

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
ИНСТИТУТ ХИМИЧЕСКОЙ БИОЛОГИИ И ФУНДАМЕНТАЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ
СИБИРСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

На правах рукописи

Ганина Мария Денисовна

НАУЧНЫЙ ДОКЛАД
об основных результатах выполненной
научно-квалификационной работы

Эпикуткулярные углеводороды и жирные кислоты колорадского жука и саранчовых: компромисс между устойчивостью к обезвоживанию и восприимчивостью к энтомопатогенным грибам

Научная специальность

1.4.9 «Биоорганическая химия»

Аспирант _____ М. Д. Ганина

Научный руководитель _____ к.х.н. С. В. Морозов

Научный руководитель _____ к.б.н. В. В. Морозова

Новосибирск – 2023

Работа выполнена в Лаборатории экологических исследований и хроматографического анализа (2019-2022 гг.) и Группе экологических исследований и хроматографического анализа (2022-2023 гг.). ФГБУН Новосибирского Института Органической Химии им. Н.Н. Ворожцова Сибирского отделения Российской академии наук, г. Новосибирск, Россия.

Научные руководители:

Морозов Сергей Владимирович

кандидат химических наук, ведущий научный сотрудник Группы экологических исследований и хроматографического анализа ФГБУН Новосибирского Института Органической Химии им. Н.Н. Ворожцова СО РАН, г. Новосибирск.

Морозова Вера Витальевна

кандидат биологических наук, старший научный сотрудник Лаборатории молекулярной микробиологии ФГБУН Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, г. Новосибирск.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования.

Кутикула насекомых – первый защитный барьер на пути действия факторов окружающей среды. Главной функцией кутикулы в жизни насекомых является предотвращение обезвоживания. Помимо этого входящие в ее состав компоненты выступают в качестве сигнальных веществ во внутри- и межвидовых коммуникациях [Blomquist et al., 2010, 2021]. Колорадский жук (*Leptinotarsa decemlineata* Say) и стадные саранчовые являются опаснейшими вредителями сельского хозяйства в Северном полушарии, наносящими огромный урон агрокультурам и обладающими устойчивостью к химическим средствам защиты растений. Энтомопатогенные аскомицеты представляют собой естественных регуляторов численности насекомых и используются в качестве препаратов для биологического контроля разных экологических групп членистоногих [Moore, 2008, Lomer et al., 2001]. На начальной стадии заражения происходят сложные взаимодействия между грибными пропагулами и кутикулой хозяина [Pedrini et al., 2013, 2018]. По химическому составу главными компонентами кутикулы саранчовых и колорадского жука являются углеводороды и жирные кислоты [Nelson et al., 2003, Yocum et al., 2011, Lockey and Orahа, 1990].

Известно, что кутикулярные липиды – углеводороды и жирные кислоты – могут влиять на восприимчивость к грибным инфекциям [Keyhani, 2018, Ortiz-Urquiza and Keyhani, 2013], однако нет целостного понимания роли кутикулярных липидов в развитии микозов у насекомых. С экологической точки зрения имеются данные о межвидовых различиях, роли иммунных и онтогенетических изменений, а также факторов окружающей среды в устойчивости насекомых к грибным заболеваниям [Kryukov et al., 2007], однако роль кутикулярных компонентов в этих различиях исследована недостаточно. Известно, что указанные липиды определяют гидрофобность кутикулы и, соответственно, могут влиять на силу адгезии грибных пропагул к покровам на начальных стадиях микоза [Butt, 2016]. В то же время ряд кутикулярных липидов ингибируют или наоборот стимулируют процессы прорастания конидий и проникновения гифальных тел через покровы в гемоцель хозяина [Pedrini et al., 2013, 2018, Wronska et al., 2023, Kaczmarek et al., 2020]. Состав кутикулярных липидов тесно связан с гигротермическими предпочтениями насекомых или их определенными фазами развития [Menzel et al., 2016, Lockey and Orahа, 1990], но компромиссы между адаптациями насекомых к определенным условиям температуры и влажности с одной стороны, и восприимчивостью к грибным инфекциям с другой, недостаточно понятны. Исследование указанных взаимодействий позволит расширить фундаментальные знания о взаимодействиях между насекомыми и патогенами и усовершенствовать механизмы управления численностью экономически значимых видов насекомых.

