

УТВЕРЖДАЮ

Директор ФГБНУ ВИЗР



доктор биологических наук,  
академик РАН

В. А. ПАВЛЮШИН

### ОТЗЫВ

ведущего учреждения ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений» на диссертацию **Дубовского Ивана Михайловича** на тему «Эволюция резистентности вошинной огневки *Galleria mellonella* L. к энтомопатогенным бактериям и грибам», представленной на соискание учёной степени доктора биологических наук по специальности 03.02.05 «Энтомология»

Механизмы устойчивости насекомых к энтомопатогенным микроорганизмам – один из важных вопросов энтомологии, глубокое изучение которого необходимо как для понимания закономерностей взаимоотношений, складывающихся между живыми организмами, так и для разработки подходов к эффективной регуляции численности вредных объектов с помощью микробиологических агентов и, в том числе к преодолению резистентности насекомых к микробиопрепаратам. В связи с этим, актуальность работы бесспорна, так как она посвящена непосредственному изучению микроэволюционных процессов, происходящих в популяциях насекомых под воздействием пресса паразитов, ведущего к отбору форм, более устойчивых к энтомопатогенным бактериям и грибам, использующимся как продуценты микробиологических инсектицидов для борьбы с вредными членистоногими. Несомненно, что эти исследования существенно расширяют горизонты знаний в области эволюционно биологии и способствуют прогрессу в решении вопросов управления численностью вредных насекомых. Знакомство с работами автора диссертации позволяет судить о его диссертации как о суммарном результате исследований, выполненных на современном, методически безупречном уровне, соответствующем самым высоким мировым стандартам. Научная новизна и практическая значимость работы не вызывают сомнения. Автору удалось смоделировать в микроэволюционном масштабе существенные изменения в уровнях устойчивости насекомых и связать этот феномен с конкретными механизмами иммунитета насекомых, а также выявить механизмы устойчивости к энтомопатогенам на примере популяций пчелиной огнёвки, различающихся естественным уровнем резистентности. Особый интерес представляет использование автором новейших подходов молекулярно-биологического анализа, вплоть до РНК-интерференции, что позволяет ответить на вопросы, изучение которых более традиционными методами либо невозможно, либо трудновыполнимо. Именно этим методом удалось показать, что подавление экспрессии гловерина, индуцибельного ингибитора металлопротеаз и глутатион пероксидазы увеличивает восприимчивость насекомых к бактериальной инфекции, что открывает новые возможности не только для дальнейшего углублённого изучения иммунитета насекомых, но и для поиска путей управления их численностью.

Совокупность проведённых исследований позволила получить целый ряд оригинальных и принципиально новых данных. В частности, показано, что характер активации защитных реакций организма насекомого зависит от инфекционной нагрузки, при сублетальной инфекции активизируется только комплекс генов, отвечающих за синтез антибактериальных белков, а все остальные системы защиты включаются только включаются а при более высоких дозировках патогенна. Также продемонстрировано, что формирующаяся в ходе микроэволюционных процессов резистентность к энтомопатогенным грибам носит видоспецифичный характер, то есть при выработке передающейся в ряду поколений резистентности к *Beauveria bassiana* перекрёстной устойчивости к *Metarhizium robertsii* не возникает. Барьерная функция иммунитета играет наиболее важную роль в определении устойчивости к грибным патогенам, причём её усиление в условиях, моделирующих развитие резистентности насекомых к грибам связано с целым комплексом показателей иммунного статуса: фенолоксидазной активности, синтеза индуцибельного ингибитора металлопротеаз и антимикробных белков, уровня репарации и регенерации, а также активности антиоксидантной системы. В достоверности полученных данных, опубликованных в значительном ряде изданий с достаточно высоким для данной области исследований импакт-фактором, не приходится сомневаться.

Диссертация изложена на 287 страницах, содержит введение, пять глав, заключение, выводы и 4 приложения, в ней 68 рисунков и 2 таблицы. В работе процитировано 451 публикаций, в том числе 373 на иностранных языках.

