



УТВЕРЖДАЮ

Директор ИПЭЭ РАН

Чл. корр. РАН С.В. Найденко

9.04.2026

ОТЗЫВ

ведущей организации на диссертацию

Косман Елены Сергеевны

«ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ ИММУННОГО ОТВЕТА ВОЩИННОЙ ОГНЕВКИ *GALLERIA MELLONELLA LINNAEUS* И КОЛОРАДСКОГО ЖУКА *LEPTINOTARSA DESEMLINEATA SAY* ПРИ РАЗВИТИИ ГРИБНЫХ И СОЧЕТАННЫХ ИНФЕКЦИЙ»

представленной на соискание ученой степени

кандидата биологических наук по специальности

1.5.14 – энтомология

Диссертация Елены Сергеевны Косман описывает сложную и многофакторную систему взаимоотношений насекомых с их патогенами и ассоциированной микрофлорой. Тема иммунных реакций насекомых на вторжение различных патогенов имеет как фундаментальное, так и большое практическое значение. Интерес к реакции насекомых на различные инфекции возник уже давно, и, с самого начала, определялся возможностью использования патогенов насекомых для борьбы с вредителями сельского хозяйства. Грибные инфекции, в силу сравнительной простоты промышленного разведения этих патогенов, с самого начала оказались в центре внимания, однако такие сложные вопросы, как взаимоотношения между грибными инфекциями и симбиотическими бактериями насекомых стали активно исследоваться лишь в последние два десятилетия. Оказалось, что грибная инфекция может, с одной стороны существенно менять состав и локализацию микроорганизмов, а с другой - подавлять симбиотические организмы с помощью особых токсинов. Взаимоотношения между грибами и микроорганизмами определяются еще и высокой степенью их зависимости от набора абиотических и биотических факторов окружающей среды, что делает задачу изучения этой системы еще более сложной. Именно этому переплетению проблем и посвящена рассматриваемая диссертационная работа.

Понятно, что понимание сложных взаимоотношений в системе «насекомое-патоген-ассоциированная микрофлора» может оказаться очень важным для разработки мер борьбы с вредителями. С одной стороны, симбиотическая микрофлора может предотвратить проникновение патогенных грибов внутрь насекомого-вредителя, а с другой, направить биологические процессы внутри уже погибшего насекомого в сторону

человеку невыгодную. Например, бактерии могут предотвратить успешное формирование спорносящих форм грибов, и таким образом исключить делящийся эффект применения препаратов на основе грибов. Автор диссертации избрала в качестве объектов своего исследования два вида насекомых: колорадского жука и вошиную огневку. Первый вид является всем известным вредителем картофеля, и против него уже используются препараты на основе грибов (представители родов *Metarhizium* и *Beauveria*). Диссертант справедливо указывает, что, как раз, роль естественных бактериальных симбионтов при контактах этих жуков с грибами изучена недостаточно. Второй вид из изученных насекомых (вошинная огневка) воспринимается, в первую очередь, как модельный вид для изучения патогенеза. Впрочем, и он также является вредителем, существенно повреждая соты в ульях. По этим двум видам насекомых накоплен значительный массив самых разных данных (биохимических, цитологических, молекулярно-биологических), что оказалось весьма полезным диссертанту для планирования и проведения экспериментов.

Актуальность предложенной для диссертационного исследования темы не вызывает сомнений. Здесь и значительная задача фундаментальной науки, связанная с изучением особенностей существования энтомопатогенных грибов, как части природных сообществ, основ устойчивости насекомых к патогенам, роли симбионтов в формировании этой устойчивости. Автор диссертации права, когда указывает на важность изучения воздействия факторов окружающей среды участие на систему «насекомое-патоген-симбионты». Такая постановка задачи в диссертации сделала само исследование еще более сложным, но несомненно более ценным в практическом отношении, поскольку позволит определить те параметры, что должны учитываться при применении агентов биометода.

