

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор Федерального государственного
бюджетного учреждения науки
Институт систематики и экологии животных
Сибирского отделения Российской академии наук


д.б.н. чл.-корр. РАН, Глопов Виктор Вячеславович



ОТЗЫВ

Ведущей организации на диссертационную работу

Щаповой Екатерины Павловны

«Исследование эндосимбионтной микрофлоры гемолимфы и реакции на нее иммунной системы байкальского эндемичного вида амфипод *Eulimnogammarus verrucosus*»,

представленной на соискания ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.16 - гидробиология

Актуальность темы. В диссертации рассматривается фундаментальный вопрос взаимодействия симбиотической флоры и хозяина на примере эндемичных видов байкальских рачков. Подобные работы находятся в тренде современной науки, особенно в контексте стремительно развивающегося направления симбиогенетики, когда хологеном макроорганизма рассматривается как «генетическое сообщество», которое состоит из основного хозяина, а также симбиотических микроорганизмов, которые в данный момент времени находятся на разной стадии коэволюции между многоклеточным хозяином и симбионтами. Наполнение данного направления эмпирическими данными является важной современной задачей биологии. Добавляет актуальности работы полученный результат. Обычно в данном направлении изучаются кишечные симбионты или симбионты специализированных органов хозяина. Данная работа, показал, что даже такие ткани, вероятность заселения которых крайне низка или в случае заселения микроорганизмами будет грозить гибелью животному (плазма гемолимфы), могут представлять интерес для изучения микрофлоры. В конце концов, эндемичность изучаемых объектов, также добавляет актуальности работы, поскольку полученные данные можно использовать для дальнейших метааналитических работ, сравнивающих взаимодействие симбионт-хозяин на видах с широким и узким ареалами. Использование стандартизированных методов исследования в данной работе будет отличным подспорьем

для корректности последующих сравнительных работ, которые постоянно проводятся научным сообществом. Поэтому актуальность проведенных исследований не вызывает никаких сомнений.

Научная новизна. Значительную степень новизны придает работе уникальный эндемичный вид, на котором выполнено исследование - *Eulimnogammarus verrucosus*. На данном виде впервые изучена микрофлора гемолимфы, и продемонстрировано взаимодействие между компонентами бактериального сообщества и рядом критериев врожденного иммунитета хозяина. Впервые показана структура бактериального сообщества в изучаемых тканях организма рачка. Присутствует также и практическая новизна – диссертант рассматривает возможность использования доминантных бактерий в качестве биосенсора – индикатора физиологического состояния животных.

Объективности оценке новизны работ придает перечень изданий, где представлены результаты данных исследований. Большинство перечисленных изданий выставляют очень жесткие требования для новизны результатов, и диссертант их успешно прошел.

Структура диссертации. Диссертационная работа состоит из введения, трех глав (обзор литературы, материалы и методы, результаты и обсуждение), выводов, списка используемых сокращений и списка литературы. Материалы диссертации изложены на 125 страницах и иллюстрированы 22 рисунками. Список литературы включает 178 источников, из которых большая часть на иностранных языках.

Значимость полученных результатов для гидробиологии и биологии в целом.

Нет сомнений что данные исследования будут востребованы мировым научным сообществом, что уже в настоящее время подтверждается цитированием опубликованных в рамках диссертационного исследования работ. Факт выявления симбионтов из гемолимфы живых рачков сам по себе представляет большой интерес для исследований в области сравнительной иммунологии, т.к. это не самое распространенное явление, когда здоровое животное может позволить себе заселение живыми бактериями. С другой стороны, это, и некоторые другие исследования могут подвести ученых к тому, что функциональный вклад симбионтов лежит далеко за пределами пищеварительной системы, и возможно следует уделять больше внимания изучению не самых очевидных тканей для заселения симбионтами. Определенным потенциалом обладают и исследования по использованию компонентов микробиоты в качестве сенсоров для экофизиологических исследований. Морфологические исследования, проведенные с использованием криомикроскопии также внесут существенные вклад в область сравнительной анатомии и морфологии.

Обоснованность и достоверность научных положений, выводов и заключений. К достоверности полученных выводов вопросов не возникает. Выборки относительно репрезентативны, по крайней мере с учетом трудоемкости использования соответствующих методов при получении измерений. Возможно Екатерине Павловне следовало чуть больше уделить внимания характеристике выборок для обоснования использования непараметрического метода обсчета. Однако в любом случае, в силу меньшей точности выбранного метода, он с большей надежностью демонстрирует значимость различий там, где они отображены в диссертации.

