

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу

Наталии Валериевны Мацишиной

«БИОХИМИЧЕСКИЕ, МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ
ПОПУЛЯЦИИ ДВАДЦАТИВОСЬМИПЯТНИСТОЙ КАРТОФЕЛЬНОЙ КОРОВКИ
HENOSEPILOACHNA VIGINTIOCTOMACULATA (MOTSCHULSKY, 1858) (COLEOPTERA,
COCCINELLIDAE) В АГРОЭКОСИСТЕМАХ»,

представленную на соискание ученой степени доктора биологических наук по
специальности 1.5.14 – Энтомология

Диссертационная работа Н.В. Мацишиной посвящена нативному виду Дальнего Востока России, двадцативосьмипятнистой картофельной коровке *Henosepilachna vigintioctomaculata* Motschulsky, 1838. Ее ареал охватывает Приморский и Хабаровский края, Южный Сахалин, Кунашир. Отмечена она в Китайской Народной Республике, Японии и Индии.

В литературных источниках встречаются сведения об этом экономически значимом насекомом, но эти сведения фрагментарны и не дают целостного представления о биохимических, морфологических и экологических особенностях вида. Антропогенное воздействие на экосистемы привело к структурно-функциональной трансформации биологических сообществ и в результате механизм регуляции взаимоотношений между кормовыми растениями – продуцентами и организмами в цепи питания – консументами нарушен. На современном этапе важно изучить и провести анализ механизма развития структурной и функциональной целостности организмов, их органов и тканей, адаптированных к тем или иным лимитирующим факторам среды. Это позволит разработать эффективные методы регулирования численности двадцативосьмипятнистой картофельной коровки в условиях Дальнего Востока России, что свидетельствует об актуальности и новизне исследований Мацишиной Наталии Валериевны.

Новизна исследований заключается в системном исследовании биологии и экологии двадцативосьмипятнистой картофельной коровки *Henosepilachna vigintioctomaculata* Motschulsky в агроэкосистемах. На основе анализа аллелохимических взаимодействий в системе «картофельная коровка – растение картофеля» впервые показано значение иммунологических барьеров растений-реципиентов (картофеля) как важного механизма регулирования численности и жизнеспособности данного вида. Выполненная работа значительно дополнила представление о роли иммунитета растений в адаптивной реакции насекомых-фитофагов. Впервые описаны морфологические аномалии *Henosepilachna vigintioctomaculata* Motschulsky, 1858, выявлена зависимость между возникновением тератозов и сортом картофеля. Впервые приводятся данные о влиянии качества пищи на состояние особей в популяции коровки, смертность, плодовитость, выработку гормонов стресса.

Н.В. Мацишиной описана гемоцитарная формула гемолимфы двадцативосьмипятнистой картофельной коровки. Приведены данные о фенотипическом разнообразии в популяции картофельной коровки. Проведено сравнение агроэкологических параметров (фенология, динамика численности, особенности онтогенеза и плодовитости самок вредителя в зависимости от питания различными сортами картофеля) между колорадским жуком и картофельной коровкой. Диссертантом, показано отсутствие параллелизма между двумя видами, что важно для понимания как процессов, протекающих в популяциях фитофагов, так и для селекционного процесса на устойчивость к вредителям.

Обоснованность научных положений, выводов и рекомендаций, содержащихся в диссертации Н.В. Мацишиной, определяется хорошо продуманной структурой исследования. Автор последовательно исследует изменения форменных элементов гемолимфы на физиологическое состояние картофельной коровки в ответ на воздействие

иммунных факторов кормового растения, изучает трофические взаимоотношения в системе «картофельная коровка – растение картофеля», определяет биохимическое, морфологическое и экологическое состояние особей, их плодовитость и выживаемость, что отражается на динамике и адаптивный потенциал популяции фитофага. Завершением исследований является ответ на вопрос о непосредственной конкуренции между аборигенным (*Henosepilachna vigintioctomaculata*) и инвазивным (колорадский жук) видом на Дальнем Востоке России.

