

## **Отзыв официального оппонента**

на диссертационную работу Охлопковой Олеси Викторовны на тему: «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.**

Лес представляет собой уникальный элемент биосферы, имеющий как экологическое, так и экономическое значение. Насекомые-вредители, одним из которых является непарный шелкопряд, наносят ежегодный значительный ущерб лесным ресурсам. На протяжении длительного времени для борьбы с насекомыми-вредителями использовали химические пестициды. Однако эти средства наносят серьезный вред окружающей среде, а также формируют устойчивость у насекомых-фитофагов.

В связи с этим исследование биологических способов борьбы с вредителями и разработка биопестицидов на основе их естественных врагов с применением современных методов биотехнологии является крайне актуальной. Диссертационная работа Охлопковой Олеси Викторовны посвящена оптимизации культивирования непарного шелкопряда в лабораторных условиях для наработки вируса ядерного полиэдроза, а также исследованию патогенности двух штаммов вируса и композиции вируса совместно с *Bacillus thuringiensis* в отношении указанного вредителя.

### **Научная новизна и практическая значимость исследования и полученных результатов**

В результате проведенных исследований разработан новый состав искусственной питательной среды, показавший высокую эффективность при культивировании личинок непарного шелкопряда. Также получен новый, более вирулентный штамм вируса ядерного полиэдроза и предложены новые варианты комбинирования энтомопатогенных агентов для эффективного снижения численности непарного шелкопряда.

### **Обоснованность и достоверность научных положений и выводов**

Достоверность полученных результатов не вызывает сомнения. Положения, выносимые на защиту, согласуются с данными приведенными в диссертационной работе. Выводы обоснованы.

### **Структура и объем работы**

Диссертационная работа включает: список сокращений, введение, обзор литературы, описания материалов и методов, результатов и их обсуждения, заключение, выводы, библиографический список (142 источника), приложения. Объем работы составляет 118 страниц, содержит 10 рисунков, 11 таблиц. Автореферат отражает основное содержание диссертации.

Во введении диссертант обосновал актуальность изучаемой проблемы, описал существующие разработки в данной области, обозначил цель и задачи исследования, привел положения, выносимые на защиту.

Обзор литературы включает в основном анализ отечественных источников литературы, а также дан анализ зарубежных источников, относящихся к исследуемой проблеме. В разделе Обзор литературы описана история развития прикладной энтомологии, рассматриваются проблемы связанные с насекомыми-вредителями, современные биологические методы контроля численности насекомых-фитофагов, дана характеристика Новосибирской области как района обитания карантинного вредителя - непарного шелкопряда, рассмотрены современные подходы к культивированию этого вредителя, как основного звена в наработке вирусной биомассы. Следует отметить, что отдельные части данного раздела описаны автором излишне подробно.

Глава «Материалы и методы» содержит описание используемых в работе реактивов, материалов и методов, что позволяет воспроизвести проведенные эксперименты.

В разделе «Результаты и обсуждение» приводятся результаты по культивированию личинок и имаго непарного шелкопряда в лабораторных условиях, исследована динамика изменения веса гусениц и соотношение возрастных групп личинок вредителя при разных условиях культивирования. Также исследована биологическая активность двух штаммов вируса ядерного полиэдроза и динамика гибели гусениц при заражении, как отдельно вирусным агентом, так и в сочетании вирусного с бактериальным агентом. Проведены полевые исследования и получен положительный результат. Стоит отметить излишнюю лаконичность изложения раздела «Результаты и обсуждение» - раздел изложен на 16 страницах, из которых примерно половину занимают рисунки и таблицы (в данном разделе 9 таблиц и 8 рисунков).

### **Замечания**

1. Положения, выносимые на защиту, сформулированы как выводы, но их необходимо формулировать иначе.



