

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертацию Крюкова Вадима Юрьевича «Адаптации энтомопатогенных аскомицетов (*Ascomycota*, *Hydrocreales*) к насекомым-хозяевам и факторам среды в условиях континентального климата Западной Сибири и Казахстана», представленную на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности: 03.02.08. – Экология (биология)

Актуальность темы. Тема диссертации, безусловно, актуальна. Влияние факторов среды, состояния организма, фазы онтогенеза насекомого на его устойчивость к энтомопатогенным грибам, да и, собственно, к любому патогенному фактору – одна из ключевых проблем в понимании закономерностей динамики плотности насекомых

Научная новизна. Впервые описаны эпизоотии, вызванные грибами р. *Cordyceps* в популяциях летне-осеннего комплекса дефолиантов лиственных деревьев. Выявлены новые для территории Сибири и России виды энтомопатогенных аскомицетов. Установлено, что внутри вида *Metarhizium robertsii* существуют формы с разными патогенными стратегиями: биотрофной и токсигенной, которые вызывают различный ответ реакций клеточного, гуморального иммунитета и детоксицирующей системы насекомых. Показано, что токсигенные культуры могут поражать насекомых разных отрядов, но образовывать конидиальное спороношение они способны только на определенных хозяевах. Впервые установлено, что под воздействием метаболитов *Cordyceps militaris* у насекомых происходит нарушение пролиферации гемоцитов, изменение уровня фенолоксидазы в гемолимфе и кутикуле, задержка развития и повышение их восприимчивости к грибу *B. bassiana*. Показано, что дифференциация популяций *B. bassiana* в Западной Сибири и Казахстане зависит, преимущественно, от природно-зональных факторов. В широтном градиенте данной территории в направлении север-юг у популяций данного гриба увеличивается толерантность к повышенной температуре. Показано, что именно степные штаммы *B. bassiana* являются наиболее вирулентными в условиях высоких температур и пониженной влажности. Выявлен ряд экологических различий между криптическими видами р. *Metarhizium* и показано, что *M. robertsii* наиболее адаптирован к континентальным условиям. Выявлен ряд сочетаний штаммов грибов и бактерий, а также энтомопатогенов и инсектицидов, которые приводят к синергистическому эффекту в смертности саранчовых, чешуекрылых и колорадского жука. Показано, что под воздействием субоптимальных для насекомых температур, сопутствующих инфекций, ядов перепончатокрылых, растительных и синтетических инсектицидов, у насекомых происходит изменения композиции эпикутикулярных липидов, подавление реакций клеточного и гуморального иммунитета, а также ферментов детоксицирующей системы, что сопряжено с резким увеличением чувствительности насекомых к грибам *Beauveria*, *Metarhizium*, *Isaria*.

Впервые показана возможность горизонтального переноса энтомопатогенных грибов эктопаразитоидами.

Обоснованность результатов и достоверность выводов подтверждается достаточным объемом экспериментального материала и его корректной обработкой.

Практическая значимость. Разработаны новые экологически безопасные подходы для регуляции численности насекомых-фитофагов на основе сочетания штаммов микроорганизмов, проявляющих синергистическое действие: энтомопатогенных грибов *Metarhizium robertsii* и бактерий *Bacillus thuringiensis morissoni* var. *tenebrionis*, а также грибов *Beauveria bassiana* и фторированных модификантов усниновой кислоты. Получены термотолерантные высоковирулентные штаммы грибов, перспективные для биологического контроля насекомых в условиях континентального климата. Разработан ряд новых методов культивирования плодовых тел гриба *Cordyceps militaris*. Полученные данные могут быть использованы для мониторинга состояния популяций насекомых-фитофагов и их патогенов, а также в курсах лекций по энтомологии, микологии, паразитологии, экологии и защите растений.

Апробация работы. Материалы диссертации прошли апробацию на многих всероссийских и международных конференциях и съездах.

Личное участие автора. Исследование патогенезов насекомых, изучение экологических и морфо-физиологических свойств энтомопатогенов, обработка и анализ данных проведены непосредственно автором. Видовая идентификация энтомопатогенов на основе молекулярно-генетических маркеров проведена совместно с лабораторией эпигенетики Института цитологии и генетики (ИЦиГ СО РАН). Хроматографические исследования вторичных метаболитов грибов и эпикутикулярных липидов насекомых проводились совместно с лабораторией физиологически активных веществ Института органической химии им. Н.Н. Ворожцова (НИОХ СО РАН) и отделом прикладной энтомологии университета Суонси (Великобритания).

