

## ОТЗЫВ

**Официального оппонента на диссертацию Клементьевой Татьяны Николаевны на тему: «Микробиота кишечника как фактор, влияющий на физиологию и восприимчивость к *Bacillus thuringiensis* личинок *Galleria mellonella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Pyralidae)», представленную к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.14 – Энтомология (Биологические науки)**

**Актуальность исследования.** Диссертационная работа Клементьевой Татьяны Николаевны, несомненно, является актуальной как в фундаментальном, так и в прикладном отношении. Работа посвящена актуальной проблеме современной биологии — изучению роли кишечной микробиоты как ключевого фактора регуляции физиологических процессов и устойчивости организма-хозяина к патогенам.

В настоящее время активно развивается концепция холобионта, рассматривающая организм и его микробиоту как функционально единую систему. В этом контексте исследование механизмов взаимодействия в системе «хозяин – микробиота – патоген» имеет важное значение как для фундаментальной науки, так и для прикладных задач, включая биологическую защиту растений.

Особую актуальность работе придаёт изучение последствий длительного воздействия сублетальных доз антибиотиков, моделирующих реальные экологические условия, включая антропогенное загрязнение.

**Научная новизна** работы заключается в следующем:

- впервые реализована модель длительного воздействия низких доз антибиотика на протяжении нескольких поколений насекомых;
- показано, что такое воздействие приводит к устойчивой перестройке кишечной микробиоты;
- установлена связь между изменением микробиоты и формированием устойчивости к *Bacillus thuringiensis*;
- выявлена роль симбиотических бактерий (*Enterococcus*) в модификации восприимчивости к патогену;
- продемонстрирован вклад протеолитических ферментов кишечника в формирование устойчивости.

Работа существенно расширяет представления о механизмах адаптации насекомых к стрессовым факторам среды.

**Обоснованность и достоверность** представленных в диссертации материалов в целом не вызывает сомнений.

Она обеспечена логично выстроенным экспериментальным дизайном;

- использованием контрольной и экспериментальной линий;
- анализом нескольких поколений (F1, F10, F18, F30);
- применением комплекса методов (микробиологических, биохимических, метагеномных);
- корректной статистической обработкой данных.

Полученные результаты согласуются с современными научными представлениями.

**Структура и содержание диссертации.** Диссертация изложена на 143 страницах, состоит из введения, трех глав, выводов, заключения, а также списка литературы и приложений. Текст иллюстрирован 19 рисунками и содержит 4 таблицы. Список использованной литературы включает 291 источник.

#### **Введение**

Во введении обоснована актуальность темы, сформулированы цель и задачи исследования, отражены научная новизна и практическая значимость работы, представлен личный вклад автора, сведения о публикациях и об апробации результатов работы. Положения, выносимые на защиту, сформулированы корректно и логично вытекают из поставленных задач.

**Глава 1. «ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ» (стр. 14-54).** Содержит подробный анализ современных данных по микробиоте насекомых, механизмам взаимодействия хозяина и микроорганизмов, а также роли микробиоты в адаптации к стрессовым факторам.

Особое внимание уделено концепции холобионта и функциональной роли микробиоты в формировании устойчивости к патогенам.

Глава хорошо структурирована и демонстрирует высокий уровень владения материалом.

#### **Глава 2. «МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ» (стр. 55-72)**

В главе подробно описаны объект исследования, схема эксперимента, используемые микроорганизмы и методы анализа.

Применён широкий спектр подходов: культуральные, биохимические, метагеномные и статистические методы.

Методическая часть в целом выполнена на высоком уровне.

#### **Замечания по главе 2.**

1. Требуется уточнение параметров метагеномного анализа (число образцов, глубина секвенирования).
2. Представляется дискуссионным выбор OTU-подхода вместо ASV.
3. Не вполне ясно, проводились ли отрицательные контроли на стадиях выделения ДНК.

**Глава 3. «РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ» (стр. 73-103)**, изложена на 30 страницах текста, содержит три подраздела, в которых представлен основной экспериментальный материал.

**Подраздел 3.1. (стр. 73-93)** содержит результаты исследований динамики численности и структуры микробиоты, изменения физиологических параметров и жизненные показатели личинок *G. mellonella* в поколениях F1, F10 и F18.