Замечания по работе. Если рассматривать диссертационную работу в первом приближении, то по большому счету замечания можно и не выделять. Достаточно сильная работа, базирующаяся на репрезентативном материале и детальном его анализе. Если же

настроить фокус критики на более высокое разрешение, то можно отметить ряд критических замечаний, которые не затрагивают основных выводов работы.

- Так, например, в литобзоре имело смысл рассмотреть более широкий круг симбионтов и не фокусироваться только на изучаемой группе членистоногих. Это помогло бы расширить дискуссионную часть диссертации при описании потенциальных функций симбионтов.

- Чтобы не вносить путаницу по терминологии, по тексту следовало использовать термин врожденный иммунитет (неспецифическая резистентность). В противном случае, иммунологи, которые под иммунитетом в первую очередь понимают приобретённый, будут считать о наличие такового у ракообразных.

- В литературном обзоре имело смысл уделить внимание использованию высокопроизводительного секвенирования для изучения микробных сообществ, т.к. разработка данного подхода (с использованием универсальных праймеров) фактически произвело революцию в количестве исследований, направленных на изучение микрофлоры животных и факторов, влияющих на ее состав.

- Возможно неудачно используется сочетание секвенирование 16S гемолимфы. Все-таки это ген, кодирующий субъединицу исключительно прокариот, а гемолимфа – это ткань эукариот. Понятно, что исследовалась внутренняя среда эукариотического организма на заселенность прокариотами. Возможно словосочетание «секвенирование 16S рДНК прокариотических симбионтов гемолимфы....» более корректно отображало суть происходящего.

По результативной части вопросов не возникло – чувствуется, что материал уже прошел через серьезную критику рецензентов изданий, где уже представлен данный материал.

Заключение. Таким образом, рассмотренная диссертация, несмотря на ряд шероховатостей, которые не имеют прямого отношения к основным защищаемым положениям/методическим упущениям/репрезентативности используемой выборки/соответствия цели и полученных выводов представляет из себя законченный труд, прошедший должный уровень апробации, который будет востребован специалистами гидробиологами и экологами. Диссертация «Исследование эндосимбионтной микрофлоры гемолимфы и реакции на нее иммунной системы байкальского эндемичного вида амфипод *Eulimnogammarus verrucosus*» соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям (пп. 9-11, 13, 14 «Положения о присуждении учёных степеней», утвержденного Постановлением правительства РФ № 842 от 24 сентября 2013 г.), а её автор Щапова Екатерина Павловна заслуживает присуждения учёной степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.16 – Гидробиология.

Отзыв обсуждался и был одобрен на заседании Лаборатории экологической физиологии Института систематики и экологии животных СО РАН, протокол № 3 от 05.09.2023.

Отзыв составили:

Старший научный сотрудник лаборатории
экологической физиологии ИСиЭЖ СО РАН, к.б.н.



Аханаев Ю.Б.

В диссертационный совет 24.1.034.01
при Институте биологии внутренних вод
им. И.Д. Папанина РАН

СВЕДЕНИЯ О ВЕДУЩЕЙ ОРГАНИЗАЦИИ

по диссертации Щаповой Екатерины Павловны

«Исследование эндосимбионтной микрофлоры гемолимфы и реакции на неё
иммунной системы байкальского эндемичного вида амфипод *Eulimnogammarus
verrucosus*»,

представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук
по специальности 1.5.16 – Гидробиология.

Полное наименование организации в соответствии с Уставом	Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт систематики и экологии животных Сибирского отделения Российской академии наук
Сокращенное наименование организации в соответствии с Уставом	ИСиЭЖ СО РАН
Руководитель организации	Глулов Виктор Вячеславович член-корреспондент РАН, профессор
Почтовый индекс, адрес организации	Россия, 630091, г. Новосибирск, ул. Фрунзе, д. 11
Телефон	+7(383) 217-09-73
Адрес электронной почты	office@eco.nsc.ru
Веб-сайт	http://www.eco.nsc.ru
Сведения о составителях отзыва	Мартемьянов Вячеслав Викторович, кандидат биологических наук, заведующий лабораторией «Экологическая физиология». Адрес эл. почты: martemyanov79@yahoo.com Павлушин Сергей Викторович, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории «Экологическая физиология». Адрес эл. почты: sergey-pavlushin@mail.ru Аханаев Юрий Баторович, кандидат биологических наук, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории «Экологическая физиология». Адрес эл. почты: akhanaev@mail.ru Белоусова Ирина Анатольевна, кандидат

биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории «Экологическая физиология».