Публикации. Основные результаты диссертационной работы отражены в 41 опубликованной работе, в том числе 27 статей в научных журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией при Министерстве образования и науки Российской Федерации для опубликования основных научных результатов диссертаций (из них 13 статей в журналах, входящих в библиографическую базу Web of Science), 3 патента (2 патента Российской Федерации, 1 патент Республики Казахстан), 11 публикаций в прочих периодических изданиях.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 249 страницах текста, включает введение, 6 глав, заключение, выводы и приложения. Работа иллюстрирована 69 рисунками и 16 таблицами. Список литературы включает 380 источников, из которых 248 на иностранных языках.

Содержание автореферата соответствует содержанию диссертации.

Анализ содержания диссертационной работы.

Во введении диссертации анонсировано четыре положения, выносимых на защиту. В тексте диссертации все четыре положения корректно рассмотрены и защищены на основании анализа современной литературы и собственных данных автора по рассматриваемым вопросам.

Текст диссертации показывает хорошее знание соискателем объекта исследований, диссертация иллюстрирована качественными таблицами и графиками. Ссылки на заимствованные материалы корректны и отмечены в диссертации. Полученные результаты соответствуют поставленным целям и задачам, тема диссертации соответствует заявленной научной специальности.

В то же время, к тексту есть ряд замечаний.

1. По тексту встречаются неточности, неудачные выражения, некорректное оформление таблиц. В частности, стр. 25, *Betula pendula*. В настоящий момент русское название – береза повислая, а не береза бородавчатая. Стр. 69, неудачное выражение «выделенные на небольшой территории или даже на определенном участке леса...». Стр. 86, табл. 10, в таблице применен термин «лимфа» - почему? В обсуждении данных таблицы используется термин «гемолимфа». Стр. 118, рис. 29 - по оси ординат не указано время (скорость предполагает отношение расстояния ко времени). Есть еще ряд неточностей и опечаток.

2. В ряде случаев при прочтении текста возникает желание поспорить с однозначной трактовкой автором анализируемых явлений. Например, стр. 89, «В частности при заражении токсигенным штаммом отмечалось резкое повышение ФО в кутикуле, что свидетельствует об остром инфекционном процессе, связанным с более активным развитием гриба в кутикуле». Возможно другое объяснение – в связи с активизацией свободно-радикальных процессов при токсикозе ферментная система не справляется со стабилизацией ПОЛ и активизируется образование эумиланина – консерванта свободных радикалов в кутикуле.

3. Иногда при прочтении текста не понятны схема эксперимента и изложение результатов.

Стр. 101 – 102. Эксперимент по биотестированию влияния культур *S. militaris* на личинок колорадского жука.

а) Рис. 19. Подзаголовки «III возраст», «IV возраст» Масса личинок уже на 4-е сутки в III возрасте на контроле значительно выше, чем на контроле в начале IV возраста. Согласно таблице 12, к этому времени они уже все вышли на IV возраст. Некорректные подзаголовки и подпись к рисунку? То же замечание (некорректность подписей к рисунку) относится к рис. 20, рис. 21, рис. 24. Необходима была подпись – «заражение в N возрасте».

б) Табл. 12. В контроле, при концентрации суспензии твердофазной культуры 0,625 и 1,25 уже в первый день значительная часть личинок перелиняла на IV возраст. Во-первых, длительность возраста не может быть меньше суток, во-вторых, перед линькой личинки не питаются. Вопрос, не связаны ли различия в линьке в какой-то степени с тем, что для эксперимента были отобраны личинки с разным временем нахождения в III возрасте?

Каким образом рандомизировали личинок, использовавшихся в разных вариантах эксперимента?

Приведенные замечания не умаляют значимость исследования.

Оценивая работу в целом, необходимо заключить, что по постановке проблемы, ее разработке, методическому подходу, теоретической и практической значимости диссертация Крюкова Вадима Юрьевича «Адаптации энтомопатогенных аскомицетов (Ascomycota, Нуросcreales) к насекомым-хозяевам и факторам среды в условиях континентального климата Западной Сибири и Казахстана», соответствует критериям «Положения о присуждении ученых степеней», предъявляемым к диссертациям на соискание докторской степени, а ее автор заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.02.08. – Экология (биология)

Заведующий лабораторией
лесовосстановления, защиты леса
и лесопользования,
доктор биологических наук
(06.01.07. – Защита растений)

Василий Иванович Пономарев

15 марта 2015 г.

620144, г. Екатеринбург, ул. 8 марта, 202а
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Ботанический сад Уральского отделения Российской академии наук,
т. (343) 322 56 27; E-mail: vi_ponomarev@mail.ru

Подпись В.И. Пономарева подтверждаю

Ученый секретарь Ботанического сада УрО РАН

Е.Н. Флягин