



ОТЗЫВ

ведущей организации – Федеральное бюджетное учреждение науки Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук (ИХБФМ СО РАН) – на диссертационную работу Вавиловой Валерии Юрьевны «Сравнительный анализ распространения и генетического разнообразия основных паразитов в природных популяциях шмелей в южных районах Сибири и в Северной Индии», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – генетика

Актуальность темы диссертационной работы

Известно, что вирусы, бактерии, простейшие, грибы и паразитические членистоногие значительный вред природным популяциям и коммерческим колониям шмелей - значимых опылителей диких и культурных растений. В связи со случаями массового резкого снижения численности шмелей в последние 10 лет во всем мире значительно активизировались исследования паразитов шмелей и их патогенов. В частности особый интерес многих научных групп привлекли внутриклеточные паразиты рода *Nosema* (Microsporidia), простейшие рода *Crithidia* (отряд Trypanosomatida) и *Apicystis* (отряд Neogregarinorida). Исследование генетического разнообразия представителей вышеперечисленных родов в природных популяциях шмелей на ранее неизученных территориях является актуальной задачей, поскольку позволяет расширить понимание о географическом распределении микроспоридий, трипаносоматид и неогрегаринов; выявить новые генетические варианты и виды паразитов; оценить восприимчивость различных видов шмелей к заражению паразитами. Поскольку на территории Западной Сибири подобного рода исследования не проводились, а сравнение с паразитами, обнаруженными в других регионах Евразии, представляет интерес, то актуальность диссертационной работы Вавиловой Валерии Юрьевны, посвященной сравнительному изучению распространенности и генетического разнообразия паразитических организмов в природных популяциях шмелей в южных районах Сибири и в Северной Индии, не вызывает сомнений.

Научная новизна исследования и полученных результатов

В рамках диссертационной работы Вавиловой В.Ю. впервые были изучены распространенность и генетическое разнообразие одновременно нескольких паразитов - микроспоридий, трипаносоматид и неогрегарин в природных популяциях шмелей на территориях России и Индии. Основная масса мировых научных публикаций содержит информацию об исследованиях паразитов шмелей на территории Европы, Северной и Южной Америки, где активно изучаются как природные, так и коммерческие популяции насекомых-опылителей. Несмотря на то, что в России и в Индии шмели имеют большое значение для сельского хозяйства, диссертационная работа Вавиловой В.Ю. является одним из первых крупных исследований природных популяций шмелей на территориях этих стран.

В результате исследований Валерия Юрьевна впервые показала, что в природных популяциях на территории южных районов Сибири представлено 4 генетических варианта микроспоридий *N. bombi* (обозначены как WS1-WS4), один вид трипаносоматид *C. bombi* и неогрегарины *Mattesia* sp. и *Apicystis bombi*. Генетические варианты *N. bombi* WS1-WS4 были выявлены и описаны впервые. Вариант неогрегарин *Mattesia* sp., обнаруженный Вавиловой В.Ю., ранее не был описан. Уровень отличия последовательности гена 18S рРНК нового варианта от последовательностей видов рода *Mattesia* позволил предположить, что данный вариант может иметь статус отдельного вида внутри рода *Mattesia*.

В рамках исследования также впервые показано, что на территории Северной Индии в природных популяциях шмелей присутствуют: микроспоридии (генетический вариант *N. bombi* IND) и трипаносоматиды (*C. expoeki*). Неогрегарины родов *Apicystis* и *Mattesia* на данной территории не были выявлены.

В южных районах Сибири и Северной Индии зафиксированы случаи одновременного заражения шмелей несколькими группами паразитов, что согласуется с литературными данными.

Впервые определены виды шмелей, широко распространенные на территории России и являющиеся кандидатами для промышленного разведения в качестве опылителей в теплицах, ввиду низкой подверженности заражению микроспоридиями, трипаносоматидами и неогрегаринами.

Общая характеристика диссертационной работы

Структура диссертационной работы. Диссертационная работа изложена на 140 страницах машинописного текста, построена по традиционному плану и состоит из следующих разделов: список использованных сокращений, введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты и обсуждения, заключение, выводы, список литературы и 6 приложений. Текст диссертации проиллюстрирован 33 рисунками и 6 таблицами. Библиографический указатель включает 136 литературных источников.

Во введении Вавилова В.Ю. четко сформулировала актуальность исследования, его цели и задачи, и представила научную новизну работы, ее теоретическую и практическую значимость, положения, выносимые на защиту, вклад автора, апробацию работы, перечень публикаций соискателя по теме диссертации.

