

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

Камаева Ильи Олеговича, кандидата биологических наук,
ведущего научного сотрудника – заведующего лабораторией экологии и генетики
насекомых и клещей ФГБУ «Всероссийский центр карантина растений»,
на диссертационную работу Голиванова Ярослава Юрьевича
на тему: «Биологические особенности злаковых тлей и устойчивость к ним яровой
тритикале», на соискание ученой степени кандидата биологических наук по
специальности 4.1.3 – Агрохимия, агропочвоведение, защита и карантин растений

Актуальность. Тритикале (*Triticosecale*) является ценной и перспективной зерновой культурой, возделываемой в условиях Нечерноземной зоны России. Влияние на урожайность данной культуры помимо прочих вредителей могут оказывать злаковые тли (Hemiptera: Sternorrhyncha: Aphididae). По указанной причине, а также в силу недостаточной изученности сортовой устойчивости Тритикале к злаковым тлям, настоящая диссертационная работа представляется актуальной. Непосредственно исследование Голиванова Я.Ю. затрагивает важную фундаментальную проблему «взаимодействие фитофаг – растение» на примере злаковых тлей и Тритикале, что имеет прямое практическое значение. Механизмы влияния злаковых тлей на зерновые культуры продолжают активно изучаться в различных аспектах (генетическом, морфологическом, биохимическом и т.д.), что важно для выработки стратегии борьбы с вредителями или минимизации наносимого ими ущерба с учетом регионального подхода.

Цель исследования, сформулированная автором, - оценить биологические особенности обыкновенной злаковой (*Schizaphis graminum* R.) и черемухово-злаковой (*Rhopalosiphum padi* L.) тли, ассоциированные с устойчивостью к ним сортообразцов тритикале в лабораторных и полевых условиях Московского региона.

В соответствии с текстом рукописи в **задачи** работы входило: 1. Провести оценку сроков жизни, репродуктивного периода, количества потомства двух видов злаковых тлей и влияние некоторых применяемых на зерновых культурах агрохимикатов (Экопин, Вэрва, Силиплант) на численность тлей в лабораторных условиях. 2. Оценить в полевых и лабораторных условиях устойчивость к тлям (по интенсивности заселения растений) сортообразцов яровой тритикале из коллекции РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, с учётом влияния повреждений тлями на некоторые физиологические параметры растений. 3. Выявить генетический полиморфизм популяций тлей в полевых условиях.

Научная новизна работы Голиванова Я.Ю. заключается в определении наименее заселяемых злаковыми тлями сортообразцов Тритикале в условиях Центрального Нечерноземья (в полевых и лабораторных условиях). Автором установлено опосредованное влияние агрохимикатов Экопин, Вэрва и Силиплант на численность модельных видов тлей, развивающихся на Тритикале. С помощью микросателлитного анализа выявлен и описан генетический полиморфизм локальной популяции большой злаковой тли для территории Центрально-европейской части России (см. комм. на стр. 5 настоящего отзыва).

Теоретическая и практическая значимость полученных результатов заключается в определении потенциального материала для селекции устойчивых сортов Тритикале, исследовании некоторых аспектов воздействия злаковых тлей на растения данной культуры, а также изучения наиболее вероятных механизмов косвенного влияния удобрений и препаратов на численность вредителей.

Публикации и апробация работы. Требование п. 13 Положения о присуждении ученых степеней, утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 N 842 в действ. ред., о публикации 2 статей в рецензируемом издании, которое входит в Перечень ВАК Минобрнауки РФ, Голивановым Я.Ю. выполнено. Автор имеет публикации по теме исследования. Результаты работы апробированы на четырех конференциях, проходивших на территории Российской Федерации в 2016-2020 гг., из них три носили международный характер.

Структура и объем диссертации. Диссертационная работа изложена на 152 страницах, из них 144 составляет основная часть, которая содержит 66 рисунков, 14 таблиц; на 8 страницах представлено 1 приложение в табличной форме.

Характеристика работы

Введение. Данный раздел содержит актуальность, цели, задачи исследования, научную новизну, теоретическую и практическую значимость, основные положения, выносимые на защиту, степень достоверности и апробацию результатов; здесь приводится информация о личном вкладе автора (заявлен равным 90%); дана краткая характеристика публикаций по теме исследования, общих сведениях о структуре и объеме диссертации.

Обзор литературы. Данная глава содержит сведения о Тритикале (*Triticosecale*), вредителях зерновых колосовых культур в Центральном регионе России, особенностях биологии отдельных видов зерновых тлей, генетических и физиологических основах устойчивости злаковых растений к тлям, применении агрохимикатов в отношении злаков.