Объектами в данном исследовании являлись колорадский жук, стадные саранчовые и аскомицеты *Metarhizium robertsii*. Ксерофильный итальянский прус (*Calliptamus italicus*) обладает высокой восприимчивостью к энтомопатогенным грибам, тогда как мезоксерофильная азиатская саранча (*Locusta migratoria*) более резистентна к ним [Kryukov et al., 2007]. Разные стадии развития колорадского жука также характеризуются разной чувствительностью к *Metarhizium robertsii*: так, личинки более восприимчивы к действию энтомопатогенных грибов в отличие от куколок и имаго. Кроме того разные стадии в пределах последнего (IV) возраста личинок характеризуются различной устойчивостью к патогену [Kryukov et al., 2017, Тюрин и др. 2016].

В данной работе проведен сравнительный анализ кутикулярных липидов колорадского жука на разных стадиях онтогенеза, а также анализ кутикулярных липидов саранчовых из разных гигротермических стадий методом газовой хроматографии – масс-спектрометрии (ГХ/МС). На примере личинок колорадского жука изучена трансформация композиции липидов при грибной инфекции, вызванной *M. robertsii*.

Цель и задачи исследования. Целью данной работы являлся сравнительный анализ эпикутикулярных липидов разных стадий развития колорадского жука и двух видов

саранчовых, характеризующихся разным уровнем восприимчивости к энтомопатогенным грибам, а также анализ изменения липидных композиций насекомых при развитии грибных инфекций методом ГХ/МС.

В ходе работы планировалось решить следующие **задачи**:

1. Провести сравнительный анализ состава эпикутикулярных липидов личинок, куколок и имаго колорадского жука, а также на разных стадиях последнего IV возраста личинок, различающихся по устойчивости к *Metarhizium robertsii*;
2. Проанализировать изменения липидного состава экстрактов целого тела и кутикулы личинок колорадского жука, а также конидий *Metarhizium robertsii* до и после инфицирования насекомых;
3. Провести сравнительный анализ состава эпикутикулярных липидов у азиатской саранчи *Locusta migratoria* и итальянского пруса *Calliptamus italicus*, оценить уровень адгезии конидий *Metarhizium robertsii* к кутикуле данных видов и уровень смертности;
4. Разработать алгоритм по выявлению характеристических ионов в масс-спектрах метилразветвленных алканов для их идентификации в сложных смесях природного происхождения;
5. Оценить метрологические характеристики количественного определения углеводов в эпикутикуле насекомых.

Научная новизна полученных результатов

В данной работе впервые проведен сравнительный анализ эпикутикулярных липидов личинок колорадского жука на разных стадиях IV межличиночного периода. Установлено уменьшение общего содержания углеводов у личинок колорадского жука в течение последнего личиночного возраста, что коррелирует с уменьшением уровня адгезии конидий *M. robertsii* к кутикуле и снижением восприимчивости к грибу. Впервые проведен сравнительный анализ эпикутикулярных липидов на трех стадиях онтогенеза (личинки, куколки, имаго) колорадского жука. Показано смещение углеводородного профиля имаго в длинноцепочечную область, а также увеличение уровня связанных кислот у куколок и ненасыщенных кислот у имаго. Впервые установлено значительное сокращение уровня метилразветвленных углеводов в кутикуле и внутренних липидах личинок колорадского жука при развитии микоза, а также значительное изменение жирнокислотного состава. Впервые проведен сравнительный качественный и количественный анализ эпикутикулярных углеводов и жирных кислот у видов саранчовых с разными гигротермическими предпочтениями и разной восприимчивостью к грибу *M. robertsii*. Показано смещение углеводородного профиля *C. italicus* в более длинноцепочечную и разветвленную (ди- и триметилалканы) область, по сравнению с *L. migratoria*. Выявлены изменения в липидном составе эпикутикулы насекомых на разных стадиях развития, а также с разными гигротермическими предпочтениями. Полученные данные расширяют фундаментальные знания о взаимодействиях насекомых с патогенами и окружающей средой.