Глава 1 «Обзор литературы» содержит 5 основных разделов. Первые два раздела являются вводными и кратко характеризуют биологию шмелей рода *Bombus* и особенности групп паразитических организмов, поражающих шмелей. Три основных раздела посвящены подробному описанию трех исследуемых в работе групп паразитов: внутриклеточных паразитов типа Microsporidia, простейших отряда Trupanomatida и простейших отряда Neogregarinorida. Данные разделы написаны по единому плану и содержат: общую характеристику паразитической группы, описание жизненного цикла паразитов, особенностей их геномов, доступную информацию о разнообразии и способах распространения паразитов в популяциях шмелей. Материалы этого раздела соответствуют задачам исследования, проведенного соискателем и включают необходимую информацию. Следует отметить, что Вавилова В.Ю. использовала при написании обзора литературы как классические исследования начала XX века, так и современные публикации.

В главе 2 «Материалы и методы» кратко и емко описаны экспериментальные и биоинформатические (теоретические) методы, примененные для решения задач, поставленных в рамках диссертационной работы.

В начале главы 3 «Результаты и обсуждения» Вавилова В.Ю. приводит подробное описание проанализированного природного материала, что значительно облегчает понимание хода исследований и полученных результатов. Основная часть главы 3, как и обзор литературы, структурирована по группам исследуемых паразитов. Для каждой группы приведены результаты теоретического исследования разнообразия паразитов в геномах представителей класса Насекомые, анализ уровня зараженности природных популяций шмелей на территории южной Сибири и Северной Индии, анализ генетического разнообразия паразитов и распространение генетических вариантов в

природных популяциях шмелей. В заключение главы приводятся разделы, описывающие одновременное заражение природных популяций и отдельных образцов шмелей паразитами из трех проанализированных групп (микроспоридии, трипаносоматиды и неогрегарины), а также описание видов шмелей-кандидатов для промышленного разведения.

В разделе **Заключение** подводится итог выполненного исследования - кратко описываются: актуальность, выполненные работы и полученные результаты с оценкой их новизны и значимости.

Выводы, сформулированные соискателем, хорошо аргументированы и соответствуют полученным результатам.

В **Приложения** диссертационной работы вынесены развернутые таблицы и иллюстрации, предназначенные для подробного изучения результатов.

Текст диссертационной работы изложен грамотно и последовательно, оформление соответствует требованиям ВАК. Объемы глав работы сбалансированы, результаты исследований иллюстрированы большим количеством рисунков, таблицами и приложениями. Автореферат адекватно отражает суть и основные результаты диссертационной работы. По теме диссертации опубликовано 2 статьи в научных журналах рекомендованных ВАК, и результаты были представлены на трех конференциях.

Замечания к диссертационной работе

1. Обзор литературы не сопровождается заключением, в котором автор объяснил бы как согласуются литературные данные с постановкой цели и задач данной работы
2. Ни в материалах и методах, ни в результатах не приведены размеры ПЦР фрагментов, которые секвенировались и анализировались соискателем.
3. В разделе «Материалы и методы» отсутствует информация об использованных методах статистической обработки данных. Справедливости ради стоит отметить, что в результатах эта информация присутствует.
4. В описании использованных материалов отсутствуют данные о времени сбора образцов, что не позволяет провести адекватное сравнение данных
5. Остается открытым вопрос, депонировал ли автор полученные им нуклеотидные последовательности в базе данных GenBank.

6. Соискатель не пояснила, какие преимущества дало использование различных пакетов ПО, в то время как использованное ей ПО MEGA позволяло бы осуществить все расчеты, выравнивания и построения.
 7. Выбранный способ отображения деревьев не позволяет визуально быстро и просто оценить попарные расстояния.
 8. В списке использованных сокращений приводятся настолько общеупотребимые аббревиатуры (ДНК, РНК, ПЦР) что кажется совершенно излишним.
- Следует отметить, что приведенные замечания в целом не снижают научной значимости проведенного исследования.