Теоретическое и практическое значение работы, таким образом, можно охарактеризовать как существенный вклад в изучение механизмов иммунитета у насекомых, особенностей взаимоотношений между насекомыми, их микрофлорой и патогенами. В ходе своих исследований этих, чисто фундаментальных проблем, диссертант оценивала важность полученных данных и для разработки практических мер борьбы с вредителями. Существенным вкладом, как с теоретической и, так и с практической точки зрения надо признать оценку роли участия отдельных химических соединений в функционировании сложной трехчастной системы «гриб–насекомое–бактерии». Исследования диссертанта по роли теназоновой кислоты – хороший тому пример, поскольку это соединение может, при некоторых ограничениях, использоваться в борьбе с вредителями. Вклад диссертанта в изучение влияния абиотических и биотических факторов среды на «сценарии развития микозов» также является хорошим примером теоретической и практической значимости работы. Хотелось бы выделить и другие, особо не выделяемые диссертантом результаты исследований, которые, однако, могут найти свое развитие и дальнейшее применение. Это, на наш взгляд, антимикробные пептиды насекомых, важность изучения которых будет нарастать в связи с необходимостью поиска новых антибиотических соединений.

Доля участия автора четко обозначена в тексте диссертации. В то время, как вся основная часть исследований по патогенезу у насекомых, экспрессии генов иммунного ответа, а также по обработке и анализу этих данных, проведена лично автором работы, анализ численности бактерий в тканях колорадского жука и вошинной огневки проводился совместно с другими сотрудниками того же института. Также в диссертации указано на сотрудничество с Институтом химической биологии и молекулярной медицины СО РАН в проведении метагеномного анализа сообществ бактерий у изучаемых насекомых. Совершенно очевидно, что весь основной массив важнейших результатов был получен лично автором диссертации.

Достоверности полученных результатов диссертант уделял особое внимание. Для оценки наблюдаемых феноменов применялись взаимодополняющие методы

исследования. Были применены стандартизированные протоколы и репрезентативные выборки, обеспечивающие возможность повторения всех экспериментов. Все эксперименты проведены на охарактеризованных генетически грибных культурах.

Научная новизна работы значительная и многоплановая. Диссертантом дано детальное описание развития различных сценариев поражения насекомых патогенными грибами. Описана зависимость этих «сценариев» от дозы заражения грибами, факторов среды. Показано, что при проникновении невысоких количеств конидий гриба *Beauveria bassiana* в личинок колорадского жука активируются защитные механизмы этого насекомого на основе нескольких сигнальных путей. Этот ответ предотвращает развитие энтеробактерий, что позволяет грибу успешно завершить развитие. Напротив, высокие дозы, использованные при заражении личинок жука грибами, снижают эффективность антибактериальных систем у насекомого, что приводит к бурному размножению энтеробактерий и гибели как хозяина, так и гриба-патогена. В ходе работы было проведено изучение еще одного фактора – биотического, а именно характера иммунного ответа гусениц воцинной огневки на воздействие парализующего яда перепончатокрылого-паразитоида *Habrobracon hebetor* при одновременном поражении грибами *Metarhizium robertsii*. Диссертантом показано, что при этом индуцируется экспрессия нескольких генов способствующих развитию паразитов. Значительной новизной отличается и входящая в содержание диссертации оценка воздействия теназуоновой кислоты на иммунный ответ личинок воцинной огневки. Показано, что это соединение подавляет иммунитет этого насекомого за счет снижения экспрессии нескольких генов, в том числе лизоцима и цекропина, что приводит к размножению симбиотических бактерий в кишечнике хозяина. Совершенно новыми представляются и исследования диссертанта о зависимости развития поражения воцинной огневки грибами вида *Cordyceps militaris* от температуры среды: низкая температура усиливает антибактериальный и снижает противогрибной иммунный ответ, а высокая, напротив, усиливает противогрибной ответ и снижает антибактериальный ответ. Низкие температуры способствуют, таким образом, нормальному развитию гриба, а высокие приводят к бактериальному сепсису насекомого. Это наблюдение диссертант убедительно связывает с особенностью биологии грибов рода *Cordyceps*.