Практическая значимость полученных результатов

Полученные данные по составу кутикулярных липидов насекомых позволяют объяснить повышенную восприимчивость ксерофильного итальянского пруса к патогену по сравнению с более мезофильной азиатской саранчой. Показаны изменения в углеводородном и жирнокислотном составе эпикутикулы колорадского жука в течение жизненного цикла, а также при развитии грибной инфекции. Результаты сравнительного анализа эпикутикулы насекомых из разных мест обитания, с разной резистентностью к патогенам и на разных стадиях онтогенеза дополняют представления об адаптационных механизмах к различным биотическим и абиотическим факторам окружающей среды и компромиссе функций эпикутикулы насекомых. Эти данные могут быть использованы в совершенствовании методов мониторинга и биологического контроля хозяйственно значимых насекомых.

Положения, выносимые на защиту

В эпикутикуле личинок колорадского жука в течение IV возраста снижается содержание метилразветвленных алканов, что сопровождается падением уровня адгезии конидий *M. robertsii* к кутикуле и снижением восприимчивости к патогену.

У колорадского жука в ряду личинки-куколки-имаго углеводородный профиль эпикутикулы значительно сдвигается в более тяжелую область, при этом в эпикутикуле куколок резко повышается уровень связанных жирных кислот.

Гриб *M. robertsii* утилизирует метилразветвленные алканы кутикулы и целого тела личинок колорадского жука в процессе микоза.

У ксерофильного итальянского пруса углеводородный профиль эпикутикулы сдвигается в сторону более тяжелых (C35-C39) и ди- и триметилразветвленных углеводородов по сравнению с мезоксерофильной азиатской саранчой. Это коррелирует с более высоким уровнем адгезии конидий *M. robertsii* к кутикуле итальянского пруса и его более высокой восприимчивостью к грибному патогену.

Эпикутикулярные углеводороды имаго колорадского жука образуют 8 изомерно-гомологических рядов моно-, ди- и триметилразветвленных алканов с длиной главной цепи C26-C37. Основная группа – терминально разветвленные углеводороды с разветвлением во 2-м положении, синтезируемые из валина. По этому направлению синтезируются 51 % кутикулярных углеводородов. Второе направление – синтез внутренне разветвленных алканов с праймером ацетил-СоА (18%). Изомерно-гомологические ряды углеводородов, синтезируемых из пропионил-СоА, составляют 4%.

Публикации и апробация результатов.

По материалам работы опубликовано 2 научные статьи и 1 принята к печати в рецензируемых изданиях рекомендованного перечня ВАК и 17 тезисов на международных и всероссийских конференциях.

Личный вклад автора.

Основная часть работы была выполнена автором лично, либо с ее непосредственным участием. Получение экстрактов личинок колорадского жука в эксперименте с патогенезом, разделение свободных и связанных кислот, дериватизация экстрактов насекомых, химический анализ эпикутикулярных липидов методом ГХ/МС, а также разработка алгоритма по выявлению характеристических ионов и оценка метрологических характеристик выполнены лично автором. Сбор личинок колорадского жука из природных популяций, получение первичных экстрактов (смывов) насекомых, эксперименты по патогенезам колорадского жука были выполнены совместно с д.б.н. Крюковым В. Ю., к.б.н. Тюриным М. В. и к.б.н. Носковым Ю.А. на Карасукском стационаре (ИСиЭЖ СО РАН). Сбор личинок саранчовых, эксперименты по получению экстрактов (смывов) и патогенезам саранчовых были выполнены совместно с д.б.н. Крюковым В. Ю., к.б.н. Тюриным М. В., а также с сотрудниками Казахского научно-исследовательского института защиты и карантина растений им. Ж. Жиенбаева (г. Алматы): Е. Ж. Баймагамбетовым, Е. М. Макаровым, А. Успановым, Г. Рвайдаровой на базе данного института.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы

