

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию Охлопковой Олеси Викторовны «Оптимизация культивирования непарного шелкопряда для получения вируса ядерного полиэдроза и исследование эффективности вируса в композиции с *Bacillus thuringiensis*», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности: 03.01.06 - биотехнология (в том числе бионанотехнологии)

Актуальность темы. Актуальность темы диссертации обусловлена значительным ущербом лесным биогеоценозам, наносимым дефолиацией древостоев лесными насекомыми-филлофагами во время вспышек массового размножения и необходимостью в связи с этим поиска наиболее оптимальных средств и методов борьбы, причиняющих минимальный вред нецелевым видам.

Научная новизна. Предложена новая искусственная питательная среда для выращивания гусениц непарного шелкопряда *Lymantria dispar* (L.). Оценена скорость достижения целевого (III) возраста гусеницами непарного шелкопряда при культивировании на искусственных кормах. Получены актуальные данные по влиянию гидротермических условий на культивирование насекомых. Получен новый, более вирулентный штамм вируса ядерного полиэдроза непарного шелкопряда и изучена чувствительность данных насекомых к нему. Предложены новые варианты комбинирования энтомопатогенных агентов для наиболее эффективного контроля численности непарного шелкопряда.

Обоснованность результатов и достоверность выводов подтверждается достаточным объемом экспериментального материала и его корректной обработкой.

Практическая значимость. Разработка поможет оптимизировать выращивание лабораторных насекомых, что позволит увеличить эффективность технологии, сократив время производства и трудозатраты на культивирование и наработку вирусной биомассы.

Апробация работы. Результаты работы докладывались на шести международных и российских конференциях.

Личный вклад соискателя. Участие в постановке задач, анализ литературных данных, проведение экспериментов, создание новой, экспериментально полученной искусственной питательной среды, ежегодный сбор яйцекладок непарного шелкопряда, проведение обследований и полевых обработок в Кыштовском районе Новосибирской области, экспедиционная работа, участие в статистической обработке полученных результатов и написании нормативной документации.

Публикации. По материалам исследований опубликовано 2 статьи в журналах перечня ВАК. Получен патент «Штамм вируса ядерного полиэдроза непарного шелкопряда *Lymantria dispar* (L.), используемый для получения инсектицидного препарата».

Структура и объем диссертации. Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, результатов и их обсуждения, выводов и списка цитируемой литературы. Работа изложена на 118 страницах, включает 10 рисунков, 11 таблиц, 3 приложения. Список литературы включает 142 источника.

Содержание автореферата соответствует содержанию диссертации.

Анализ содержания диссертационной работы.

Глава 1. Литературный обзор.

Литературный обзор состоит из семи разделов.

1.1. История развития прикладной энтомологии

1.2. Глобальные проблемы, связанные с насекомыми-вредителями

1.3. Современные биологические методы контроля численности насекомых-фитофагов

1.4. Обширный полифаг – непарный шелкопряд

1.5. Характеристика Новосибирской области как района обитания непарного шелкопряда

1.6. Динамика вспышек массового размножения непарного шелкопряда в Новосибирской области

1.7. Анализ современных подходов к культивированию непарного шелкопряда как основного звена в наработке вирусной биомассы

В этих разделах подробно освещена современная литература, посвященная проблемам, рассматриваемым в диссертации.

Глава 2. Материалы и методы

Глава состоит из девяти разделов, в которых подробно описаны объекты и методики исследований. Заключает главу раздел, в котором описаны статистические методы, применявшиеся при обработке полученных результатов.

Глава 3. Результаты и обсуждение

В главе подробно описаны результаты, полученные в ходе исследования.

В заключении и выводах представлено краткое резюме результатов исследований.

Текст диссертации показывает хорошее знание соискателем объекта исследований, диссертация написана неплохим литературным языком, иллюстрирована качественными таблицами и графиками. Ссылки на использованные материалы корректны и отмечены в диссертации. Полученные результаты соответствуют поставленным целям и задачам, тема диссертации соответствует заявленной научной специальности.

Однако к тексту диссертации есть ряд замечаний.

Замечания по оформлению.

1. Встречаются неудачные формулировки.

Например, «Их применение не имеет последствий для человека, животных и растений» (стр. 5, последний абзац). Но насекомые – тоже животные. Стр. 14 «Были получены значительные успехи». Успехов достигают. Стр. 15 «Лес – основная составная часть биосферы». Значительная, но никак не основная. Глава «Обзор литературы», раздел 4. «Обширный полифаг – непарный шелкопряд». Полифаги бывают широкими, но не обширными. И другие.

2. Не совсем правильное написание латинского названия непарного шелкопряда. *Lymantria dispar* L. Согласно зоологической номенклатуре, при изменении названия рода автор описания вида берется в скобки. А название рода у лимантрий менялось несколько раз.

3. Стр. 5, Введение, первый абзац. Нет ссылки, из какого источника взяты приведенные сведения.

4. стр. 6, задача 3, «стандартизация, получаемых насекомых, посредством фиксации основных параметров». О чем идет речь, не понятно.

5. Стр. 7-8. Положения, выносимые на защиту.

Положения, выносимые на защиту, необходимо формулировать в формате теоремы, а не полученных результатов.