Структура и объем работы представляются вполне традиционными. Имеется Введение, три главы, а также Заключение и Выводы. Работа завершается списком процитированной литературы и небольшим приложением. Всего диссертация изложена на 136 страницах, включая 6 таблиц и 16 рисунков. В список цитируемой литературы содержит 285 работ, в основном зарубежных.

Список публикаций автора. Всего по теме диссертации опубликовано семь (7) работ в журналах, индексируемых в Web of Science и Scopus, что, таким образом, делает их «входящими в перечень ВАК». В одной из работ диссертант первый автор. Отметим общий высокий уровень изданий, в которых опубликованы результаты диссертации (Insect Science, Mycotoxin Research, Scientific Reports). Анализ приведенных семи публикаций показывает, что ими в полной мере охвачено все важнейшие положения и результаты представленной диссертационной работы. Материалы диссертации также были представлена на трех всероссийских и международных конференциях.

Переходя к общему анализу содержания данной диссертационной работы, хотелось бы отметить очень четкую формулировку основной цели исследования, как оценки изменений экспрессии генов иммунного ответа в организме насекомых при развитии микозов и сочетанных инфекций. При этом предполагалось учесть некоторые абиотические и биотические факторы среды. Столь четкая постановка цели отражается и в поставленных задачах исследования: 1) установление роли дозы заражения колорадского жука грибом *Beauveria bassiana* в развитии вторичных инфекций и экспрессии генов иммуносигнальных путей; 2) оценка воздействия парализующего яда габробраконов на развитие микозов и экспрессию генов иммунного ответа у воцинной огневки; 3) оценка

воздействия микотоксина тетуазоновой кислоты на экспрессию генов иммунного ответа и патогенез у вошинной огневки и 4) анализ влияния различий в температуре среды на развитие в тканях вошинной огневки грибов *Cordyceps militaris* при сопутствующих бактериальных инфекциях. При всем разнообразии содержания поставленных задач, все они укладываются в единую общую логику работы, а именно в изучение экспрессии генов иммунного ответа насекомых при развитии грибных и сочетанных инфекций.

Диссертационная работа открывается полноценным, информативным и очень хорошо написанным обзором литературных данных. Обзор удобно и рационально разделен на отдельные темы и содержит много «свежей» литературы, вышедшей за последние 10 лет. Читается эта часть диссертации с интересом и позволяет быстрее понять, как предпосылки проведения данной диссертационной работы, так и ценность достижения самого диссертанта. Начинается обзор с общей характеристики микозов насекомых, с особым вниманием к тем грибам, что стали объектами данного исследования. Затем диссертант анализирует бактерий, ассоциированных с насекомыми, причем не только тем, что исследованы в работе как модельные. Приводятся наличествующие сведения о бактериях насекомых, как части защитных систем насекомых, предотвращающих проникновение и развитие патогенных грибов. В соответствии с общим замыслом работы отдельная часть обзора посвящена роли факторов окружающей среды в развитии грибных и бактериальных инфекций. Наконец последний большой раздел обзора содержит краткое описание механизмов устойчивости насекомых к бактериальным и грибным инфекциям. Хотелось бы поблагодарить автора работы за «Заключение по литературному обзору». После чтения столь богатого и разнообразного обзора, краткое изложение важнейших фактов очень помогает пониманию.