Выводы, полученные автором, соответствуют поставленной цели и задачам. Научные положения, сформулированные в работе, являются обоснованными. Достоверность результатов исследования обеспечена использованием современных методов в изучении популяции картофельной коровки с использованием метода количественного определения гликоалкалоидов картофеля, ПЦР - анализа, методики изучения фенотипического разнообразия, методик изучения гемолимфы коровки, изучение динамики природных популяций, демографических параметров жука и др.

Теоретическая значимость полученных результатов диссертационного исследования состоит в возможности расширить представления о взаимосвязях картофельной коровки с кормовыми растениями, что дает возможность существенно обогатить понятие об иммунитете растений к фитофагам, как важнейшем звене регуляции численности вредителей в агробиоценозах. Впервые оценена возможность использования таблиц дожития и статистических программ для изучения популяций вредителей в условиях муссонного климата. Показана возможность применения морфологических аномалий картофельной коровки в качестве индикаторов антропогенного влияния агробиоценозов на популяции фитофагов.

Практическая значимость результатов заключается в возможности их использования: при сортовой оценке устойчивости растений картофеля, в ходе проведения визуального анализа морфологических аномалий развития имаго картофельной коровки (патент на изобретение №2802375 от 28 августа 2023 г.); в селекционном процессе на основе данные об иммунном статусе изученных сортов картофеля (Акт внедрения результатов исследований от 8 января 2024 г); в разработке схем мониторинга устойчивости картофеля к листогрызущим вредителям.

Результаты диссертации исследования используются в курсе лекций по предмету «Защита растений» и «Биотехнология в защите растений», разработанном для образовательной программы аспирантуры ФГБНУ «ФНЦ агrobiотехнологий Дальнего Востока им. А.К. Чайки».

Статистическая обработка экспериментальных данных проводилось с использованием программы Past v. 3/17. Полученные результаты обрабатывали статистически и сравнивали с помощью t-критерия Стьюдента. Различия между показателями считали достоверными при $p \leq 0,05$. (McDonald, 2014), и позволяют считать результаты достоверными.

Диссертация изложена на 314 страницах текста, состоит из введения, 5 глав, выводов, списка литературы и приложения. Рукопись содержит 18 таблиц и 102 рисунка. Список использованной литературы представлен на 98 страницах, включает 918 источников, из них – 612 иностранных.

Соискателем проведена положительная апробация результатов исследований на научно-практических конференциях, полным отражением основных результатов диссертационной работы в опубликованных автором научных трудах. Результаты диссертационного исследования, его основные положения, идеи и выводы опубликованы в 39 научных работах, в том числе в 14 статьях в научных изданиях, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки РФ, библиографических баз, данных Scopus и Web of Science, 1 патент, 1 монография. В диссертационных исследованиях и статьях, выполняемых с участием исследователей, технических специалистов и т.п., доля личного участия автора составляет 84,3%.

Диссертация содержит аналитический и фактический материал, полученный в течение 2008-2023 годов. Постановка проблемы исследований, разработка программы и методик, проведение полевых, лабораторных и вегетационных опытов, анализ полученных результатов, сделанные на их основе выводы выполнены лично автором.

Оглавление диссертации представляет собой достаточно подробную рубрикацию, а последовательность расположения глав представляется логичной. Состоит из введения, пяти глав, заключения, выводов, списка литературы и приложения.

Введение построено в соответствии с общими требованиями и включает актуальность темы диссертации, степень обоснованности исследований, цель и задачи работы, научную новизну, теоретическую и практическую значимость, основные положения, выносимые на защиту, соответствие паспорту научной специальности, реализацию результатов работы, степень достоверности и апробацию результатов, сведения о публикациях. Описаны объем и структура диссертации.

В первой главе «Материалы, условия и методика проведения экспериментов» (35 страниц), следует, что работа Н.В. Мацишиной представляет собой итог 16 летних исследований. Работа выполнена в трех географически удаленных друг от друга точках в Приморском и Хабаровском краях и Амурской области. Дано описание климатических условий мест проведения исследований.

