подходом в решении этой проблемы.

В связи с этим изучение «на основании комплексного подхода биологического разнообразия и адаптационного потенциала медоносной пчелы, *Apis mellifera* в Сибири и разработка научно-обоснованного алгоритма селекционной работы является **актуальной задачей**, а её решение «путём описания сибирских популяций по комплексу молекулярно-генетических маркеров митохондриального и ядерного генома, изучения особенностей формирования разнообразия (вариабельность морфометрических и молекулярно-генетических показателей) гибридных семей в популяциях со смешанным породным составом и оценка информативности морфометрических и молекулярно-генетических данных для дифференциации подвидов медоносной пчелы, а также определение потенциально значимых маркеров адаптации пчёл к различным экологическим условиям (маркеры экотипов) – **перспективным**. Несомненно, злободневной проблемой является выявление возможных причин массовой гибели пчелиных семей Сибирского региона на основе изучения их заражённости паразитами и патогенами и установление роли генетических и эпигенетических факторов в распространении такого экономически значимого заболевания, как нозематоз. **Актуальной задачей** остаётся поиск маркеров, ассоциированных с продуктивностью и устойчивостью к заболеваниям у медоносных пчёл, что позволит разработать научно-обоснованный алгоритм проведения селекционной работы по отбору и разведению семей, адаптированных к конкретным условиям разведения и обладающих высокими хозяйственно-значимыми показателями. В региональном аспекте такие **исследования представляются актуальными** в связи с особенностями природно-климатических условий Сибири. Как известно, Западно-Сибирский регион является крупнейшим производителем пчелопродукции, которая по ряду характеристик является уникальной.

Работа изложена на 361 странице, включает 31 таблицу, 43 рисунка, список условных обозначений и сокращений, список терминов и определений, список литературы, состоит из введения, пяти глав, заключения и приложения, которое включает 12 таблиц и 6 рисунков.

Во введении исчерпывающе обоснована актуальность цели и выдвинутых задач, определены объекты и предмет исследований,

сформулированы новизна, теоритическая, практическая значимость проведённых исследований и защищаемые положения, описаны используемые автором методологические подходы, указаны источники финансирования, места апробации работы и публикационная активность автора, обоснована степень достоверности полученных результатов и личный вклад автора, приводятся благодарности коллегам.

В первой главе (60 страниц) автор приводит обстоятельный обзор сведений по систематике, эволюции, распространению медоносных пчёл, описывает морфометрический и молекулярно-генетический методы идентификации внутривидовых таксонов, анализирует селективные признаки и маркёры биологических и хозяйственно полезных показателей, причины и последствия межпородной гибридизации и коллапса пчелиных семей, излагает историю пчеловодения в Сибири и современное состояние сибирских популяций медоносных пчёл.

Во второй главе (23 страницы) приведена подробная характеристика алгоритмов, методик, материалов и районов исследования в соответствии с поставленными задачами, описаны схемы экспериментальных исследований и методик статистической обработки первичных данных.

В третьей главе (10 страниц) приведены результаты картирования на основе морфометрической (показатели жилкования крыла) и молекулярно-генетической (анализ мтДНК) идентификации породного распределения *A. m. mellifera*, *A. m. carpatica* и их гибридов по территориям Томской, Кемеровской областей, Красноярского и Алтайского краёв, а также местонахождение популяции *A. m. mellifera* в Республике Алтай.

В четвёртой главе (42 страницы) представлены результаты изучения структуры микросателлитного локуса *mrjр3* (*major royal jelly proteins*) у пчёл различных эволюционных линий, обитающих в Сибири. Показано, что сибирские популяции, несмотря на «высокий уровень идентичности между последовательностями микросателлитного локуса *mrjр3* <...> у разных подвидов медоносных пчёл», характеризуются особенностями в спектре и частотах аллелей этого локуса.

В пятой главе (16 страниц) автор наглядно демонстрирует у гибридных пчёл с пасек исследуемого региона несоответствие идентифицирующих подвиды *A. mellifera* морфометрических показателей крыла (кубитальный, гантельный индексы, дискоидальное смещение) и характеристик мтДНК (варианты локуса COI-COII). Анализ 11 микросателлитных локусов ядерного генома у гибридов *A. m. mellifera* и *A. m. carpatica* позволил автору оценить уровень и направление интрогрессии генов пчёл разных эволюционных лини, обитающих в Сибирском регионе.

В шестой главе (7 страниц) автор формулирует проблемы, связанные с идентификацией подвидов *A. mellifera* по морфометрическим (жилкованию крыльев) и молекулярно-генетическим (мтДНК-анализ и микросателлитные локусы ядерной ДНК) критериям и даёт обоснование необходимости комплексного подхода при идентификации таксонов разного уровня.