Глава 3 «Результаты и обсуждение» представляет результаты исследования и сопровождающий эти результаты анализ в сравнении с литературными данными. Такая композиция работы представляется оптимальной, как в плане понимания результатов читающим, так и как большей компактности. В разделе «Влияние грибной инфекционной нагрузки на развитие вторичных инфекций и иммунный ответ у колорадского жука» автор представляет свою модель различных типов развития микозов у колорадского жука при различных дозах заражения. При этом исследован уровень экспрессии генов иммунитета в разных тканях личинок жука, а также обилие и состав бактериальной флоры кутикулы, жирового тела и кишечника личинок этих жуков. Полученные результаты наглядно иллюстрируются (как, к примеру, на Рис. 3). Автор диссертации показывает, что для успешного развития, грибу необходим длительный патогенез. Это, в свою очередь, требует сохранения антибактериальной защиты хозяина, для обеспечения эффективного антибактериального ответа. Подавление клеточного и гуморального иммунитета колорадского жука при развитии микозов может приводить к ранней гибели хозяина и отсутствию спорообразования при завершении развития микоза. Этот вывод подтверждается в следующем разделе работы, где автор исследует воздействие яда перепончатокрылого *Habrobracon hebetor* на развитие микоза и экспрессию генов у вошинной огневки. Оказалось, что даже парализованные действием ядом гусеницы усиливают свой иммунный ответ при поражении патогенами. Это предотвращает размножение микроорганизмов, но не препятствует развитию грибов рода *Metarhizium*. Автор делает обоснованный вывод: изменения в экспрессии генов иммунного ответа хозяина в данном случае работают в пользу развития перепончатокрылого и гриба.

Отдельная под-глава (3.3.) посвящена изучению влияния тетуазоновой кислоты на экспрессию генов иммунитета вошинной огневки и развитие микоза. Показано, что попадание этого соединения через пищу в вошинных огневок приводит к подавлению иммунных реакций в кишечнике через снижение экспрессии генов *pox*, *lizocima* и *цекропина*. Этот анализ был проведен отдельно для разных тканей гусениц, и оказалось, что экспрессия генов *pox* и *цекропина* снижается в жировом теле, а экспрессия генов *галлеримицина*, *галиомицина* и *гловерина* в жировом теле повышается. Дается трактовка

этих результатов. Не являясь для гусениц воцинной огневки летальной, тенуазонозная кислота вызывает серьёзную дисфункцию иммунной системы. Это, в свою очередь, приводит к бурному развитию бактерий в кишечнике и повышает восприимчивость гусениц к грибным патогенам.

Раздел 3.4. посвящен изучению влияния температуры на развитие грибных и сочетанных инфекций и иммунный ответ у воцинной огневки. Исследовано развитие грибов *Cordyceps militaris* и сочетанной инфекции у при различных температурах, влияние температуры на развитие грибных и сочетанных инфекций и иммунный ответ у воцинной огневки. Отдельно анализируется экспрессия генов иммунного ответа в тканях личинок *Galleria mellonella* при различных температурах.

Основной текст диссертации завершается Заключением. На четырех страницах кратко, но информативно изложены основные результаты работы. Надо сказать, что это очень полезная часть работы. Заключение непосредственно может быть использовано в соответствующих университетских курсах по патологии насекомых и разработке биометода. Это будет тем более легко и удобно, поскольку в заключение добавлены два очень информативных рисунка (14 и 15): схема влияния инфекционной нагрузки *Beauveria bassiana* на развитие грибного и сочетанного патогенезов у личинок колорадского жука и схема влияния температур на патогенез, вызванный *Cordyceps militaris* у личинок воцинной огневки.

Приведенные далее выводы соответствуют содержанию работы и полученным результатам исследований. Работа сопровождается двумя положениями, выносимыми на защиту, которые имеют несомненную познавательную ценность и прямо вытекают из содержания работы. Автореферат соответствует содержанию диссертации.

Критические замечания. Как всякая масштабная работа, представленная диссертация не лишена мелких погрешностей. При этом, хотелось бы сказать, что по качеству подготовки текста все же очень близка к безупречной. Приходится отыскивать уж совсем мелкие замечания. Некоторые из них будут отражать предпочтения читающего.