Адрес эл почты: puza.ia@mail.ru

Список основных публикаций по теме диссертации в рецензируемых научных изданиях за последние 5 лет (не более 15):

1. Akhanaev, Y., Pavlushin, S., Polenogova, O., Klementeva, T., Lebedeva, D., Okhlopkova, O., Kolosov, A., Martemyanov, V. The effect of mixtures of *Bacillus thuringiensis*-based insecticide and multiple nucleopolyhedrovirus of *Lymantria dispar* L. in combination with an optical brightener on *L. dispar* larvae (2022) *BioControl*, 67 (3), pp. 331-343.
2. Belousova, I., Pavlushin, S., Subbotina, A., Rudneva, N., Martemyanov, V. Sex Specificity in Innate Immunity of Insect Larvae (2021) *Journal of Insect Science*, 21 (6)
3. Kononchuk, A.G., Martemyanov, V.V., Ignatieva, A.N., Belousova, I.A., Inoue, M.N., Tokarev, Y.S. Susceptibility of the gypsy moth *lymantria dispar* (Lepidoptera: Erebidae) to *nosema pyrausta* (microsporidia: Nosematidae) (2021) *Insects*, 12 (5)
4. Pavlushin, S.V., Ilinsky, Y.Y., Belousova, I.A., Bayborodin, S.I., Lunev, E.A., Kechin, A.A., Khrapov, E.A., Filipenko, M.L., Toshchakov, S.V., Martemyanov, V.V. Appearances are deceptive: Three RNA viruses co-infected with the nucleopolyhedrovirus in host *Lymantria dispar* (2021) *Virus Research*, 297
5. Akhanaev, Y.B., Belousova, I.A., Lebedeva, D.A., Pavlushin, S.V., Martemyanov, V.V. A comparison of the vertical transmission of high-and low-virulence nucleopolyhedrovirus strains in *lymantria dispar* L. (2020) *Insects*, 11 (7), pp. 1-13.
6. Djoumad, A., Nisole, A., Stewart, D., Holden, D., Zahiri, R., Inoue, M.N., Martemyanov, V.V., Levesque, R.C., Hamelin, R.C., Cusson, M. Reassessment of the status of *Lymantria albescens* and *Lymantria postalba* (Lepidoptera: Erebidae: Lymantriinae) as distinct 'Asian gypsy moth' species, using both mitochondrial and nuclear sequence data (2020) *Systematic Entomology*, 45 (2), pp. 493-504.
7. Kurenshchikov, D.K., Martemyanov, V.V., Imranova, E.L. Features of the Far Eastern Gypsy Moth (*Lymantria dispar* L.) Population Outbreak (2020) *Contemporary Problems of Ecology*, 13 (2), pp. 172-179.
8. Pavlushin, S.V., Belousova, I.A., Chertkova, E.A., Akhanaev, Yu.B., Martemyanov, V.V., Glupov, V.V. Effect of starvation as a population

- stress-factor on activation of covert baculovirus infection in gypsy moth (2020) Zhurnal Obshchei Biologii, 81 (1), pp. 31-36.
9. Martemyanov, V., Bykov, R., Demenkova, M., Gninenko, Y., Romancev, S., Bolonin, I., Mazunin, I., Belousova, I., Akhanaev, Y., Pavlushin, S., Krasnoperova, P., Ilinsky, Y. Genetic evidence of broad spreading of *Lymantria dispar* in the West Siberian Plain (2019) PLoS ONE, 14 (8), № e0220954
 10. Belousova, I., Ershov, N., Pavlushin, S., Ilinsky, Y., Martemyanov, V. Molecular sexing of Lepidoptera (2019) Journal of Insect Physiology, 114, pp. 53-56.
 11. Inoue, M.N., Suzuki-Ohno, Y., Haga, Y., Aarai, H., Sano, T., Martemyanov, V.V., Kunimi, Y. Population dynamics and geographical distribution of the gypsy moth, *Lymantria dispar*, in Japan (2019) Forest Ecology and Management, 434, pp. 154-164.
 12. Pavlushin, S.V., Belousova, I.A., Chertkova, E.A., Kryukova, N.A., Glupov, V.V., Martemyanov, V.V. The effect of population density of *Lymantria dispar* (Lepidoptera: Erebidae) on its fitness, physiology and activation of the covert nucleopolyhedrovirus (2019) European Journal of Entomology, 116, pp. 85-91.

Директор ИСиЭЖ СО РАН,
Член-корреспондент РАН, профессор

Глулов В. В.