Насекомые. Личинки колорадского жука собирались в Карасукском районе Новосибирской области и далее выращивались в лаборатории до нужного возраста или стадии. Личинки помещались в 300 мл пластиковые вентилируемые контейнеры (10 насекомых на 1 контейнер) при 25°C и 70-80% относительной влажности с фотопериодом 12 ч. В качестве корма использованы листья картофеля. В эксперименте использовались личинки колорадского жука трех возрастных групп в пределах последнего IV возраста: свежеперелинявшие (4-6 ч после линьки), личинки промежуточного возраста (34-36 ч после линьки) и личинки, заканчивающие питание (84-86 ч после линьки). В эксперименте с разными стадиями онтогенеза (личинки-куколки-имаго) использовались свежеперелинявшие личинки IV возраста.

Личинок саранчовых III возраста собирались из природных популяций в Юго-Восточном Казахстане (Алматинская область). Насекомых содержали в литровых вентилируемых пластиковых контейнерах (10 личинок на 1 контейнер) при 24°C и фотопериоде 16:8 (свет:темнота). В качестве корма использована смесь тростника и осок для *L. migratoria*, и смесь видов *Artemisia* для *C. italicus*.

Адгезия и смертность. Для определения уровня адгезии и смертности личинок колорадского жука и саранчовых использовали штамм *Metarhizium robertsii* P-72 (Genbank # KP172147.2) из коллекции микроорганизмов Института Систематики и Экологии Животных СО РАН. Для анализа уровня адгезии использована модифицированная методика Ment et al. [2010]. Личинок колорадского жука трех возрастов и саранчовых погружали в суспензию с концентрацией 10^8 конидий/мл в воде на 10 сек. Через 6 часов после инокуляции насекомых вортексировали 1 мин при 500 об/мин в водно-твинном растворе (Твин-20, 0,05%) чтобы смыть неадгезировавшие конидии. Затем 4 личинки помещали в 10 мл виалу с 5 мл дихлорметана и встряхивали 5 мин при 200 об/мин. Насекомых извлекали из виал, дихлорметан упаривали досуха. Затем осадок ресуспендировали в 2 мл водно-твинного раствора при 3000 об/мин в течение 5 мин, концентрацию конидий подсчитывали в гемоцитометре. Для личинок колорадского жука результаты пересчитывали на площадь поверхности, для саранчовых – на одну личинку. Для анализа использовано 8 повторностей (1 повторность = 4 личинки) для каждого вида саранчовых и 9 повторностей (1 повторность = 2 личинки) для колорадского жука.

В экспериментах по определению смертности использовали концентрацию гриба 10^7 конидий/мл для саранчовых и 10^6 конидий/мл для личинок колорадского жука. Насекомых погружали на 10 сек в суспензию конидий или в водно-твинный раствор (контроль). После инокуляции насекомых содержали в литровых вентилируемых пластиковых контейнерах (10 личинок на 1 контейнер) при 24°C и фотопериоде 16:8 (свет:темнота). Кормление и учет смертности проводили ежедневно в течение 12 суток. Тестирование проведено в 4-х повторностях (1 повторность - 10 личинок) и целый эксперимент независимо повторен трижды.