Автор четко описывает научно-методические подходы энтомологических исследований.

Н.В. Мацишина, свободно владеет компьютерными методами обработки и анализа изображения, статистическими методами анализа данных.

Во второй главе «Нативная популяция картофельной коровки в состоянии физиологической нормы» (37 страниц), автор разбил ее на 3 раздела.

Раздел 2.1 «Систематика и морфология картофельной коровки (литературный обзор). Автор излагает современные проблемы систематики рода *Epilacna* Chevrolat, 1837.

Раздел 2.2 «Фенотипическое разнообразие популяции картофельной коровки» выделено 8 морфотипов с разной частотой встречаемости. Описаны две группы морфологических аномалий: механические повреждения и тератозы, что является нормой для природных популяций картофельной коровки в агробиоценозах Дальнего Востока России.

Раздел 2.3 «Морфофизиологическая характеристика популяции картофельной коровки методом анализа гемолимфы» обнаружено восемь типов гемоцитов. Впервые описаны размерные характеристики выявленных форменных элементов. Состав и структура гемолимфы отличалась на всех стадия онтогенеза. Использование гемограмм гемолимфы для оценки физиологического состояния насекомых дает возможность оценить адаптационную способность организма.

Сделан вывод, что полученные данные могут быть использованы как физиологическая норма при диагностике патологического состояния *Henosepilachna vigintioctomaculata*, а также в качестве биоиндикатора изменения ситуации в популяции.

В третьей главе «Биология и экология картофельной коровки на юге Дальнего Востока России» (35 страниц), глава состоит из 4 разделов.

Раздел 3.1 «Динамика природных популяций *Henosepilachna vigintioctomaculata* Motschulsky», диссертант, изучив фенологию картофельной коровки, в зависимости от используемого кормового ресурса выделяет два этапа: 1) развитие в агроэкосистеме картофеля в период его вегетации; 2) развитие на дикорастущих кормовых ресурсах после окончания вегетации картофеля. Делается заключение, что в теплом и влажном климате картофельная коровка способна давать два-три полных поколения.

Раздел 3.2 «Фотопериодические реакции *Henosepilachna vigintioctomaculata* в приморской популяции», изучены фотопериодические реакции картофельной коровки в условиях муссонного климата. Соискатель отмечает зависимость между фотопериодом, смертностью личинок и наживочным питанием имаго. Максимальный средний вес имаго

(мг) отмечался в варианте с 18 ч фотопериодом. Увеличение фотопериода до 24 ч не приводило к дополнительному набору веса, равно как и уменьшение до 4 ч. Наиболее оптимально процесс наживровки протекал в пределах от 12 до 18 ч.

Раздел 3.3 «Биодемография картофельной коровки» описано влияние потребления пищи на биодемографические параметры популяции картофельной коровки. Выявлено, что для производства одного яйца требуется 0,129 см² листьев *S.tuberosum*. Автор отмечает в своих исследованиях, что на стадии имаго продолжительность жизни была значительно длиннее у самцов, чем у самок.

Раздел 3.4 «Влияние изолирования самцов и самок на скорость воспроизводства у *Henosepilachna vigintioctomaculata*» показано, что количество дней половой изоляции могут иметь негативное влияние на репродуктивную функцию картофельной коровки. В то же время в полевых условиях не было подтверждено влияния половой изоляции на снижение плотности популяции вредителей.

В четвертой главе «Пища как фактор, определяющий физиологическое состояние популяции картофельной коровки» (48 страниц), глава состоит из 3 разделов.

Раздел 4.1 «Аллелохимические взаимодействия в трофической системе «картофельная коровка – кормовое растение»», посвящена изучению трофическому фактору, как лимитирующему в природных популяциях фитофага. Автором делается вывод о глубоком воздействии качества пищи (сортовых особенностей картофеля) на жизнеспособность картофельной коровки и в значительной степени разъясняют причины депрессивного состояния вредителя при питании на растениях устойчивых сортов.