2. Обзор литературы (Глава 1) составляет 37 % от общего объема диссертации, что довольно много, также в некоторых местах следовало бы указать ссылки на авторство.
3. В подписях к таблицам и рисункам не достаточно информации. Например, отсутствуют ссылки на авторство в таблицах 1 (стр. 50) и 2 (стр. 52). На рис. 2 (стр. 61) автор не приводит масштаб.
4. При описании стерилизации искусственных питательных сред используется УФ-излучение (стр. 55). В данном случае не понятно, почему автор не прибегает к автоклавированию, являющемуся стандартным способом стерилизации питательных сред?
5. В работе наблюдается некоторое несоответствие. Например, в Главе 2 (Материалы и методы) автор указывает, что испытывали всего 2 состава питательных сред (стр. 54): ИПС №1 (контроль) и ИПС № 2 (опыт) и приводит их состав, а в Главе 3 (Результаты и обсуждения) пишет, что апробировано 5 составов питательных сред и также указывает их состав (стр. 69), при этом состав ИПС № 2 дублируется. Не лучше ли было бы приводить состав ИПС в Главе 2 (Материалы и методы)?
6. При обсуждении влияния питательных сред на развитие гусениц автор указывает, что «остальные составы нуждаются в дальнейшей доработке» (стр. 70), однако не указывает причину. Чем это обусловлено, гибелью личинок насекомых или их медленным развитием? Если это связано с развитием, то желательно было бы привести динамику роста.
7. При описании результатов (Глава 3, стр. 66) автор начинает изложение с более удачных результатов, а заканчивает менее удачными (стр. 67), однако логичнее было бы описывать результаты в обратном порядке.
8. На стр. 69 автор также описывает самые неблагоприятные показатели для развития личинок непарного шелкопряда, но непонятно, почему не описываются самые благоприятные показатели, ведь цель данной работы заключается в получении положительных, а не отрицательных результатов?
9. В работе автор использует электронно-микроскопические исследования штаммов вируса ядерного полиэдроза, однако в тексте диссертации не приводит ни одной иллюстрации, хотя эти данные могли бы послужить украшением работы.
10. В диссертации 80 % ссылок на старые работы (сделанные более 30 лет назад), а доля ссылок на работы последнего десятилетия составляет около 10 %, хотя в данной области исследования, несомненно, должно быть достаточное количество современных работ.

11. При проведении полевых испытаний в 2017 году в районе с. Шебалино (Республика Алтай) обрабатывали участок леса смесью вирусного и бактериального агентов. В качестве сравнения обрабатывали участок леса только вирусным препаратом (положительный контроль). Однако хорошо было бы учитывать еще и отрицательный контроль, которым бы служил не обработанный участок леса.

Указанные замечания не снижают значимости полученных результатов и не влияют на общую положительную оценку диссертационного исследования О.В. Охлопковой.

### **Заключение о соответствии диссертации критериям, установленным Положением о порядке присуждения ученых степеней**

Основные результаты диссертации опубликованы в 8 научных работах, в том числе 2 научных статьях в рецензируемых журналах, включенных в список ВАК, получено 2 патента. Результаты диссертационного исследования прошли апробацию на нескольких конференциях различного уровня.

Диссертационная работа Охлопковой Олеси Викторовны «Оптимизация культивирования непарного шелкопряда для получения вируса ядерного полиэдроза и исследование эффективности вируса в композиции с *Bacillus thuringiensis*» представляет собой законченное исследование, выполненное современными методами. В диссертации представлены новые подходы к созданию средств борьбы с карантинным фитофагом - непарным шелкопрядом. Полученные данные можно потенциально экстраполировать на родственные виды карантинных насекомых, например, сибирского шелкопряда или шелкопряда-монашенку.

По актуальности темы, новизне и значимости полученных результатов диссертационная работа Охлопковой О.В. соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор, Охлопкова Олеся Викторовна заслуживает присвоения ей степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.06 – биотехнология (в том числе нанотехнологии).

Официальный оппонент:  
кандидат биологических наук,  
старший научный сотрудник  
лаборатории Биотехнологии  
ФГБУН ЦСБС СО РАН



Татьяна Витальевна Железниченко