Заражение личинок колорадского жука. Для сравнения состава композиций липидов живых и колонизированных грибом личинок колорадского жука использовали штамм *Metarhizium robertsii* Mak-1 [Kryukov et al., 2011]. В качестве искусственной питательной среды (ИПС) для грибов использовали дважды автоклавированное пшено п [Tomilova et al., 2019]. Насекомых заражали путем погружения в водно-твинную (0,03%) суспензию с титром 2×10^6 конидий/мл. Через 9-12 суток после заражения погибших насекомых раскладывали по влажным камерам на 4-5 суток для получения конидиального спороношения. Конидии были смыты с поверхности насекомых водой и затем высушены на фильтровальной бумаге в течение 2 суток при комнатной температуре. Конидии, выращенные на пшене аналогичным образом, обрабатывались водой и сушились на фильтровальной бумаге. Оба типа конидий были заморожены при -20° до проведения экстракции. В каждом варианте эксперимента использовано 4 повторности (1 повторность = 0.2 г конидий). Контрольные насекомые обрабатывались водно-твинным раствором без конидий грибов. После гибели и прорастания гриба на личинках конидиальный слой был смыт водой, насекомые высушены на фильтровальной бумаге при 25° в течение 30 минут. Живые (контрольные) личинки также были обработаны водой и высушены. Затем насекомые были заморожены при -20° до экстракции. В каждом варианте эксперимента использовано 4 повторности (1 повторность = 40 личинок).

Для анализа изменений состава эпикутикулярных липидов личинок колорадского жука использовались личинки шкурки личинок колорадского жука IV-го возраста. Перед тестированием шкурки обрабатывались 6% раствором перекиси водорода в течение 2 мин и затем промывались дистиллированной водой для минимизации влияния бактерий на изменение химического состава липидов. Для получения зараженных грибом *M. robertsii* образцов шкурки были погружены в водную суспензию с концентрацией 2×10^8 конидий/мл

на 15 сек и затем помещены на предметные стекла во влажные камеры. Инкубация проводилась 5 суток при температуре 24°C в темноте. После инкубации шкурки замораживались при -20°C. Для получения контрольных образцов шкурок проводились аналогичные процедуры, но обработка проводилась водой без конидий гриба. Для анализа использовано 4 повторности каждого варианта (1 повторность = 80 шкурок).

Получение образцов эпикутикулярных липидов. Для получения смывов эпикутикулярного слоя колорадского жука на разных стадиях онтогенеза и личинок саранчовых использовали общепринятую методику получения поверхностных липидов членистоногих [Ment et al., 2010, 2013]: кратковременная экстракция (смыв) в течение 5 мин при комнатной температуре. Для колорадского жука смыв проводился смесью гексан : метил-третбутиловый эфир (1:1 v/v), для саранчовых – гексан : диэтиловый эфир (1:1 v/v). Для личинок колорадского жука на разных стадиях IV возраста использовали 5 повторностей для свежеперелинявших и промежуточных личинок, 6 повторностей для заканчивающих питание личинок (1 повторность = 80 личинок), для саранчовых – 6 повторностей (1 повторность = 80 личинок), в эксперименте с личинками, куколками и имаго колорадского жука использовали 4 до 6 повторностей (1 повторность = 80 насекомых). Для получения метиловых эфиров жирных кислот эпикутикулярные смывы обрабатывались диазометаном [Golebiowski et al., 2008] и подвергались кислотному метанолизу [Koukos et al., 2015]. Степень извлечения эпикутикулярных липидов составляла >80%.

В эксперименте с патогенезом личинок колорадского жука для получения экстрактов целого тела личинок, личинных шкурок и грибов личинки, шкурки и конидии грибов замачивались в смеси растворителей гексан : метил-трет-бутиловый эфир (1:1 v/v) при комнатной температуре на 24ч, личинки и конидии затем подвергались ультразвуковой обработке в течение 30 мин. Для отдельного анализа свободных и связанных кислот из полученных экстрактов липидов личинок, шкурок и конидий свободные кислоты отделялись смывом 5%-ого раствора КОН. Для получения метиловых эфиров жирных кислот свободные кислоты обрабатывались диазометаном, связанные кислоты подвергались кислотному метанолизу.