Комментарии по главе «Обзор литературы». Вызывает некоторое недоумение, что на работы к.б.н. М.Н. Берим, ВИЗР – профильного специалиста по вредоносным видам Arhidae, включая злаковых тлей, в тексте диссертации приведено всего лишь две ссылки. В частности, вовсе не рассмотрены методы мониторинга злаковых тлей (Берим, 2014). Кроме того, не обсуждаются существующие подходы к учету тлей и оценке их воздействия на злаковые растения, в том числе и в лабораторных условиях, другого профильного специалиста – д.б.н. Е.Е. Радченко, ВИР (например, Радченко, 1997, 2008). Это замечание справедливо в отношении анализа работ и кандидатской диссертации Е.С. Гандрабур, ВИЗР (2015, 2016, 2019).

Материалы и методы исследований. Приведено описание материалов и методов, применяемых в работе как в полевых, так и в лабораторных условиях (включая исследования параметров морфологии, физиологии (биохимии) растений Тритикале при заражении тлями).

По данному разделу имеются следующие вопросы и замечания. Следует уточнить объем исследованного материала: в подразделе материалы приведено 66 наименований исследованных сортообразцов (табл. 1), тогда как в результативных главах приведено 60 сортообразцов на стр. 65-66, рис. 19; 62 сортообразца на стр. 68, рис. 20; 19 сортообразцов на стр. 76-77 и в табл. 8; по 90 сортообразцов на стр. 82, рис. 30 и на стр. 84, рис. 31. Различия в числе исследованных сортообразцов в каждом конкретном случае требуется прояснить.

С чем связан выбор методики Дунаева (1997) для учета тлей в полевых условиях?

В чем заключается принципиальная новизна конструкции для лабораторного содержания тлей, разработанная автором? Этот момент стоило бы подчеркнуть, так как, несомненно, является достоинством работы.

По какой методике проводили измерение толщины клеточной стенки и какое оборудование использовали, кроме фотонасадки TopCam 5.1?

Результаты и их обсуждение. В этой главе приводятся сведения об оценке параметров отдельных этапов онтогенеза и репродуктивной способности обыкновенной злаковой и черемухово-злаковой тлей на разных сортообразцах яровой тритикале, выделены наименее заселяемые тлями сортообразцы; получены данные о численности тлей на сортовой коллекции яровой тритикале в полевых условиях; проведено исследование генетического полиморфизма методом микросателлитного анализа локальных популяций трех видов тлей (на территории РГАУ-МСХА).

Автором исследована динамика физиологических и биохимических показателей растений Тритикале с учетом поражаемости тлями, в частности, изучены каталазная активность, уровень клеточного осмотического давления, концентрации фотосинтетических пигментов, а также содержание белка в качестве возможного фактора, обуславливающего трофические предпочтения тлей.

Проведено измерение толщины клеточной стенки растений Тритикале без обработки и с обработкой кремниевым удобрением Силиплант, рекомендованным для повышения урожайности зерновых культур, включая Тритикале. Было выявлено опосредованное влияние данного удобрения на увеличение репродуктивных показателей модельных видов тлей, что автор связывает с ростовыми процессами растений, облегчающими питание изучаемой группы вредителей за счет уменьшения толщины клеточной стенки. Автором изучены показатели репродуктивной способности тлей на различных сортообразцах Тритикале при использовании регуляторов роста Вэрва и Экопин, в результате чего численность модельных видов вредителей может возрастать.

Комментарии и замечания по главе «Результаты и обсуждения»: значительная часть количественных данных представлена только в графическом виде, без числового выражения (рис. 19-20, 28-33, 45, 47-66). По мнению оппонента, средние значения с ошибкой среднего (или стандартным отклонением), а также минимальные и максимальные значения следовало бы представить в табличном виде, например, в приложении.

В подразделе 3.2, посвященном черемухово-злаковой тле, в подписях к рис. 22-24 явно ошибочно указана большая злаковая тля.

В подразделе 3.3 выделение наименее и наиболее заселяемых двумя видами тлей сортообразцов Тритикале не в полной мере соответствует количественным данным, представленным на рис. 30 и 31.

Так, на стр. 82 перечисленные наименее заселяемые черемухово-злаковой тлей сортообразцы в сравнении с рис. 30 вызывают вопросы, при этом в автореферате (стр. 15) текстовые и графические данные соответствуют друг другу. Однако и в тексте диссертации (стр. 82), и в автореферате (стр. 15) утверждение о наиболее заселяемых сортообразцах представляется спорным, т.к. не совпадает с данными на рис. 30, и по этой причине требует критического пересмотра.

