

ОТЗЫВ
официального оппонента
на диссертацию Косман Елены Сергеевны
«Экспрессия генов иммунного ответа вошинной огневки *Galleria mellonella*
Linnaeus и колорадского жука *Leptinotarsa decemlineata* Say при развитии грибных и
сочетанных инфекций»
предоставленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по
специальности 1.5.14 – энтомология

Изучение молекулярных механизмов взаимодействия в многокомпонентной системе «хозяин — энтомопатогенный гриб — симбиотические бактерии» под влиянием внешних стрессоров, является актуальным направлением в иммунологии и патологии насекомых. Диссертационное исследование позволяет глубже понять физиологические процессы, лежащие в основе взаимодействия патогенов и хозяев, а также может иметь практическое значение для разработки экологически безопасных методов контроля вредителей.

Актуальность темы диссертации

Энтомопатогенные грибы рассматриваются как высокоперспективные агенты экологически безопасного управления численностью насекомых-вредителей, однако эффективность их применения в полевых условиях часто непредсказуема. Одной из ключевых причин этого выступают сложные взаимодействия в системе «гриб–хозяин–симбиотическая микробиота». Диссертационная работа направлена на изучение этой актуальной области, где, несмотря на достигнутые успехи в изучении иммунных реакций, нераскрытыми остаются многие вопросы, такие как влияние абиотических и биотических стрессоров (температура, микотоксины, парализация паразитоидом, инфекционная нагрузка) на баланс между энтомопатогеном, бактериальными ассоциантами и иммунной системой насекомого. Именно такие комплексные исследования физиологических механизмов, определяющих исход инфекции (классический микоз, гибель от септицемии или подавление патогена, ведущее к исцелению насекомого), открывают путь к созданию новых стратегий управления иммунитетом вредителей. Таким образом, тема диссертации, несомненно, является актуальной как в фундаментальном, так и в прикладном аспекте.

Достоверность результатов

Достоверность полученных данных не вызывает сомнений. Она обеспечена комплексным методическим подходом, сочетающим классические биотесты с современными молекулярно-генетическими и микробиологическими методами. Эксперименты выполнены на репрезентативных выборках (не менее 30 особей на вариант), в трёх и более биологических и технических повторностях, с использованием генотипированных культур микроорганизмов и стандартизированных протоколов. Статистическая обработка данных проведена корректно с применением адекватных параметрических и непараметрических критериев, а также методов множественных сравнений. Результаты работы прошли апробацию на трёх конференциях и опубликованы в 7 статьях в изданиях, индексируемых Web of Science и Scopus, что подтверждает их признание научным сообществом.

Общая характеристика работы

Работа построена по классическому плану, изложена на 136 страницах, включает 3 главы, заключение, выводы, список литературы из 285 источников (преимущественно зарубежных) и приложения. Структура логична и полностью отражает решение поставленных задач.

Во Введении четко обоснована актуальность, сформулированы цель и 4 конкретные задачи. Научная новизна, теоретическая и практическая значимость, а также положения, выносимые на защиту, сформулированы корректно и отражают суть полученных результатов.

Глава 1 (Литературный обзор) демонстрирует глубокое погружение автора в тему. Обзор состоит из трех крупных разделов, последовательно освещающих биологию энтомопатогенных грибов, роль бактериальных ассоциантов и механизмы иммунитета насекомых и подробно разбирается двойственная роль бактерий-симбионтов в развитии микозов. Обзор логично подводит к заключению о недостаточной изученности влияния факторов среды на иммунные механизмы, определяющие исход сочетанных инфекций, что полностью обосновывает цели работы.

Глава 2 (Материалы и методы) свидетельствует о высоком методическом уровне работы. Автором использован широкий арсенал современных методов: от классических энтомологических биотестов и микробиологических посевов до молекулярно-генетического анализа и метабаркодинга. Дизайн экспериментов продуман: в каждом блоке исследования четко описаны модель, дозировки, временные точки и способы статистической обработки данных, что обеспечивает достоверность полученных результатов.

Глава 3 (Результаты и обсуждение) является центральной и состоит из четырех больших разделов, соответствующих задачам. Каждый раздел структурирован и содержит не только описание результатов, но и хорошую сопоставимость полученных данных с литературой. На модели «колорадский жук – *Beauveria bassiana*» впервые показано, что сценарий инфекции (острый или пролонгированный) зависит от дозы патогена и определяется уровнем экспрессии генов антибактериальных сигнальных путей (IMD, JAK/STAT). Сделан важный вывод о том, что успех гриба зависит от способности хозяина сдерживать размножение бактерий-симбионтов. Также описана модель сочетанного действия яда паразитоида *Habrobracon hebetor* и гриба *Metarhizium robertsii*. Установлено, что парализованные личинки сохраняют высокий уровень гуморального иммунитета и активно реагируют на проникновение патогенов. Вывод о том, что иммунный ответ может работать в пользу паразитов, предотвращая развитие оппортунистической микробиоты, представляется оригинальным и обоснованным.