6. Стр. 52, табл. 2. Что имеется в виду под «целевым возрастом», который указан в 30-40 суток, что крайне сомнительно. В «Научной новизне» он указан как III.

Замечания по существу.

1. Стр. 56. «К инкубации яйцекладки были готовы уже в ноябре, но наиболее высокие основные показатели были получены после активации яйцекладок в марте».

Что означает эта фраза? Высокий процент отрождения гусениц или что-то другое? Это скорее не замечание, а вопрос, и вопрос важен, так как если уже в ноябре в течение 10 суток фиксировалось до 90% отрождения, это означает крайне короткую диапаузу. И если это было отмечено неоднократно, это крайне интересный и важный результат.

2. Стр. 66. Результаты. Подбор физических условий (правильнее было бы – гидротермических, так как анализировали влияние только температуры и влажности).

Нет данных, на какой среде проводили выращивание, что такое «сутки от активации яиц» (таблица 4) – выставление яиц на отрождение, отрождение или что-то другое? Не указана смертность, а это очень важный показатель для такого рода анализа.

3. Стр. 67. «В данном случае повышенная влажность была благоприятна только в первую неделю культивирования насекомых, в дальнейшем она провоцировала учащение контаминации ИПС бактериями и грибами, что увеличивало частоту замены корма».

Смысл фразы непонятен. Для чего «благоприятна», для трудозатрат по выращиванию или для развития гусениц? Опять не указана смертность.

4. Стр. 69. «А вот при одинаково высокой температуре, но разнице в показателях влажности можно отметить менее отрицательные показатели относительно наиболее оптимальной температуре $26^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ и влажности $70\% \pm 6\%$ » В каких единицах размерности выражается «меньшая отрицательность»?

5. Стр. 70. «Наиболее эффективной ИПС, среди предложенных, оказалась среда, основным компонентом которой, являлись бобы чечевицы (рецептура № 2 в гл. Материалы и методы, подраздел 2.1). Остальные составы нуждаются в дальнейшей доработке». Где данные о тестировании сред? И еще небольшое замечание к результатам по тестированию сред. Для того чтобы выносить объективную оценку, желательно тестирование в течение нескольких лет.

6. Стр. 72-73. «Чтобы решить данную задачу с интервалом в 3 месяца была осуществлена активация яиц НШ. В итоге было в среднем получено 45 пар имаго и 97 кладок яиц, одна кладка содержала в себе примерно от 50 до 250 яиц».

Совершенно не понял этот абзац. Активацию яиц с интервалом в три месяца еще можно понять, как проведение двух выращиваний (одно, через 3 месяца – другое), но как понять 45 пар имаго и 97 кладок яиц? Если пара – самец и самка, как получилось 97 кладок? Самка, если ее не беспокоить, откладывает одну кладку. Или имелись в виду только самки, но тогда почему их парами считали? Да и весь этот абзац противоречит последующему тексту и таблице 7.

7. Таблица 7. Выживаемость на стадии имаго в среднем 12%. Выживаемость до имаго очень низкая. Почему?

8. Стр. 74. «Для стандартизации насекомых, передаваемых на работу вирусной биомассы, был разработан акт передачи гусениц НШ»
Что имеется в виду под «стандартизацией»?

9. Стр. 79. Полевые эксперименты. Республика Алтай. Стр. 63. «Для сравнения был обработан участок леса площадью 2 га вирусным препаратом на основе ВЯП НШ-07.» Означают ли приведенные данные, что на контрольном участке (где была проведена обработка вирусом), защитный эффект составил от 50 до 30%? Почему не был подобран еще один контрольный участок, без какой-либо обработки?

Новосибирская область Кыштовка - Стр. 64. Кыштовка «В качестве контроля использовали необработанный препаратами участок леса.»

Учитывая то, что в Кыштовке в качестве контроля был использован необработанный участок, насколько корректно объяснять более высокий защитный эффект по сравнению с Алтаем обработкой по более младшим возрастам.

Приведенные замечания ни в коей мере не умаляют значимость исследования.

Оценивая работу в целом, необходимо заключить, что по постановке проблемы, ее разработке, методическому подходу, теоретической и практической значимости диссертация Охлопковой Олеси Викторовны «Оптимизация культивирования непарного шелкопряда для получения вируса ядерного полиэдроза и исследование эффективности вируса в композиции с *Bacillus thuringiensis*» соответствует требованиям Положения о порядке присуждения ученых степеней ВАК РФ (п. 9), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.06 - биотехнология (в том числе бионанотехнологии)

Зам. директора по науке, зав. лаборатории лесовосстановления,
защиты леса и лесопользования

Ботанического сада УрО РАН, доктор биологических наук
(по специальности 06.01.07 – Защита растений)

В.И. Пономарев

26 ноября 2019 г

Россия, 620144 г. Екатеринбург ФГБУН Ботанический сад Уральского от-
деления Российской академии наук, ул. 8 Марта 202 а, тел (343) 322 56 27

Email: vi.ponomarev@mail.ru

Подпись В.И. Пономарева подтверждаю
Ученый секретарь Ботсада УрО РАН



Флягин Е.Н.