Перечисление наименее и наиболее заселяемые большой злаковой тлей сортообразцы (стр. 84) не в полной мере соответствуют данным на рис. 31: в частности, в тексте приведен s1724, на рисунке – s1728; указание как наиболее заселяемых тлями сортообразцов Л1348, 09228, С246, П13-5-13 вызывает вопросы к критериям выбора, т.к. сортообразцы с аналогичными или более высокими значениями не приведены (например, r20-5-138, 9086; 8574, 8857, 9304, 8-35-3 и др.); кроме того представляется явно ошибочным

указание на сортообразец Ярило как наиболее заселяемый. Это также нуждается в критическом пересмотре.

Заключение в целом отражает основные положения и выводы, сделанные по результатам исследования, хотя и содержит неточности, проистекающие из результативной главы:

- относительно п.1 заключения текста диссертации и автореферата замечания касаются небольших разночтений в значениях биологических показателей для черемухово-злаковой тли с данными из раздела 3.2 результативной главы (например, средняя длительность репродуктивного периода 12,5 и 11,6, соответственно);

- в п. 2 текста диссертации ошибочно указаны наименее заселяемые черемухово-злаковой тлей сортообразцы в лабораторных условиях (Ярило и линия 08821), что проверяется сравнением с текстом на стр. 69 (в автореферате эта фраза удалена);

- пп. 3 Заключения диссертационной работы и автореферата не в полной мере соответствуют друг другу, неточности касаются наименее и наиболее заселяемых большой злаковой тлей сортообразцов (см. комм. выше).

Автореферат в целом соответствует содержанию диссертационной работы, за исключением раздела 2.2.5 про статистическую обработку (см. комм. ниже), описания отдельных результатов раздела 3.3 результативной главы и некоторых положений п. 3 заключения (см. комм. выше).

Список источников формально включает 154 наименования, из них 118 – зарубежные. Следует отметить, что часть источников из списка не приведена в тексте диссертации, например, работа Шапошникова (1964) по Aphidinea из сводки «Определитель насекомых европейской части СССР» (п. 36 стр. 131), работы Blackman&Eastop (2000), Blackman (2010), Bradley (2015) (пп. 45, 46 и 48 на стр. 132, соответственно), Budavari (п. 50 на стр. 133) и т.д. Наоборот, часть ссылок, приведенных в тексте диссертации, отсутствует в списке источников, например, на стр. 4 даны ссылки на работы Гандрабур (2015, 2019) и Радченко (1990, 2000, 2019), на стр. 19 дана ссылка на работу Берим (2005), на стр. 21 ссылка на Шапошникова и др. (2011) и т.д.

К работе имеются следующие **замечания общего характера**:

Требуется конкретизировать исследуемые виды злаковых тлей с обоснованием выбора модельных объектов в соответствующих разделах работы. В цели работы (стр. 5) указаны лишь два вида тлей (обыкновенная злаковая *Schizaphis graminum* и черемухово-злаковая тли *Rhopalosiphum padi*), тогда как в названии заявлены «злаковые тли» без уточнения видов. При этом в диссертационной работе значительное место также уделяется большой злаковой тле (*Sitobion avenae*) в главах «Материалы и методы» (стр. 56), «Результаты и обсуждение» (стр. 83-85, 88-97), «Заключение» (стр. 126-127). Также в тексте фигурирует и четвертый вид – свекловичная тля (*Aphis fabae*), которая, кроме главы «Литературный обзор», неоднократно упоминается автором на стр. 56 главы «Материалы и методы» и на стр. 90, 92, 96-97 в разделе, посвященном микросателлитному анализу. В связи с вышеизложенным следует отметить, что в главе «Материалы и методы» не приведены сведения о методах идентификации видов тлей, объеме определенного материала, используемых источниках, оборудовании, реактивах и расходных материалов.

Замечание относительно проведенной математической (статистической) обработки данных. На стр. 6 текста диссертации и стр. 5-6 автореферата соискатель

утверждает об использовании дисперсионного и корреляционного анализов. Этому противоречит подраздел 2.2.5 «Статистическая обработка» Главы «Материалы и методы» текста диссертации (стр. 57), где указано, что проводили «вычисление средних значений, доверительных интервалов, коэффициента корреляции и t – критерия Стьюдента». Только на стр. 78 упоминается, что «использовался дисперсионный анализ и критерий Фишера». При этом не приведено никаких данных о типе анализа (однофакторный или многофакторный?) и его результатах (значение критерия F , число степеней свободы и т.д.), кроме указания «уровень значимости отличий составил 0,002». В дальнейшем просто указывается о наличии или отсутствии достоверных различий без соответствующего подкрепления (за исключением стр. 79, где просто приведен уровень значимости).

Сведения о применении «корреляционного анализа» (указание коэффициента корреляции, его значение и p) и t –критерия Стьюдента (включая результаты тестирования соответствия выборок указанному распределению, значения критерия и p) в результативной главе рукописи не были обнаружены.