Седьмая глава (29 страниц) посвящена анализу результатов изучения эпизоотологической ситуации на пасаках Томской области. Особое внимание автор уделяет описанию экологии микроспоридий – возбудителей нозематоза медоносной пчелы.

В восьмой главе (15 страниц) представлены результаты исследований по поиску ДНК-маркёров продуктивности пород *A. mellifera*, а также их толерантности к возбудителям нозематоза.

В девятой главе (7 страниц) изложен алгоритм проведения исследований по оценке породной принадлежности медоносных пчёл, степени их гибридизации и технология мониторинга эпизоотической ситуации на пасаках Томской области.

В Заключении (25 страниц) автор приводит описание комплексного исследования биологического разнообразия и особенностей экологии *A. mellifera* на территории Сибири, выделив в нём семь этапов и подробно обсудив результаты каждого. Автор формулирует 11 выводов на основании анализа результатов описанного комплексного исследования.

Результаты, полученные автором, **характеризуются несомненной научной новизной**, поскольку впервые с использованием комплексного подхода, включающего анализ ДНК-маркеров митохондриального и ядерного генома и данные морфометрического исследования, представлены сведения о биологическом разнообразии медоносных пчел, *A. mellifera*, обитающих на территории Сибири. Изучен адаптационный потенциал *A. m. mellifera* как особого сибирского экотипа. Впервые с использованием молекулярно-генетических методов идентифицирован вид микроспоридий *Nosema ceranae* – возбудитель нозематоза на пасаках Томской области и Красноярского края, изучено его распространение в экологически различных регионах Северной Азии. Впервые в России проведён поиск генетических факторов, обуславливающих различную восприимчивость пчёл к паразитам и патогенам. На основе полученных результатов разработан и апробирован научно-обоснованный алгоритм селекционной работы в Томской области и в пчелопитомнике Алтайского края.

Теоретическая значимость работы определяется тем вкладом, который вносит автор в изучение биологии, систематики и генетики *A. mellifera*, в понимание паразито-хозяйинных отношений в системе «микроспоридии – медоносная пчела» и эпизотологию болезней медоносной пчелы. Получены новые данные по информативности морфометрического и молекулярно-генетического методов исследования для идентификации подвидов *A. mellifera*, относящихся к эволюционным линиям М и С; о статусе *A. mellifera carpatica*; о сибирском экотипе *A. mellifera mellifera* на основании анализа микросателлитных локусов. Реализованный автором комплексный подход в изучении медоносной пчелы, основанный на анализе морфологических, генетических, экологических и хозяйственных характеристик пчелиных семей, может быть рекомендован для изучения популяций в других регионах страны. Несомненно, полученные автором экспериментальные данные являются существенным вкладом

в характеристику генофонда пород медоносной пчелы, разводимых в Российской Федерации и, в частности, на территории Западной Сибири.

Практическая значимость работы состоит в том, что определён породный состав и степень гибридизации *A. mellifera* на территории Сибири, установлены районы обитания *A. m. mellifera* в Красноярском, Алтайском краях, Томской области, Республике Алтай. Сформирован банк ДНК и образцов медоносных пчёл с пасек Сибири (за период 2008–2017 гг.). Разработана шкала длин фрагментов ДНК (стандартная аллельная лестница) по 30 изученным микросателлитным локусам для *A. m. mellifera* сибирских популяций (Томская область, Красноярский и Алтайский края) и двух подвидов южного происхождения (*A. m. carpatica* и *A. m. carnica*), что позволит генотипировать пчел и выполнять внутри- и межпородные сравнения, проводить временной и пространственный мониторинг их генофондов. Выявлены пороодо- и эко-специфичные локусы, которые могут быть использованы в качестве диагностических маркеров в системе оценки породности и качества пчелосемей. Нуклеотидные последовательности четырех аллелей локуса *mtjrp3* депонированы в международную базу данных (Genbank) под номерами MN673344–MN673347.

Разработан алгоритм проведения селекционно-племенной работы на основании анализа геномного полиморфизма с использованием микросателлитных ДНК-локусов, маркирующих биологические и хозяйственно-значимые показатели оценки генетического разнообразия медоносных пчёл разного происхождения и различной географической локализации. Выявлены регионы хромосом, которые могут представлять интерес для дальнейшего поиска конкретных генов, определяющих хозяйственные показатели пчелиных семей. Разработаны научные основы сохранения популяций *A. m. mellifera*, оценки качества пчелиных семей для проведения генетической паспортизации и создания племенного ядра в пчелопитомниках среднерусской породы на территории Сибири. Составлены карты распространения экономически значимых заболеваний на пасеках Томской области, выявлены проблемные территории, требующие мониторинговых исследований.