Прорастание конидий. Для определения уровня прорастания конидий экстракты (смывы) были нанесены на поверхность агарозы в чашки Петри [Tomilova et al., 2019] из расчета экстракт с одной личинки на 2 см² агарозы. Контрольные площадки обрабатывались смесью растворителей, используемых при получении экстрактов. Затем на площадки была нанесена суспензия конидий *M. robertsii* (20 мкл, 10⁶ конидий /мл) и высушена под потоком ламинарного воздуха в течение 20 мин. Чашки инкубировали при 26°C в течение 16 часов и подсчитывали число проросших конидий с использованием световой микроскопии. Три повторности (10 полей зрения в каждой) было использовано для каждой обработки.

ГХ/МС анализ. Анализ кислот и углеводов эпикутикулы насекомых проводили методом хромато-масс-спектрометрии (ГХ/МС) на газовом хроматографе 6890N с масс-селективным детектором 5975N (Agilent Technologies, USA). Использовали кварцевую капиллярную колонку HP-5MS (сополимер 5% бифенил- и 95% диметилсилоксана) длиной 30 м и внутренним диаметром 0.25 мм, толщина пленки неподвижной фазы 0.25 мкм. Объем вводимой пробы 1 мкл, без деления потока. В качестве газа носителя использовали гелий, скорость потока 0.8 мл/мин. Температура инжектора и интерфейса составляла 310 °С, температура колонки менялась по следующей программе: 2 мин выдерживалась при 50 °С, затем увеличивалась до 310 °С, со скоростью 2 °С/мин и выдерживалась при этой температуре в течение 13 мин (режим Sterol2G310). Масс-спектры регистрировали в режиме электронной ионизации, энергия ионизации 70 эВ. Идентификация метилразветвленных углеводов проводилась на основе сравнения рассчитанных и литературных линейных индексов удерживания [Nelson et al., 2003, Ruther et al., 2011, Genin, 1986, LOCKEY and ORANA, 1990, Sprenger et al., 2018, Akino, 2006], анализа характеристичных ионов в масс-спектрах, образующихся при разрыве углеродной цепи в местах разветвления, а также с учетом данных о биохимической осуществимости синтеза метилразветвленных углеводов насекомых

[Nelson et al., 2003]. Для анализа сложных пиков использовали реконструкцию исходной хроматограммы по характеристичным ионам. Линейные индексы удерживания (ЛИУ) рассчитывали с использованием нормальных реперных алканов C₂₄-C₄₁ из нефтяного парафина П-2 (Лукойл) и стандартного образца HP 5080-8716 (C₅-C₄₀). Идентификация кислот проводилась на основе базы данных NIST 02 MS, находящейся в составе системы обработки данных Agilent G 170 1 AA Chemstation. Количественный расчет проводили с использованием стандартных образцов *n*-дотриаконтана для углеводородов и метилстеарата для жирных кислот.

Результаты и обсуждение

1. Сравнительный анализ эпикутикулярных липидов колорадского жука на разных стадиях онтогенеза

1.1 Сравнительный анализ эпикутикулярных липидов в течение IV возраста личинок

Данная часть посвящена изучению динамики содержания основных липидных компонентов эпикутикулы личинок колорадского жука в течение IV межлиночного периода. Необходимо отметить, что в указанный период происходят резкие изменения в восприимчивости личинок к энтомопатогенным грибам *Metarhizium*. Так, свежеперелинявшие личинки высоко восприимчивы к грибам, тогда как к концу этого периода они становятся существенно более устойчивыми к этим патогенам (Рис.1а). Такая же тенденция наблюдается и для уровня адгезии конидий к кутикуле (Рис.1б). IV возраст наиболее продолжительный по времени, и на этой стадии личинки потребляют наибольший объем растительной массы, по сравнению с предыдущими возрастами. Поэтому выяснение причин резких изменений восприимчивости к патогенам в течение данного периода является весьма актуальным.