Значимость для науки и практики полученных результатов

Результаты диссертационной работы Вавиловой В.Ю. расширяют знания о паразитах шмелей и заполняют пробел в данных об этих паразитах, обитающих на территории Евразии. В диссертационной работе был проведен анализ разнообразия и распространения микроспоридий, трипаносоматид и неогрегаринов в природных популяциях на ранее не исследованных или слабо исследованных территориях; проведена оценка значимости каждого из исследуемых паразитов в зараженность различных популяций клещей. Кроме того, Вавиловой В.Ю. сделано значительное теоретическое изучение разнообразия данных паразитов у представителей класса Насекомых. На основании полученных данных она смогла обобщить всю имеющуюся информацию о разнообразии видов и генетических вариантах микроспоридий, трипаносоматид и неогрегаринов, поражающих шмелей.

Ключевым результатом исследований Вавиловой В.Ю., имеющим значение для сельского хозяйства России, является выявление видов шмелей, слабо подверженных заражению паразитическими организмами *N. bombi*, *Crithidia* spp., *A. bombi* и *Mattesia* sp. Виды *B. cullumanus*, *B. schrencki*, *B. sichelii* и *B. veteranus* являются перспективными кандидатами для разведения в коммерческих целях. Использование для коммерческого опыления видов шмелей, более устойчивых к различным паразитам, позволит повысить производительность опыления и снизить перекрестное заражение коммерческих популяций шмелей от природных. Кроме того, были определены виды шмелей, характеризующиеся высокой восприимчивостью к заражению микроспоридиями, трипаносоматидами и неогрегариновыми (*B. lucorum*, *B. sporadicus*), данные виды не рекомендуется разводить для решения задач опыления культурных растений.

Обоснованность и достоверность научных положений, выводов и заключений

Вавиловой В.Ю. проанализировано значительное количество образцов шмелей из природных популяций (более 1000 образцов). Оценка достоверности значений уровней зараженности шмелей паразитами в определенных районах Сибири и Индии проводилась с использованием пакета программ STATISTICA. Исследования генетического разнообразия микроспоридий рода *Nosema*, трипаносоматид рода *Crithidia* и неогрегарин рода *Apicystis* были проведены на адекватных маркерных последовательностях, активно используемых исследователями для решения аналогичных задач. Сравнительный и филогенетический анализ был выполнен с использованием современных биоинформатических методов и полных выборок последовательностей паразитических организмов, описанных для представителей класса Насекомых, что позволило определить статус выявленных генетических вариантов.

Таким образом, результаты исследования и сформулированные на их основе выводы и заключения являются достоверными и обоснованными. Основные положения, выносимые на защиту, и выводы логично вытекают из полученных результатов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

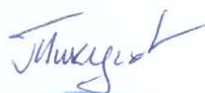
Диссертационная работа Вавиловой Валерии Юрьевны «Сравнительный анализ распространения и генетического разнообразия основных паразитов в природных популяциях шмелей в южных районах Сибири и в Северной Индии», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – генетика, по объему и значимости результатов представляет собой законченную научно-исследовательскую работу, содержащую решение актуальной фундаментальной задачи по исследованию встречаемости и разнообразия опасных паразитов (микроспоридий, трипаносоматид и неогрегарин) в природных популяциях шмелей. Работа имеет теоретическую и практическую значимость. Научная новизна результатов и положений, выносимых на защиту, не вызывает сомнений. Материал диссертационной работы соответствует специальности 03.02.07 – генетика.

Актуальность поставленных и решенных в ходе диссертационной работы задач, большой объем и качество проведенных научных исследований, новизна и высокая научно-практическая значимость полученных результатов, обоснованность приводимых выводов позволяют заключить, что представленная диссертационная работа полностью соответствует требованиям ВАК РФ, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук, перечисленным в п. 9 «Положения о порядке присуждения

ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842 с изменениями от 21.04.2016 № 335, а ее автор, **Вавилова Валерия Юрьевна**, заслуживает присуждения ученой степени – кандидата биологических наук по специальности 03.02.07 – генетика.

Отзыв на диссертационную работу и автореферат Вавиловой Валерии Юрьевны был рассмотрен и утвержден на заседании межлабораторного научного семинара «Молекулярная биология и биотехнология» ИХБФМ СО РАН (протокол №5 от 27.09.2018 года).

Научный сотрудник ИХБФМ СО РАН,
к.б.н.



А.Ю. Тикунов

Подпись А.Ю. Тикунова заверяю
Ученый секретарь ИХБФМ СО РАН,
к.х.н.



П.Е. Пестряков

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук (ИХБФМ СО РАН)

630090, г. Новосибирск, пр. Ак. Лаврентьева, 8

Тел. +7(383) 363-51-50; e-mail: niboch@niboch.nsc.ru; www.niboch.nsc.ru