Раздел 4.2 и 4.3. «Прохождение онтогенеза картофельной коровки на различных сортах картофеля» и «Влияние различных кормовых ресурсов на морфометрические показатели и плодовитость картофельной коровки», является продолжением изучения трофологического подхода в изучении индивидуального развития организма картофельной коровки. Как результат изучения, автором делается заключение о питании растениями неустойчивых сортов, биополимеры которых легко гидролизуются пищевыми ферментами вредителя, обеспечивает ему наиболее выгодный в энергетическом отношении уровень обмена. В результате существенно повышается выносливость всей популяции к экстремальным условиям.

В пятой главе «Сравнительная характеристика экологии нативного (*Henosepilachna vigintioctomaculata*) и инвазивного (*Leptinotarsa decemlineata*) видов в условиях муссонного климата Юга Дальнего Востока» (23 страницы), рассматриваются характеристики двух видов фитофагов питающихся картофелем: с одной стороны узкий олигофаг – колорадский жук (инвазионный вид) с другой стороны широкий полифаг – картофельная коровка (аборигенный вид). Диссертантом делается заключение об отличии этих видов по биоэкологическим признакам.

В шестой главе «Хозяйственное значение картофельной коровки» (13 страниц), глава состоит из 2 разделов.

Раздел 6.1 «Вредоносность картофельной коровки (литературный обзор).

Раздел 6.2 «Картофельная коровка как переносчик грибов рода *Fusarium*», автором впервые изучены векторные свойства картофельной коровки в трехчленной трофической системе «картофельная коровка – грибы р. *Fusarium* – картофель».

В заключении подводятся основные итоги диссертационного исследования. Автор аргументировано отвечает на поставленные задачи, показывает научную новизну полученных результатов и отражает основное содержание диссертации.

Приложение представлено на 9 страницах, включает патент «Способ определения устойчивости картофеля к листогрызущим вредителям», «Акт внедрения результатов исследований», фотографии «Постдиапаузные биотопы картофельной коровки», таблица «Влияние сортов картофеля на популяционные параметры картофельной коровки», таблица «Результаты изучения устойчивости сортов на ЭФУ естественного заселения коровкой», фотографии «Морфологические аномалии картофельной коровки».

Таким образом, диссертационное исследование характеризуется внутренним единством, логической взаимосвязанностью научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации.

При общей положительной оценке диссертационного исследования Мацишиной Н.В. следует отметить ряд дискуссионных вопросов и замечаний.

В главе второй в разделе «Морфология и систематика картофельной коровки» (литературный обзор). Соискатель высказывает свое мнение о существовании на Дальнем Востоке России только одного вида - *H. vigintioctomaculata*. Этот спорный вопрос нередко обсуждался в литературных источниках, и было доказано о существовании двух морфологически близких видов *H. vigintioctomaculata* и *H. vigintioctopunctata*. С.М. Яблоков - Хнзорян (1980), описывал различие этих видов, по эдеагусам, а Г.И. Савойская (1983) выделила различия в строении личинок *Epilachna*. До сих пор эффективного способа их дифференциации не было из-за незначительных различий в морфологических характеристиках видов. Большая ценность данной работы заключается в разработке быстрого метода определения этих видов методом молекулярной идентификации. В то же время возникает ряд вопросов, которые не освещены в работе:

- какой современный ареал *H. vigintioctopunctata* ?
- трофические связи *H. vigintioctopunctata*?

К примеру, А.Н. Фроловым (1980,1984,1993) выявлена межвидовая дивергенция у комплекса из 5 близких «видов – двойников» стеблевых мотыльков рода *Ostrinia* в связи с их приуроченности к разным видам кормовых растений. Желательно было бы вынести этот спорный вопрос в отдельную главу.

