

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
СИБИРСКИЙ ИНСТИТУТ ФИЗИОЛОГИИ И БИОХИМИИ РАСТЕНИЙ
СИБИРСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК
(СИФИБР СО РАН)**

664033, Иркутск-33, а/я 317. Для телеграмм: Иркутск-33, Физиология.
Тел. 42-67-21, Факс: (3952) 51-07-54, ИНН 3812010449
E-mail: matmod@sifibr.irk.ru

от _____ № _____.



УТВЕРЖДАЮ
Директор

Сибирского института физиологии и
биохимии растений СО РАН

Д.б.н., профессор В.К. Войников

« _____ » августа 2014 г

**ОТЗЫВ
ВЕДУЩЕГО УЧРЕЖДЕНИЯ**

на диссертацию Струнова Антона Александровича «Распределение бактерий *Wolbachia* патогенного штамма wMelPop в центральной нервной системе *Drosophila melanogaster* и их влияние на продолжительность жизни хозяина при различных температурах», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.04 (клеточная биология, цитология, гистология)

Как стало совершенно очевидным в последние десятилетия, такое явление как симбиоз имеет весьма существенное биологическое значение и большую распространенность в живых системах разной сложности. Огромный фактический материал, позволяющий судить о механизмах симбиоза, получен на примере растительно-микробных взаимодействий. Так, установлено, что в условиях симбиотических взаимоотношений микроорганизмы могут оказывать положительное действие на растительный организм, повышая его устойчивость к действию неблагоприятных условий среды (Белимов, Тихонович, 2011). В целом, эффективность симбиоза зависит как от генотипических особенностей хозяина и симбионта, так и условий среды их обитания. При этом необходимо отметить, что возникшие в ходе длительной эволюции организмов-представителей разных таксонов молекулярные механизмы взаимоотношений участвующих в симбиозе видов остаются во многих случаях малоизученными. Примером такой ситуации является проблема взаимоотношений бактерий *Wolbachia* с организмом различных видов насекомых. Решение этой проблемы наряду с чисто теоретическим может иметь важное прикладное

значение в связи с перспективами использования в будущем этих бактерий для разработки методов борьбы с такими заболеваниями человека как малярия и лихорадка Денге, так и насекомыми-вредителями в сельском хозяйстве. В связи с этим **актуальность темы** диссертационной работы А.А. Струнова, посвященной исследованию влияния *Wolbachia* штамма wMelPop на продолжительность жизни и выживаемость *Drosophila melanogaster*, распределение и ультраструктуру бактерий в клетках мозга хозяина на последовательных стадиях его жизненного цикла при различных температурах, не вызывает сомнений.

Представленная к защите диссертация А.А. Струнова имеет несомненные признаки **научной новизны**. В ней впервые с использованием флуоресцентной гибридизации *in situ* детально изучено распределение бактерий *Wolbachia* в клетках мозга насекомого *Drosophila melanogaster* на разных стадиях развития хозяина при умеренной и повышенной температурах. Автором впервые дано описание распределения морфологии бактерий в различных клетках мозга насекомого. Комплексный подход, включающий применение популяционных методов и электронной микроскопии, позволил автору определить критический период воздействия повышенной температуры, приводящий к накоплению в клетках мозга бактерий и преждевременной гибели хозяина. Сделано важное заключение о том, что специфический характер распределения бактерий в мозге насекомого закладывается в раннем эмбриогенезе путем неравномерного распределения эндосимбионтов при формировании первичных нейронов центральной нервной системы хозяина.

Диссертационная работа А.А. Струнова имеет также **теоретическую и практическую ценность**, поскольку полученные научные результаты представляют интерес с точки зрения использования бактерий *Wolbachia* в борьбе с насекомыми-вредителями в сельском хозяйстве и насекомыми-переносчиками инфекционных заболеваний у человека.

Характеристика диссертации. Работа Антона Александровича Струнова представляет собой законченное исследование, отвечающее по оформлению требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям. Материал изложен на 186 стр. и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, результатов исследования, обсуждения, выводов, списка литературы и одного приложения. Диссертационная работа иллюстрирована 54 рисунками и включает 6 таблиц. Список цитированной литературы включает 196 источников, имеющих прямое отношение к теме диссертационной работы.

Материалы автореферата и 14 опубликованных работ достаточно полно отражают содержание диссертации. Работа А.А. Струнова прошла апробацию на всероссийских и международных конференциях.

Во введении автор обосновывает актуальность избранной темы исследования, формулирует цель и основные задачи работы. В этом же разделе в кратком виде приводятся сведения, характеризующие диссертационную работу в целом.

Глава "Обзор литературы" содержит 4 основных раздела, первый из которых посвящен характеристике различных форм симбиоза. Во втором разделе главы автор анализирует состояние исследований симбиоза бактерий

Wolbachia с представителями членистоногих и нематод с акцентом на ультраструктурную организацию, филогению и распределение бактерий *Wolbachia* в тканях хозяина. Отдельные части этого раздела посвящены действию *Wolbachia* на организм хозяина, включая вызываемые этой бактерией репродуктивные модификации и жизнеспособность хозяина. В третьем разделе подробно обоснованы пре-

имущества *Drosophila melanogaster* в качестве объекта исследования взаимодействия *Wolbachia* с организмом хозяина. Завершающий раздел главы "Обзор литературы" содержит анализ проведенных ранее исследований влияния повышенных и пониженных температур на взаимоотношения эндосимбионта и хозяина. В целом, обзор литературы содержит изложение того научного материала, который необходим для понимания основных результатов диссертации.