Основными компонентами эпикутикулярного слоя личинок IV возраста являлись моно-, ди- и триметилразветвленные алканы состава C₂₈-C₃₂. Для всех возрастных групп мажорными соединениями являлись углеводороды с длиной цепи C₃₀ (рис.2а). Общее содержание углеводородов значительно (в 2 раза) уменьшалось в пределах IV возраста, составляя 24.7±5.5, 20.4±7.6 и 11.6±7.4 мкг на см² площади поверхности личинки для свежеперелинявших, промежуточного возраста и заканчивающих питание личинок соответственно (рис. 2б).

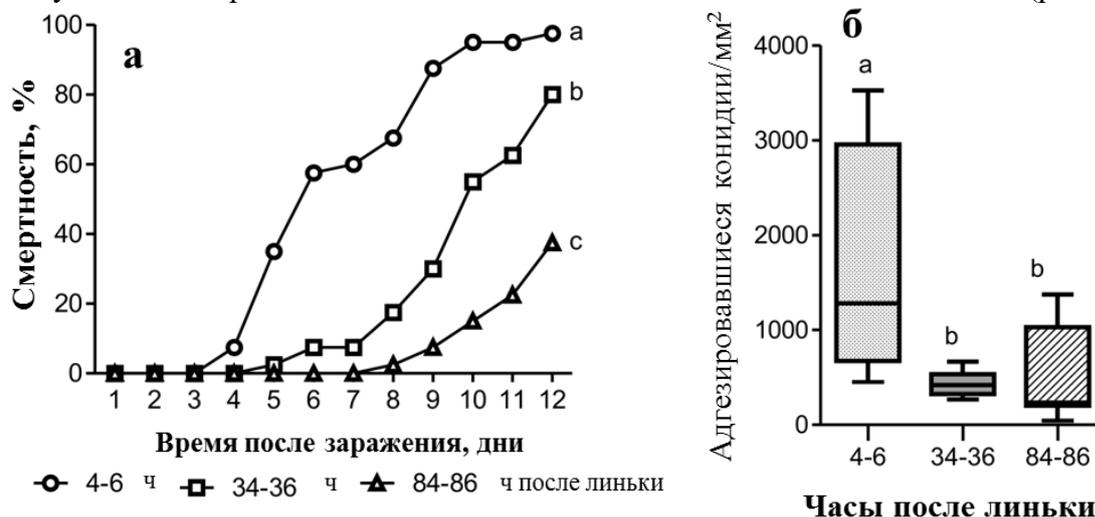


Рис. 1. Динамика смертности личинок колорадского жука, зараженных *M. robertsii*, через 4-6, 34-36 и 84-86 ч после линьки в IV возрасте (а), разные буквы указывают значимые отличия (log-rank test: $\chi^2 > 4.22$, $df=1$, $p < 0.04$); уровень адгезии конидий к кутикуле личинок колорадского жука в течение IV межлиночного возраста (б), данные представлены в виде среднего, 25-75% квартильных отклонений, минимального и максимального значений разные буквы указывают значимые отличия между выборками (Dunn's test, $p < 0.01$)