Автором в главе 2, разделе 2.2 приводится фенотипическое разнообразие популяции картофельной коровки, где он выделяет 8 морфотипов внутривидового полиморфизма. Это свидетельствует об успешной адаптации жука к биотическим и абиотическим факторам и к антропогенным воздействиям, чем более изменчив вид, тем шире его экологическая пластичность. Особое внимание, привлекает морфотип А8, представленный в двух вариациях. Известно, фенами называют «любые дискретные альтернативные вариации признаков и свойств особей, которые неподразделимы без потери качества» (Яблоков, 1987). В связи с этим возникает вопрос, почему морфотип А8 делится на вариации? В своей работе «Фенотипическое разнообразие популяции картофельной коровки» (2022), автор выделяет 9 морфотипов.

На рисунке 10 автором показаны вариации окраски элитр картофельной коровки по морфотипам, где с трудом просматриваются границы цветовых вариантов. Вероятно, более убедительным материалом по морфотипам был бы рисунок элитр по отношению к продольному спинному шву и наличию соединений между ними.

В этой же главе диссертант рассматривает вопросы по морфологической аномалии, дает морфо - физиологическую характеристику естественной популяции картофельной коровки. Однако диссертант не связывает оригинальный материал по фенотипическому полиморфизму в отношении условно «нормальный» морфотипа, хотя и делает вывод о возможности диагностики патологического состояния листоеда в качестве биоиндикатора изменения ситуации в популяции.

Глава 4, которая посвящена трофической специализации жука, определяющая физиологическое состояние популяции фитофага, в которой подробно описано взаимодействие картофельной коровки - кормовое растение. Целесообразно было бы провести биотаксономический анализ внутривидовой структуры в зависимости, от сортовых особенностей кормового растения используя материал по фенотипическому разнообразию. Известно, устойчивый генотип культурных растений, является лимитирующим фактором и индуктором приспособительных процессов в популяциях полиморфных к пищевой адаптации. Трофический полиморфизм взаимосвязан с изменчивыми внешними признаками особей. При наличии у картофельной коровки 8

морфотипов, очевиден фактор адаптационного полиморфизма, что дает ей возможность формировать резистентные популяции.

В главе 6, указывается о вероятной трансмиссии фузариоза картофельной коровкой. Согласно литературным источникам, спороношения фузариозного увядания картофеля отмечено на стеблях нижней части или на самом картофеле в период хранения, где коровка не питается, поясните эффект распространения болезни на здоровые растения картофеля в ходе миграции жука?

Представленная диссертация соответствует пунктам паспорта специальности ВАК 1.5.14 «Энтомология»: п. 1. – «Систематика, классификация, морфология, онтогенез, физиология, биохимия и генетика насекомых и других наземных членистоногих животных и др.»; п. 2. – «Жизненные циклы, метаморфоз, диапауза, размножение и др.»; п. 3. – «Экология. Адаптации к факторам внешней среды, адаптивные ритмы. Пространственная структура, демография, динамика численности популяций. Миграции, биологические инвазии. Трофические, конкурентные, симбиотические и иные связи насекомых и др.»; п. 4. – «Сельскохозяйственная энтомология. Насекомые-вредители сельскохозяйственных культур, биологические основы их контроля и др.».

Автореферат в полной мере соответствует тексту диссертации.

Указанные недостатки, тем не менее, не снижают высокий уровень представленной научной работы и не влияют в целом на хорошее впечатление от нее.

На основании вышеизложенного можно резюмировать, что диссертация, «Биохимические, морфологические и экологические аспекты популяции двадцативосьмипятнистой картофельной коровки *Henosepilachna vigintioctomaculata* (Motschulsky, 1858) (Coleoptera, Coccinellidae) в агроэкосистемах», представляет собой законченную научно-квалификационную работу, которую можно рассматривать как научное достижение в области энтомологии, что соответствует критериям п. 9 утвержденного Постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 (в действующей редакции), предъявляемым к докторским диссертациям, а ее автор Мацишина Наталия Валериевна заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.14 - Энтомология.

