

## ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

доктора биологических наук Симаковой Анастасии Викторовны на диссертацию Тюрина Максима Викторовича «Влияние эктопаразитоида *Habrobracon hebetor* Say на развитие и распространение грибных инфекций у вошинной огневки *Galleria mellonella* Linnaeus», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.05 – Энтомология

Диссертационная работа Тюрина Максима Викторовича посвящена изучению влияния парализации личинок *Galleria mellonella* эктопаразитоидом *Habrobracon hebetor* на развитие грибных инфекций с разным уровнем специализации. Выявлен комплекс физиологических нарушений под влиянием яда паразитоида (изменение фунгистатических свойств кутикулы, падение уровня инкапсуляции, изменение кишечной биоты), что приводит к увеличению восприимчивости личинок хозяев к грибным патогенам. Интерес вызывают исследования автора, посвященные изучению возможности горизонтального переноса энтомопатогенных грибов эктопаразитоидами *H. hebetor* в популяциях вошинной огневки. Установлено, что для успешной трансмиссии не обязательно введение в гемоцель конидий яйцекладом паразитоида. Автором также показано, что парализованных насекомых можно успешно использовать в качестве ловушек для выделения из почв энтомопатогенных грибов.

Паразитоиду необходимо предотвратить воздействие иммунной системы хозяина для развития своих личинок, однако полное подавление иммунитета может привести к развитию вторичных инфекций и гибели хозяина. Учитывая, что большинство работ в этой области посвящено изучению трехкомпонентных систем насекомое-хозяин-эндопаразитоид-грибы и практически отсутствуют данные по изучению механизмов взаимодействия системы хозяин-эктопаразитоид-энтомопатогенный гриб, актуальность данной работы не вызывает сомнения.

### Научная новизна полученных результатов

В работе впервые приведены данные по изучению внешних (кутикулярных) и внутренних (клеточный и гуморальный иммунитет) защитных систем, а также изменения микробиоты кишечника насекомых при совместном действии яда эктопаразитоидов и энтомопатогенных

грибов на примере личинок *Galleria mellonella*, пораженных *H. hebetor* и микозами; показано увеличение восприимчивости личинок, парализованных ядом к энтомопатогенным грибам с разным уровнем специализации. Кроме того, впервые установлен перенос грибов от зараженных насекомых к здоровым с помощью паразитоида *H. hebetor*. Впервые получены данные по физиологическим концентрациям кордицепина и кордицепиамидов в насекомых при развитии микоза *S. militaris*.

#### **Теоретическое и практическое значение работы.**

Работа вносит значительный вклад в изучение механизмов взаимодействия в сложных системах хозяин-паразит-патоген при смешанных инфекциях и выявляет различные стороны физиологических взаимодействий в этих системах. Новые пути трансмиссии патогенов, а также данные по изменению симбионтной микробиоты кишечника хозяина позволят создавать новые подходы к продуктивному использованию паразитоидов и энтомопатогенных грибов в качестве регуляторов численности насекомых – вредителей лесного и сельского хозяйства.

Усовершенствованный метод выделения энтомопатогенных грибов из почв при использовании личинок огневки, парализованных ядом паразитоида позволяет выделять патогены при их низкой численности в почвенных образцах.

#### **Степень обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации**

Работа выполнена на высоком методологическом уровне с использованием современных методов. Цели и задачи сформулированы корректно, поставленные задачи соответствуют цели работы. Выводы обоснованы и достоверны.

#### **Степень достоверности результатов исследований.**

Достоверность полученных результатов и выводов определяется прежде всего объемом исследованного материала, многократными повторностями в экспериментах, использованием в них большого количества особей, а также обязательным наличием контроля во всех опытах. При обработке полученных данных автором применены современные статистические методы анализа. Положения и выводы работы основаны на анализе достаточного объема экспериментальных данных и современных литературных источников.

#### **Общая характеристика работы**

Диссертация состоит из введения, трех глав, заключения, выводов, списка литературы и приложения. Работа изложена на 144 страницах, содержит 3 таблицы и 20 рисунков. Список цитируемой литературы включает 261 работу, в том числе 232 на иностранных языках.

Во Введении представлена общая характеристика работы. Автором чётко сформулированы цель и задачи исследований, отражена научная новизна, теоретическая и практическая значимость диссертационной работы, сформулированы положения, выносимые на защиту. Автор сообщает о личном участии в проведении исследований, представляет сведения об апробации работы и опубликованных научных работах.

Первая глава посвящена литературному обзору, касающемуся тематики представленной к защите диссертации. Глава написана хорошим научным языком с использованием большого количества литературы, в том числе иностранной. Глава состоит из трех частей и Заключения. В первой части приводится подробное описание объектов исследования: эктопаразитоида *H. hebetor* и энтомопатогенных аксомицетов (рассматриваются вопросы распространения, жизненные циклы и пр.). Во второй части описываются защитные системы насекомых – внешние (кутикула) и внутренние (гуморальный и клеточный иммунитет) барьеры преимущественно при поражении грибными инфекциями, а также уделяется внимание роли микробиоты кишечника в защите от патогенов и паразитоидов. В третьей части приведены литературные данные по механизмам взаимоотношений организмов в трехкомпонентных системах насекомые-хозяева-паразитоиды-энтомопатогенные грибы преимущественно для систем, включающих эндопаразитоидов. В каждой части литературного обзора делаются акценты на вопросы, которые недостаточно либо совсем не изучены в данной области исследований.

Во второй главе «Материалы и методы» приводятся данные по условиям содержания объектов исследования. Наглядно представлена схема основных экспериментов. Подробно описан ход каждого из шести блоков экспериментов. Приведены методы статистической обработки материала.