Раздел 3.1.1. посвящен одному из ключевых результатов диссертации - сравнению количественных и таксономических параметров кишечной микробиоты у личинок *G.*

*mellonella* контрольной и экспериментальной линий в поколениях F1, F10 и F18. Получены интересные результаты, указывающие на перестройку кишечной микробиоты *G. mellonella* при длительном культивировании на диете с амикацином. Доказано изменение численности селективно культивируемой фракции бактерий в ранних поколениях и увеличение разнообразия и смена доминирующих энтерококков в поколении F18.

Замечания и вопросы. Метагеномный анализ представлен преимущественно для F18, что ограничивает интерпретацию ранних этапов изменений.

В разделе 3.2. (стр. 94-98) представлены результаты исследований взаимодействия Vt и симбиотических бактерий, оценка чувствительности личинок *G. mellonella* поколения F1 8 к Vt и анализ вклада кишечных симбионтов в развитие инфекции. Клементьевой Т.Н. показано отсутствие прямого антагонизма *in vitro* и выявлена роль микробиоты *in vivo*.

В подразделе 3.2.-3.2.2. установлено снижение чувствительности R-линии к Vt и участие энтерококков в этом процессе.

В подразделе 3.2.3. Клементьевой Т.Н. сделан вывод о том, что кишечные симбионты, прежде всего *Enterococcus*, вносят вклад в снижение восприимчивости хозяина к Vt, что может быть связано с их пробиотическими свойствами.

Раздел 3.3. (стр. 99-103) посвящен анализу протеолитического статуса кишечника личинок *G. mellonella* в поколении F30. Показано изменение активности сериновых протеаз как одного из механизмов устойчивости.

**Замечания и вопросы.** Диссертанткой анализируется только поколение F30, что позволяет изучить уже сформировавшийся фенотип, но не позволяет полностью реконструировать динамику формирования механизма устойчивости.

**Замечания общего характера.**

- недостаточно подробно представлены параметры метагеномного анализа;
- ограниченное использование молекулярных методов для ранних поколений;
- требуется более глубокое обсуждение механизмов взаимодействия микробиоты и ферментных систем.

Замечания носят дискуссионный характер, не снижают общей научной ценности диссертации, а лишь указывает на перспективы дальнейших исследований.

Приложение к диссертационной работе состоит из 4 рисунков и 1 таблицы, содержит дополнительные уточняющие материалы по диссертационной работе. Замечаний к данному разделу диссертационной работы нет.

Результаты работы подведены в Заключение и шести Выводах. Выводы и положения логично вытекают из полученных данных и полностью обоснованы результатами исследования.

Автореферат полностью соответствует тексту диссертации. Результаты исследования апробированы на 8 всероссийских и международных конференциях и отражены в 3 публикациях, рекомендованных ВАК.

**Заключение.** Диссертационная работа Клементьевой Татьяны Николаевны «Микробиота кишечника как фактор, влияющий на физиологию и восприимчивость к *Bacillus thuringiensis* личинок *Galleria mellonella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Pyralidae)» является самостоятельной, завершённой научно-квалификационной работой, выполненной на высоком уровне.

По содержанию, актуальности, новизне, научному и методологическому уровню, практической ценности полученных результатов полностью соответствует требованиям п. 9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842 (с последующими изменениями и дополнениями), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата биологических наук, а ее автор Клементьева Татьяна Николаевна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.14. Энтомология (биологические науки).

**Официальный оппонент:**

Доктор биологических наук по специальности 14.00.16 – Патологическая физиология,

Профессор Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный университет инженерии и биотехнологий (ранее НГАУ),

E-mail: [kalmusc@mail.ru](mailto:kalmusc@mail.ru)

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный университет инженерии и биотехнологий (ранее НГАУ), 630039, Новосибирская Область, г. Новосибирск, ул. Добролюбова, д.160, тел.: +7 (383) 267-38-11, E-mail: [rector@edubiotech.ru](mailto:rector@edubiotech.ru).

27.04.2026 г.

Калмыкова Анна Ивановна