Полученные данные и разработанные в диссертации подходы могут быть включены в соответствующие разделы учебных программ по энтомологии, экологии насекомых и паразитологии.

Основная область использования материалов диссертации – это популяционная генетика, экология, разведение и селекция медоносной пчелы; подготовка специалистов высшей квалификации биологического направления подготовки.

Представленный материал, характеризуется внутренним единством, содержит **оригинальные научные результаты и пять научных положений**, выдвигаемых для публичной защиты, включает аргументированные решения поставленных задач, которые проанализированы по сравнению с другими известными решениями, его следует оценивать как научно-квалификационную работу, в которой

содержится решение как общебиологических так и практических вопросов, касающихся систематики, генетики, экологии, разведения и патологии медоносной пчелы. В работе автор **решает одну из важнейших проблем, стоящих перед зоологами** в области мониторинга популяций экономически значимых видов, – выбор адекватных критериев идентификации таксонов и хозяйственно значимых признаков. Диссертация написана автором самостоятельно, а материал, представленный в ней, свидетельствует о существенном личном вкладе автора в науку. В работе отсутствуют вызывающие сомнения выводы и утверждения, их **достоверность и обоснованность подтверждены** адекватностью методических подходов, обширным биологическим материалом, использованным в исследованиях, современным уровнем молекулярно-генетических, морфометрических, микроскопических, эпизоотологических методов, а также грамотным применением методов вариационной статистики для обработки экспериментальных данных и анализом полученных результатов.

Основные научные результаты за период 2010 по 2018 гг. **изложены** в 25 научных публикациях, изданных в рецензируемых научных журналах, в том числе 16 статей – в журналах из списка ВАК РФ, 7 статей – в изданиях, включённых в международные базы Web of Sciences и Scopus, 3 монографии (в соавторстве; 2 – опубликованы за рубежом, 1 – проиндексирована в Web of Science), а также представлены в сборниках трудов и материалах международных научных и научно-практических конференций и конгрессов (27 публикаций). На 15 собственных публикаций автор ссылается в своей научно-квалификационной работе, где также имеются ссылки на материалы, цитируемые автором из 560 источников (в том числе 366 – не русскоязычных).

Содержание автореферата отражает суть диссертации и соответствует основным идеям и выводам работы, включает список 55 опубликованных автором работ по теме диссертации.

Замечания касаются только некоторых частных вопросов и суждений автора.

1. В дополнение к рисункам 20 и 26 следовало привести данные по величине вкладов признаков в состав главных компонент (матрица собственных векторов), поскольку это позволяет выявить роль (значимость) каждого из них в формировании генетического и фенотипического разнообразия как подвидов, так и географических популяций *A. mellifera*.

2. К рисунку 27 следовало указать обозначения.

3. Проведение мониторинга заражённости пчелиных семей нозематозом и клещами-экзопаразитами во время зимовки, как рекомендует автор, вряд ли можно считать целесообразным, поскольку любое беспокойство пчелиных семей в этот период провоцирует снижение их толерантности по отношению к любому негативному фактору, с одной стороны, а с другой – не позволит пчеловоду во время зимовки оказать какую-либо существенную помощь семьям. Контроль эпизоотического

состояния пчел, видимо, целесообразней начинать в период первого облёта семей после зимовки (в период выставки из зимовника).

Замечания не умаляют несомненных достоинств диссертационной работы. Качество её оформления соответствует предъявляемым требованиям.

В целом работа Островерховой Надежды Васильевны представляет законченную научно-квалификационную работу, которая соответствует критериям, установленным действующим Положением о присуждении учёных степеней, представленный материал соответствует по классификации специальности 03.02.04 – Зоология (биологические науки), а сама автор – Островерхова Надежда Васильевна – заслуживает искомой ученой степени доктора биологических наук.

Профессор кафедры биологии,
биоресурсов и аквакультуры
биолого-технологического факультета
федерального государственного
бюджетного образовательного
учреждения высшего образования
«Новосибирский государственный
аграрный университет»,
доктор биологических наук
по специальности 03.02.08 – Экология,
профессор

Осинцева Любовь Анатольевна
lao08@mail.ru
тел. кафедры: +7 (383) 267-38-00

03 декабря 2018 г.

630039, г. Новосибирск, ул. Добролюбова, 160
Контактный телефон: +7 (383) 267-38-00;
Адрес электронной почты: rector@nsau.edu.ru
Официальный сайт: <https://nsau.edu.ru>