Результатам работы посвящена третья глава диссертации. Она состоит из шести подглав. В первой подглаве проведен анализ восприимчивости парализованных личинок вошинной огневки к грибам с разным уровнем специализации. Автором установлено, что при парализации ядом *H. hebetor* происходит ослабление резистентности личинок вошинной огневки как к грибам-генералистам, так и к грибам-специалистам, в то время как грибы-сапротрофы не проникали в гемоцель парализованных личинок.

Вторая подглава посвящена изучению возможности горизонтального переноса конидий грибов *B. bassiana* паразитоидом *H. hebetor* личинкам вощинной огневки. В лабораторных условиях установлена высокая эффективность горизонтального переноса энтомопатогенного гриба паразитоидом среди личинок. Показано, что для заражения достаточно поверхностной контаминации хозяина энтомопатогенным грибом.

В третьей подглаве детально рассмотрены защитные механизмы парализованных и непарализованных личинок. Согласно полученным результатам Максим Викторович предполагает, что снижение количества жирных кислот и углеводов в эпикутикулярных экстрактах при парализации ядом *H. hebetor* связано с остановкой развития и общим снижением метаболизма личинок хозяина. Установлено существенное увеличение прорастания конидий на эпикутикулярных экстрактах парализованных личинок огневки. Полученные данные позволили автору сделать заключение, что снижение устойчивости к грибным патогенам у личинок, парализованных ядом, является результатом изменения фунгистатических свойств кутикулы и подавления клеточного иммунитета. В то же время доказано повышение фенолоксидаз в кутикуле хозяина, что, возможно, способствует предотвращению вторичных грибных инфекций. Однако, как показали исследования автора, это повышение не останавливало развитие грибной инфекции.

Несомненный научный интерес представляет четвертая и пятая подглавы. Автор показывает, что нарушение циркуляции гемолимфы под действием яда паразитоида приводит к уменьшению количества гифальных тел в парализованных личинках и более медленному накоплению грибных токсинов. У парализованных личинок происходит изменение микробных сообществ кишечника, что, вероятно, связано с рН. Увеличение численности грамотрицательных форм (*Enterobacter*) усиливает восприимчивость насекомых к грибным инфекциям.

В заключительной подглаве приводятся данные по усовершенствованию метода приманок с использованием личинок *G. mellonella*, парализованных ядом *H. hebetor* для выделения энтомопатогенных грибов из почв с низкой численностью конидий.

Глава Заключение помимо обобщения данных, содержит описания дальнейших перспектив исследования и раздел «Выводы». Всего сформулировано 7 выводов, которые отражают решение поставленных цели и задач.

В целом работа легко читается и оставляет благоприятное впечатление, однако имеются некоторые замечания:

1. Четвертое положение, выносимое на защиту, больше напоминает констатацию факта вследствие проведенных исследований и скорее относится к методологической, а не теоретической части, что требуется отражать в «Положениях, выносимых на защиту».

2. Замечание по структуре диссертации, имеющее скорее рекомендательный характер. Работа построена по типу статьи, где имеется литературный обзор, результаты и обсуждение. Этим главам вполне можно было присвоить тематические названия, отражающие их содержание. Главу по «Результатам и обсуждению» логично было бы разделить на несколько тематических глав.

3. Употребление словосочетания «энтомопаразитических грибов» во Введении и Литературном обзоре, является некорректным, так как грибы, вирусы и бактерии в классической паразитологии относят к патогенам, в то время как эукариот, вызывающих заболевания, в том числе и насекомых, – к паразитам. Поэтому логичнее употреблять термин «энтомопатогенные грибы».

4. В главе «Материалы и методы» не наглядно прописан объем материала (количество повторностей, объектов и пр.). Эти данные приведены для каждого эксперимента, но теряются в тексте описания опыта, что осложняет восприятие.

5. Рисунок 4 – хотелось бы получить разъяснение по нулевому значению по оси абсцисс, о чём речь?

6. Автор пишет на стр. 67 «В частности, присутствие личинок бракона увеличивало уровень смертности от микоза в 1.5, 2.5 и 13.0 раз при концентрациях  $10^8$ ,  $10^7$  и  $10^6$  конидий/мл соответственно» – отсюда следует, что чем выше концентрация грибов, тем ниже уровень смертности?

7. В диссертации имеется большое количество опечаток и несогласованных предложений по всему тексту, автору следует в дальнейшей работе относиться к этому аккуратнее.

По результатам исследований Тюрина Максима Викторовича имеется 9 научных публикаций в научных изданиях, рекомендованных ВАК РФ, из которых 8 в журналах, индексируемых в международных базах цитирования Web of Science и Scopus, и 2 – в сборниках материалов научных конференций. Содержание автореферата соответствует основным идеям и выводам рукописи диссертационной работы.

В общем, диссертационное исследование М. В. Тюрина является завершенной научно-квалификационной работой, которая по критериям актуальности, научной новизны, обоснованности и достоверности выводов соответствует требованиям п.п. 9–11, 13 и 14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ № 842 от 24 сентября 2013 г. Автор работы, Тюрин Максим Викторович, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.05 – Энтомология.

Официальный оппонент: заведующий кафедрой  
зоологии беспозвоночных  
Института биологии, экологии, почвоведения,  
сельского и лесного хозяйства (Биологический институт)  
Федерального государственного автономного  
образовательного учреждения высшего образования  
«Национальный исследовательский  
Томский государственный университет»  
(634050, Россия, г. Томск, пр. Ленина, 36,  
(3822) 52-94-61; адрес сайта <http://www.bio.tsu.ru>  
e-mail: [decan@bio.tsu.ru](mailto:decan@bio.tsu.ru))  
доктор биологических наук  
(научная специальность,  
по которой защищена диссертация:  
03.02.04 - Зоология)



Симакова Анастасия Викторовна

20.03.2019

