

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Долгих Вячеслава Васильевича
на тему «Биохимические и структурно-функциональные адаптации энтомопатогенных
микроспоридий рода *Paranosema* к внутриклеточному паразитизму»,
представленной на соискание ученой степени доктора биологических наук
по специальности 03.02.11- паразитология

Энтомопатогенные микроспоридии представляют собой чрезвычайно объект, как для фундаментальных исследований, так и играют важную роль в защите растений, контролируя численность фитофагов и вызывая эпизоотии у нескольких десятков видов вредителей, относящихся чаще всего, к отрядам чешуекрылых, жесткокрылых и прямокрылых насекомых, причем представители рода *Paranosema* относятся к наиболее перспективным. Поэтому приведенные в диссертационной работе Долгих Вячеслава Васильевича исследования, посвященные изучению метаболических и структурно-функциональных аспектов адаптаций энтомопатогенных микроспоридий рода *Paranosema* к внутриклеточному развитию и молекулярных механизмов патогенного воздействия этих паразитов на организм насекомого-хозяина, несомненно, являются актуальными и имеют важное значение, как для теоретической биологии, так и для практики.

Автором впервые сделан вывод о способности микроспоридий поглощать готовую АТФ клетки хозяина с помощью белков - переносчиков и впервые показано, что наличие у микроспоридий генов, кодирующих пластидно-бактериальный тип АТФ/АДФ-трансферазы, является универсальной особенностью типа. Выявлено, что эксплуатация микроспоридиями энергетической системы клетки хозяина с помощью уникальных переносчиков сопровождается выключением собственного метаболического аппарата, функционирующего только на стадии споры. В спорах микроспоридии *P. locustae* впервые выделены митосомы – рудименты митохондрий и установлена локализация альтернативной дыхательной цепи на внутренней мембране митосом. Впервые изучена активность, субъединичный состав и показана эволюционная релокализация редуцированной пируватдегидрогеназы микроспоридий, предложена схема участия фермента в активации спор.

Диссертантом впервые установлено, что минимализация аппарата гликозилирования белков является общей особенностью секреторного пути этих паразитов. Впервые доказана способность микроспоридий секретировать в цитоплазму зараженной клетки функционально различные белки, потенциально способные участвовать в управлении физиологическими и молекулярно-генетическими процессами насекомого-хозяина. Впервые получены данные о том, что секретлируемая микроспоридиями гексокиназа накапливается в ядре зараженной клетки. Впервые клонированы белок-кодирующие последовательности

14 генов *P. locustae*, созданы генетические конструкции и осуществлена их эффективная экспрессия в бактериях или дрожжевых грибах, к рекомбинированным белкам получены специфические антитела.

Проведенные автором исследования внесли значительный вклад в познание биохимических и структурно-функциональных аспектов адаптации энтомопатогенных микроспоридий к развитию в клетке насекомого-хозяина. В результате этой работы показано, что длительная эволюция микроспоридий сопровождалась не только минимализацией функционального аппарата клетки, но и приобретением целого ряда уникальных особенностей, не обнаруженных у других эукариотических организмов.

Полученные Долгих В.В. данные о крайней степени метаболической зависимости энтомопатогенных микроспоридий от хозяина позволяют заключить, что при использовании препаратов на основе их спор наиболее результативным следует признать профилактическое внесение инфекционного начала в популяции вредителя для создания долговременных очагов микроспоридиоза, при этом длительная циркуляция паразитов в популяциях насекомых-фитофагов, обеспечивая супрессирующее воздействие паразита на вредителей, будет предотвращать вспышки их массовых размножений, что имеет огромное практическое значение. Показано, что антитела к гидролазам и гексокиназам, секретируемым микроспоридиями в зараженную клетку насекомых, могут быть использованы для создания высокочувствительных систем иммунодиагностики микроспоридиозов насекомых. Установлено, что альтернативная оксидаза и пируватдегидрогеназа микроспоридий может представлять интерес для разработки новых терапевтических средств лечения микроспоридиозов в силу своей уникальности.

Степень достоверности полученных диссертантом данных не вызывает сомнений, так как определена воспроизводимостью экспериментов и сопоставлением полученных данных с результатами расшифровки геномов многих видов микроспоридий. Работа выполнена на высочайшем методологическом уровне с привлечением самых современных методических подходов (световая и электронная микроскопия, молекулярная и клеточная биология, цитологический, иммунохимический, иммуногистохимический, иммуноцитохимический анализы и анализ нуклеотидных и аминокислотных последовательностей), включая оригинальные методы, разработанные автором. Результаты исследования доложены на многочисленных международных конференциях и отражены в виде 26 статей в отечественных и международных реферируемых научных журналах, а также в виде глав в трех международных коллективных монографиях, изданных в США. Стоит отметить, что материалы диссертации используются автором для чтения спецкурса «Молекулярные и

биохимические аспекты паразитизма при протозойных и гельминтных инвазиях» на кафедре зоологии беспозвоночных Санкт-Петербургского государственного университета.

Работа бесспорно отвечает требованиям, предъявляемым к докторским диссертациям, а ее автор Долгих Вячеслав Васильевич заслуживает присвоения ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.02.11 – паразитология.

Зам. директора по науке ФГБНУ ВНИИБЗР,
кандидат биологических наук
350039, г.Краснодар, ул.Вавилова 16
e-mail: vniibzr@mail.kuban.ru

Исмаилов Владимир Яковлевич

Старший научный сотрудник лаборатории химической
коммуникации и массового разведения насекомых ФГБНУ ВНИИБЗР,
кандидат биологических наук,
350088, г.Краснодар, ул. Уральская 194-240
e-mail: mar.pushnya2014@yandex.ru

Пушня Марина Владимировна



Подпись Исмаилова В.Я. и Пушня М.В. заверяю
О.О. Степанов, секретаря ФГБНУ ВНИИБЗР
кандидат биологических наук

Есауленко Елена Александровна

ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский
институт биологической защиты растений»
350039, Россия, г.Краснодар-39,
Тел./факс: (861)228-17-16
E-mail: vniibzr@mail.kuban.ru