1. Представляется, что читателю было бы удобнее, если бы перед латинскими названиями насекомых приводились их русские названия, или уточнялась их таксономическая принадлежность. Для энтомологов эти названия понятны и без русского названия, а для паразитологов и зоологов иной направленности удобнее было бы, если бы уточнялось, что *Bactrocera dorsalis* это «восточная фруктовая муха», а *Melanoplus sanguinipes* - это «перелетный кузнечик». Таких «одиноких» латинских названий в тексте много. Понимание того, что это двукрылое, а это прямокрылое, могло бы быть полезным читающему.

2. Не всегда корректно даны ссылки в тексте. Так на странице 12 – ссылка на Борисова (2001), тогда как это была статья Борисова с соавторами. Тут же на стр. 12 ссылка (Constanza Mannino et al., 2019), но Constanza – это имя (first name) первого автора, а правильное перечисление авторов (см. например на сайте NIH) - Mannino MC, Huarte-Bonnet C, Davyt-Colo B, Pedrini N....

3. Заметим, также, что тенуазонозная кислота сокращается как ТеА на стр. 26, но как ТК на страницах 76, 94 и в других местах.

4. сокращение ФО – не расшифровывается при первом использовании, и, вообще, расшифровка в тексте не обнаруживается.

5. есть и совсем мелкие и маловажные опечатки, вроде «иммунодефецитный путь» (стр. 31), «появляется» (стр. 36), «параметы» (стр. 40), «динамика» (стр. 44).

Не в качестве замечания, но в виде безнадежной борьбы с проникновением иноземных слов: конечно можно использовать слово «инфлюкс» (стр. 60), и понятно, о чем это. Но зачем, какую особенность этого явления это слово отражает лучше, чем русский аналог?

Кроме того, в дискуссионном плане, зададим вопрос: является ли номер депонирования (accession number) вроде MZ564259 - регистрационным номером GenBank для культуры энтомопатогенных грибов *B. bassiana* штамма Sar-31? Понятно, что последовательность

translation elongation factor 1 alpha gene четко характеризует этот штамм. Но является ли это регистрационным номером?

Приведенные выше замечания ни в коей мере не снижают общую высокую оценку работы, которая соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям, и отраженным в пунктах 9-11, 13 и 14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» в редакции, соответствующей постановлению Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 года за № 842. Автор диссертации – Косман Елена Сергеевна заслуживает присуждения ей ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.14 – энтомология (биологические науки).

Отзыв на диссертацию и автореферат заслушан, обсужден и утвержден на межлабораторном коллоквиуме с участием сотрудников: лаборатории систематики и эволюции паразитов, лаборатории фауны, экологии и экспериментальной паразитологии, и лаборатории фитопаразитологии Института проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН (ИПЭЭ РАН), протокол заседания № 2 от 7 апреля 2026 г. На заседании присутствовали 19 сотрудников, из них 5 кандидатов и 3 докторов наук. результат голосования – «за» - 19, против – нет, воздержавшихся – нет.

Отзыв составил:

главный научный сотрудник

лаборатории систематики и эволюции паразитов

ИПЭЭ РАН,

доктор биологических наук (специальность - паразитология 1.5.17)

s_e_spiridonov@rambler.ru

Спиридонов Сергей Эдуардович

Председатель межлабораторного коллоквиума

заведующий лабораторией фауны, экологии и

экспериментальной паразитологии,

доктор биологических наук (специальность - генетика 1.5.7)

karmaselga81@gmail.com

Хасанов Фуат Каримович

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки

Институт проблем экологии и эволюции

им. А.Н. Северцова Российской академии наук (ИПЭЭ РАН)

Адрес: Россия, 119071,

Москва, Ленинский проспект, д.33

телефон 8(495) 633-09-22

E-mail: admin@sevin.ru

Сайт организации: www.sev-in.ru