В разделе 3.3 показано, что микотоксин тенуазоновая кислота подавляет иммунный ответ в кишечнике, и резко повышает восприимчивость к *B. bassiana*. Это важное наблюдение для понимания механизмов синергизма природных токсинов и патогенов. В четвертом разделе третьей главы автор раскрывает температурную зависимость исхода микоза, вызванного *Cordyceps militaris*. Показано, что пониженные температуры (15°C) смещают баланс иммунного ответа в сторону антибактериальной защиты, что блокирует развитие бактериозов и способствует успешному развитию гриба. Напротив, при 25°C активируются в основном антигрибные механизмы, что, однако, не предотвращает развитие септицемии.

Завершается работа развернутым Заключением, которое обобщает полученные данные в единую концепцию, и 4 выводами, которые полностью соответствуют задачам и полученным результатам. Автореферат соответствует содержанию диссертации.

Диссертационная работа производит благоприятное впечатление. Использован достаточный материал, применены разнообразные подходы и методы. Полученные в результате исследования данные послужат основой для разработки стратегий применения синергистов (природных токсинов), а также для селекции и применения штаммов грибов с учётом их способности модулировать антибактериальный иммунитет хозяина, что позволит ускорить развитие микозов и управлять их исходом.

Принципиальных замечаний, ставящих под сомнение основные выводы работы, нет. Однако, при ознакомлении с диссертацией возникли следующие вопросы и пожелания:

1. Для заражения грибом *C. militaris* использован инъекционный метод, в то время как для других грибов – перкутанный. Автор справедливо отмечает недостаточную изученность путей естественного заражения *C. militaris*. Тем не менее, не могла ли травма от инъекции сама по себе стать дополнительным фактором, способствующим проникновению кишечных бактерий в гемоцель, особенно при 25°C? Проводились ли контрольные эксперименты с инъекцией

- физиологического раствора для оценки влияния процедуры на бактериальную нагрузку?
2. В Разделе 3.4 делается важный вывод, что *C. militaris* адаптирован к развитию в условиях низких температур, избегая конкуренции с бактериями. Можно ли это рассматривать как эволюционную стратегию, при которой психротолерантность гриба является ключевым фактором его вирулентности в зимующих популяциях хозяев? И не ограничивает ли это его применение как агента биоконтроля в теплое время года?
 3. При анализе бактериальных сообществ методом метабаркодинга хотелось бы видеть более детальную информацию в тексте диссертации: какие именно переменные участки гена 16S рРНК амплифицировались и какая платформа для секвенирования использовалась.
 4. В тексте встречаются незначительные технические погрешности, например, нет единообразия между видом тире, используемым между цифрами; на стр.46 для штамма *M. robertsii* приведено название на русском (штамм Р-72), когда для других дано на латинице.

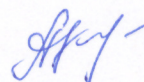
Сделанные замечания носят дискуссионный или уточняющий характер и не умаляют высокой научной ценности выполненного исследования.

Общее заключение

Диссертация «Экспрессия генов иммунного ответа вошинной огневки *Galleria mellonella* Linnaeus и колорадского жука *Leptinotarsa decemlineata* Say при развитии грибных и сочетанных инфекций» является завершённой научно-квалификационной работой, в которой на основании выполненных автором исследований решена важная научная задача выяснения механизмов взаимодействия в системе «патоген–хозяин–микробиота» под влиянием средовых факторов. По своей актуальности, научной новизне, объёму выполненных исследований и практической значимости полученных результатов диссертация полностью соответствует всем требованиям п. 9 «Положения о присуждении учёных степеней», утверждённого постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842, в редакции от 11 сентября 2021 года, предъявляемым к диссертациям на соискание учёной степени кандидата наук, а её автор заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.14 – Энтомология.

Научный сотрудник лаборатории
Патологии насекомых и биотехнологии
Федерального государственного бюджетного
научного учреждения «Всероссийского
научно-исследовательского
Института защиты растений»,
Кандидат биологических наук
03.02.05 – энтомология

04.05.2026г.

 Конончук Анастасия Геннадьевна

196608, Санкт-Петербург, г. Пушкин,
ш. Подбельского, д. 3
тел. +7(812)4704384
E-mail: kononchuk26@yandex.ru



Handwritten signature and notes in blue ink, including the name 'Конончук Анастасия Геннадьевна' and other illegible text.