Глава "Материалы и методы" включает характеристику использованных в работе лабораторных линий *Drosophila melanogaster* и детальное описание молекулярно-биологических методов, а также методов электронной и конфокальной микроскопии.

Глава "Результаты", являющаяся наряду с главой "Обсуждение" основной частью работы, состоит из 4 разделов. В первом автор приводит результаты молекулярно-биологического анализа инфицированности использованных в исследовании линий *Drosophila melanogaster* бактериями *Wolbachia* штамма wMelPop. Оригинальными результатами работы, изложенными во втором разделе главы, являются результаты популяционного анализа продолжительности жизни и выживаемости линии *Drosophila melanogaster*, не инфицированной и инфицированной *Wolbachia* штамма wMelPop при различных температурных режимах. Автором установлен критический период действия повышенной температуры на мух (составляющий от 7 до 13 дней), после которого наблюдается чрезвычайно быстрое накопление бактерий в клетках мозга и появление их деградирующих форм. Такие изменения в клетках мозга мух приводили к значительному сокращению средней продолжительности жизни и выживаемости *Drosophila melanogaster*. Существенный научный интерес представляют полученные автором результаты исследования структурной организации и распределения симбиотических бактерий *Wolbachia* в клетках мозга *D. melanogaster* при различных температурах с помощью электронной микроскопии. Наконец, автором впервые продемонстрировано распределение *Wolbachia* в ткани мозга *D. melanogaster* на разных стадиях жизненного цикла хозяина. Установлено, что повышенная температура не оказывала влияния на титр бактерий в центральной нервной системе личинки мух, но значительной увеличивала его, начиная со стадии поздней куколки. Представленные в диссертационной работе результаты обработаны статистическими методами, что позволило автору в итоге сделать вполне обоснованные выводы.

Таким образом, диссертационная работа А.А. Струнова является важным вкладом в решение проблемы взаимодействий паразитирующих эндомикросимбионтов с животными организмами. Исследованием автора установлено, что влияние температуры среды на процессы симбиотической ассоциации при инфицировании бактериями *Wolbachia* патогенного штамма wMelPop центральной нервной системы *D. melanogaster* зависит от стадии жизненного цикла хозяина. Обращает на себя внимание факт положительного влияния пониженной температуры на продолжительность жизни дрозифилы даже при инфицировании ее изучаемыми бактериями. Возможно, из-за малого количества экспериментального материала, данное наблюдение не отмечено в выводах диссертационной работы. В случае продолжения исследований этот факт заслуживает, возможно, более детального изучения.

Оценивая диссертационную работу в целом, нельзя не отметить ее великолепное оформление. Основные результаты, полученные автором с применением электронной и конфокальной микроскопии, оформлены в виде высокого качества микрофотографий, схем и графиков, содержащих новую оригинальную научную

информацию, соответствующую специальности «клеточная биология, цитология, гистология». В качестве небольшого замечания технического характера можно указать на несовпадение списка основных публикаций по теме работы, приводимого в диссертации на стр. 13, и списка автореферата. Впрочем, это никак не влияет на общую положительную оценку всей работы.

Выводы диссертации в целом отражают содержание проделанного А.А. Струновым исследования, которое по своей теме полностью соответствует специальности «клеточная биология, цитология, гистология».

Заключение

Диссертационная работа «Распределение бактерий *Wolbachia* патогенного штамма wMelPop в центральной нервной системе *Drosophila melanogaster* и их влияние на продолжительность жизни хозяина при различных температурах» по своей актуальности, методическому уровню, научной новизне, практическому значению отвечает требованиям ВАК России к кандидатским диссертациям, а ее автор, Струнов Антон Александрович, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология.

Отзыв подготовлен:

Зав. лабораторией
генетической инженерии растений,
д.б.н., проф.

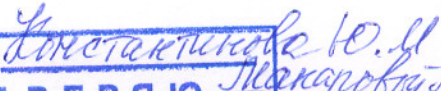
 /А.М. Константинов/

И.о. зав. лаборатории физиологии устойчивости растений,
ведущий научный сотрудник, д.б.н.

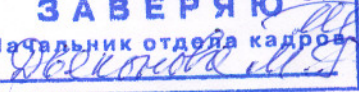
 /И.Е. Макарова/

Отзыв заслушан, обсужден и получил поддержку на совместном семинаре лабораторий генетической инженерии растений и физиологии устойчивости растений Сибирского института физиологии и биохимии растений СО РАН, состоявшемся 22 августа 2014 г.



Подпись  /Н.И. Костякина/

ЗАВЕРЯЮ

Начальник отдела кадров  /Н.И. Костякина/

28.08.2014г.