Исходя из текста рассматриваемой диссертационной работы можно констатировать, что даны лишь статистические оценки (среднее значение и доверительный интервал, в подавляющем большинстве случаев в графическом виде), но при этом нет очевидных свидетельств о проведении заявленного математического (статистического) анализа данных, подкрепляющего выводы и не вызывающего вопросов.

Замечания относительно исследования генетического полиморфизма злаковых тлей. Фактически был проведен только микросателлитный анализ. Применяемые в работе праймеры (стр. 56, табл. 5) даны без ссылок на источники. Например, праймеры по локусам Sm10, Sm12, Sm 17 для большой злаковой тли (*Sitobion avenae*) разработаны двумя группами авторов в конце 1990-нач. 2000-х гг. (Malloch et al., 2014; Xin et al., 2014).

Автором утверждается (стр. 5), что «получены новые знания о генетическом полиморфизме по некоторым локусам микросателлитной ДНК в популяции большой злаковой тли.». Тезис нуждается в конкретизации; тем более, что детального анализа источников по данному вопросу не было проведено: автор ограничивается одним отчетом Malloch et al. (2014). Для примера, только в статье Xin et al. (2014), относящейся к обсуждаемой теме, приведены ссылки на 18 работ по генетике популяций тлей, включая *Sitobion avenae*. К настоящему времени можно лишь утверждать, что автором с помощью микросателлитного анализа выявлен и описан генетический полиморфизм локальной популяции большой злаковой тли, и судя по отсутствию аналогичных публикаций, впервые для территории Центрально-Европейской части России.

К рукописи также имеются **замечания редакционного характера**. Текст содержит большое количество опечаток; пропущены знаки пунктуации; рассматриваемая рукопись требует редакторской правки. Страницы 82-89 текста диссертации не пронумерованы. Следует также упомянуть отсутствие в ряде случаев ссылок в тексте; например, на стр. 69 и 95 приведены фразы «По литературным данным...» без соответствующего подкрепления. Здесь же уместен комментарий о том, что список источников оформлен не в соответствии с действующими стандартами по библиографическому описанию.

В целом, проведенное автором диссертационное исследование носит преимущественно дескриптивный характер, представляется объемным, включает большую экспериментальную часть, выполненную в лабораторных и полевых условиях, хотя и содержит все вышеуказанные недостатки. Автором в результате исследований получены

интересные оригинальные и новые данные по биологии отдельных видов злаковых тлей и их воздействию на большое число сортообразцов Тритикале и некоторых аспектов их физиологии, что имеет также практическое значение для развития сельского хозяйства – селекции и возделывания устойчивых сортов данной культуры в условиях Центральной Нечерноземной зоны России.

Считаю, что по совокупности выполненных экспериментальных работ и объема полученных новых и оригинальных данных представленное диссертационное исследование является научно-квалификационной работой и соответствует критериям Положения о присуждении ученых степеней, утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 N 842 в действ. ред. Соискателю Голиванову Ярославу Юрьевичу может быть присуждена ученая степень кандидата биологических наук по специальности 4.1.3. – Агрехимия, агропочвоведение, защита и карантин растений.

Камаев Илья Олегович
кандидат биологических наук
(03.02.08 – Экология, 2012),
ведущий научный сотрудник-заведующий
лабораторией экологии и генетики
насекомых и клещей
ФГБУ «Всероссийский центр карантина
растений» (ФГБУ «ВНИИКР»)

«29» мая 2023 г.

Адрес организации:
140150, Московская область, г.о Раменский,
р.п. Быково, ул. Пограничная, д. 32
тел. +7 (499) 707-22-27
<https://vniikr.ru/>
E-mail: vniikr@fsvps.gov.ru

Подпись Камаева И.О. заверяю:
Начальник отдела кадров
Л.В. Петушкова

«29» мая 2023 г.

Зам. директора А.А. Соловьев

«29» мая 2023 г.

Источники, упомянутые в отзыве и отсутствующие в рассматриваемой диссертационной работе:

Берим М.Н. Методы мониторинга злаковых тлей // Защита и карантин растений. 2014. 5. С. 31-33.

Радченко Е.Е. Генетические основы селекции культивируемых злаков на устойчивость к тлям: автореф. дис. докт. биол. наук. СПб, 1997. 47 с.

Радченко Е.Е. Злаковые тли // Изучение генетических ресурсов зерновых культур по устойчивости к вредным организмам. Методическое пособие / Под редакцией д-ра биол. наук Е.Е. Радченко. Россельхозакадемия, 2008. С. 214-257.

Xin J.-J., Shang Q.-L., Desneux N., Gao X.-W. Genetic Diversity of *Sitobion avenae* (Homoptera: Aphididae) Populations from Different Geographic Regions in China // PLOS ONE.2014. 9(10). P. 1-10.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0109349>