Первая глава представляет собой литературный обзор, который убедительно демонстрирует тот факт, что автор работы прекрасно знаком с современным состоянием мировых исследований в соответствующей области исследований. Вторая глава посвящена использованным методическим подходам, которые изложены с исчерпывающей полнотой, что позволяет убедиться в их полной адекватности поставленным задачам и в высоком уровне проведённых исследований. В третьей главе исследованы закономерности формирования резистентности насекомых к бактериальным инфекциям на организменном, тканевом, клеточном и молекулярном уровнях, что позволило вскрыть основные механизмы этого процесса. В четвертой главе рассмотрены вопросы устойчивости к микозам насекомых с врожденным меланизмом, показана основная роль барьерных и клеточных систем иммунитета. В пятой главе иммунитет к грибам исследован уже в экспериментально смоделированных условиях направленного отбора.

В качестве небольших замечаний, ни в коей мере не умаляющих ценность рассматриваемой работы, следует отметить некоторые не вполне удачные выражения и формулировки. Так, выражение «бактериальные клетки БТ» наводит на мысль, что у БТ бывают другие, не бактериальные клетки. Несколько неудачно, на наш взгляд, выглядит формулировка цели и задач: перечисляя виды изучаемых микроорганизмов, авторы упустили *Metarhizium robertsii*. При указании исследуемых фрагментов ДНК, использованных для изучения экспрессии регуляторов окислительно-восстановительного баланса, автор приводит лишь номера контигов, не сообщая, откуда взяты эти данные. Не вполне понятным остаётся смысл первой фразы предпоследнего абзаца на странице 22 автореферата («Конституциональный уровень экспрессии .... был выше в жировом теле  $3.93 \pm 1.07$  ... и кишечнике  $4.97 \pm 2.64$  по сравнению с восприимчивой линией») – поскольку не уточнено, обозначают ли приведённые числовые значения кратность различий или что-

то ещё. В контексте данной работы, непонятно, что подразумевается под выражением «селекция генов» (последняя фраза второго абзаца на стр. 32 автореферата).

В целом можно заключить, что представленная к защите диссертация является целостным крупным исследованием, которое, безусловно, содержит новые решения актуальных научных проблем в познании экологии энтомопатогенных грибов.

Содержание автореферата соответствует содержанию диссертации и работа соответствует выбранной специальности. Общее заключение и выводы по работе обоснованы полученными автором экспериментальными данными и отражают основное содержание диссертации.

Результаты исследований могут быть использованы для дальнейших научных исследований резистентности насекомых к энтомопатогенам и разработок методических подходов к её преодолению, а также в курсах лекций по энтомологии, микробиологии, паразитологии, эволюции и защите растений.

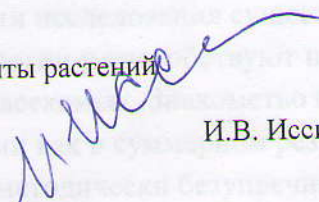
Полученные автором результаты отражены в 41 опубликованной работе, включая 40 статей в научных журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий, рекомендованных ВАК РФ (из них 24 статьи в журналах, входящих в библиографическую базу Web of Science) и 1 патент РФ.

Таким образом, представленная работа соответствует требованиям, изложенным в п. 7 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» ВАК РФ, предъявляемым к докторским диссертациям, а её автор, Дубовский Иван Михайлович, несомненно, заслуживает присуждения ему искомой степени доктора биологических наук по специальности 03.02.05 – энтомология (биология).

Отзыв рассмотрен на заседании Ученого совета ФГБНУ ВИЗР, протокол № 8 от 25.11.2015.

Рецензенты:

В.н.с. лаборатории микробиологической защиты растений  
ФГБНУ ВИЗР,  
доктор биологических наук, проф.

  
И.В. Исси

Исси Ирма Викторовна  
В.н.с. лаборатории микробиологической защиты растений  
ФГБНУ «Всероссийский институт защиты растений»,  
доктор биологических наук, профессор

Почтовый адрес: 196608, Санкт-Петербург, Пушкин, шоссе Подбельского, 3  
Тел.: (812) 470-43-84 E-mail: vizrspb@mail333.com

Подпись руки Исси И.В. заверяю  
Начальник отдела кадров ФГБНУ ВИЗР



  
Л.А. Конева