Профессор кафедры фитопатологии,
энтомологии и защиты растений ФГБОУ ВО
«Кубанский государственный аграрный
университет им. И.Т. Трубилина»,
д.-р. биол. наук, (06.01.07 - Защита растений), доцент

Л.П. Есипенко

14 сентября 2024 года

Контактная информация:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Кубанский государственный аграрный университет им. И.Т. Трубилина» (ФГБОУ ВО Кубанский ГАУ), 350044, Краснодар, ул. Калинина 13, телефон: 8(861)221-59-42, адрес электронной почты: mail@kubsau.ru

Личную подпись Ф.О.З.И.М. подтверждаю

Начальник отдела кадров

ФНЦ Биоразнообразия ДВО РАН	
Входящий №	98
« 2 »	10 20 24 г.

Сведения об оппоненте
по диссертационной работе **Мацишиной Наталии Валериевны**
на тему «Биохимические, морфологические и экологические аспекты популяции
двадцативосьмипятнистой картофельной коровки *Henosepilachna vigintioctomaculata* (Motschulsky,
1858) (Coleoptera, Coccinellidae) в агроэкосистемах»,
предоставленной на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 1.5.14.
Энтомология

Фамилия Имя Отчество оппонента	Есипенко Леонид Павлович
Шифр и наименование специальностей, по которым защищена диссертация	06.01.07 - Защита растений
Ученая степень и отрасль науки	Доктор биологических наук
Ученое звание	доцент
Полное наименование организации, являющейся основным местом работы оппонента	ФГБОУ ВО «Кубанский государственный аграрный университет имени И.Т.Трубилина» Министерство сельского хозяйства Российской Федерации Краснодар
Занимаемая должность	Профессор кафедры фитопатологии, энтомологии и защиты растений
Почтовый индекс, адрес	350039, г. Краснодар, ул. Вавилова 16, кв. 21.
Телефон	8(918)6489363
Адрес электронной почты	esipenkoL@yandex.ru
Список основных публикаций по теме диссертации в рецензируемых научных изданиях за последние 5 лет (не более 15 публикаций)	1. Монастырский О.А., Кузнецова Е.В., Есипенко Л.П. Органическое земледелие и получение экологичных пищевых продуктов в России Агрохимия. 2019. № 1. С. 3-4. DOI: 10.1134/S000218811901006X 2. Esipenko L., Podvarko A. Invasive species of the order Hemiptera in agrocenoses of Southern Russia // E3S Web of Conferences 175, 09012 (2020) INTERAGROMASH 2020 HTTPS://DOI.ORG/. 3. Khomitskiy E., Zamotajlov A., Beliy A., Esipenko L., Balakhnina I. Revisiting the study of the life cycles of predatory ground beetles (Coleoptera, Carabidae) in the agrolandscape of the foothill zone of Krasnodar Krai // BIO Web of Conferences (Q) № 21, 2020 DOI: 4. Новый комбинированный граминцид эволюшн, кэ для защиты посевов сои Земледелие. 2020. № 7. С. 34-38. DOI: 10.24411/0044-3913-2020-10707 5. Есипенко Л.П., Гасиян К.Э., Зеленский Р.А., Иванисова М.В., Пономарев А.В. Влияние абиотических факторов среды на динамику численности хлопковой совки на Юге России Труды Кубанского государственного аграрного университета. 2021. № 90. С. 53-58. DOI: 10.21515/1999-1703-90-53-58 6. Абдрахманова А.С., Есипенко Л.П., Балахнина И.В., Соби́на А.Ю. Фаунистический состав массовых дендрофильных насекомых города Краснодара и его окрестностей Достижения науки и техники АПК. 2021. Т. 35. № 11. С. 42-46. DOI: 10.53859/02352451_2021_35_11_42 7. Есипенко Л.П., Замотайлов А.С. Формирование консортных связей амброзии полыннолистной (<i>Ambrosia artemisiifolia</i>) в антропогенных экосистемах: герботологические аспекты Труды кубанского государственного аграрного университета. 2022. № 95. с. 73-83. DOI: 10.21515/1999-1703-95-73-83

	8. Феногенетическая изменчивость инвазионного сорного растения <i>Ambrosia artemisiifolia</i> L. в агробиоценозах Краснодарского края// Тр. КубГАУ. 2023. № 105. С. 60-65. – DOI:10.21515/1999-1703-105-60-65
--	---