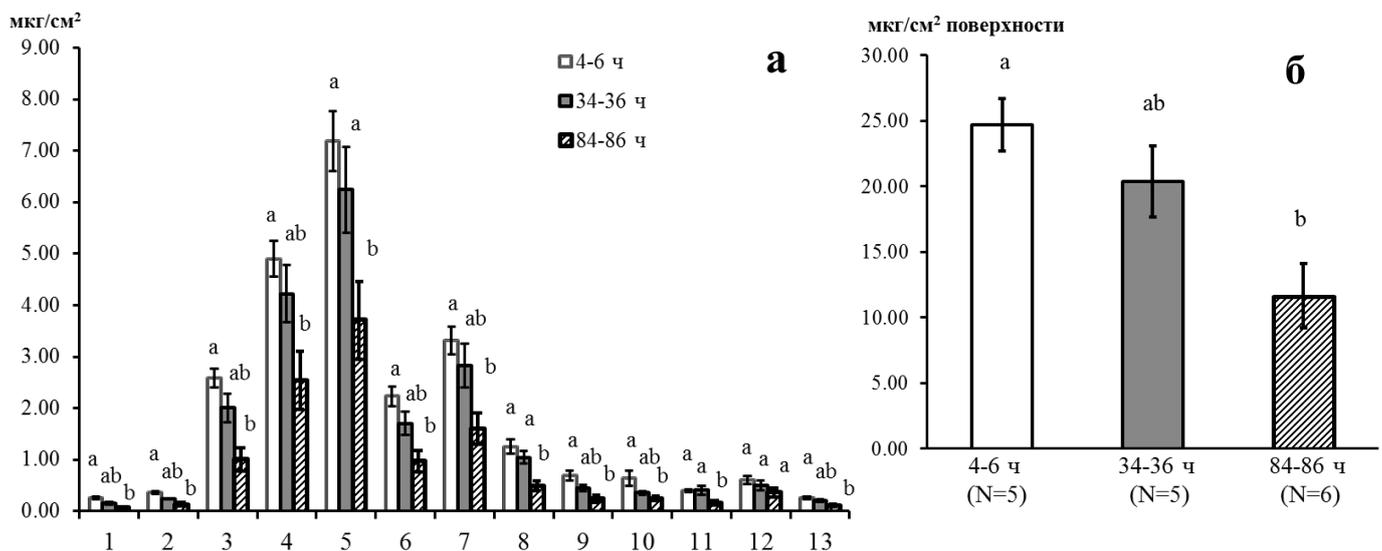


Рис. 2. Индивидуальное (а) и суммарное (б) содержание углеводов в эпикутикуле личинок в течение IV межличиночного периода. Разные буквы указывают значительные различия между группами (Dunn's test, $p < 0.05$). **1** – 2,6-диметилгексакозан, **2** – 10-метилоктакозан, **3** – 2- или 4-метилоктакозан, **4** – 2,10- или 2,18- диметилоктакозан, **5** – 2,6-диметилоктакозан, **6** – 2,10,16- и 2,10,18-триметилоктакозан, **7** – 11-метилнонакозан, **8** – 11,17- и 11,19- диметилнонакозан, **9** – 12-метилтриаконтан, **10** – 2- или 4-метилтриаконтан, **11** – 2,12- или 2,18-диметилтриаконтан, **12** – 2,6-диметилтриаконтан, **13** – 13-метилгепттриаконтан

Суммарное содержание свободных кислот не изменялось существенно в исследуемый период, составляя 2.5 ± 0.5 , 3.4 ± 0.6 и 2.1 ± 0.5 мкг на см^2 площади поверхности кутикулы для молодых, средних и взрослых личинок соответственно. Мажорными кислотами были пальмитиновая (C16:0), линолевая (C18:2), олеиновая (C18:1), линоленовая (C18:3) и стеариновая (C18:0) кислоты.

Уменьшение содержания углеводов в процессе последнего межличиночного периода, по всей видимости, связано со сменой среды обитания. Молодые личинки обитают на листьях и редко инфицируются грибами. В свою очередь более взрослые личинки переходят в почву для стадии предкуколки. В почвенной среде, с одной стороны, вероятность обезвоживания низка, но с другой стороны высок риск заражения грибными конидиями. Предотвращение обезвоживания является главным фактором опасности для свежеперелинявших личинок, в то время как взрослые личинки должны выработать надежный механизм защиты против почвенных микроорганизмов. Выявленное уменьшение содержания углеводов в кутикуле, по всей видимости, снижает аттрактивность кутикулы для конидий путем снижения уровня адгезии спор и их прорастания. Можно полагать, что уменьшение общего количества кутикулярных углеводов в последнем возрасте является одним из адаптивных механизмов защиты личинок от инфицирования грибами при переходе в почву.

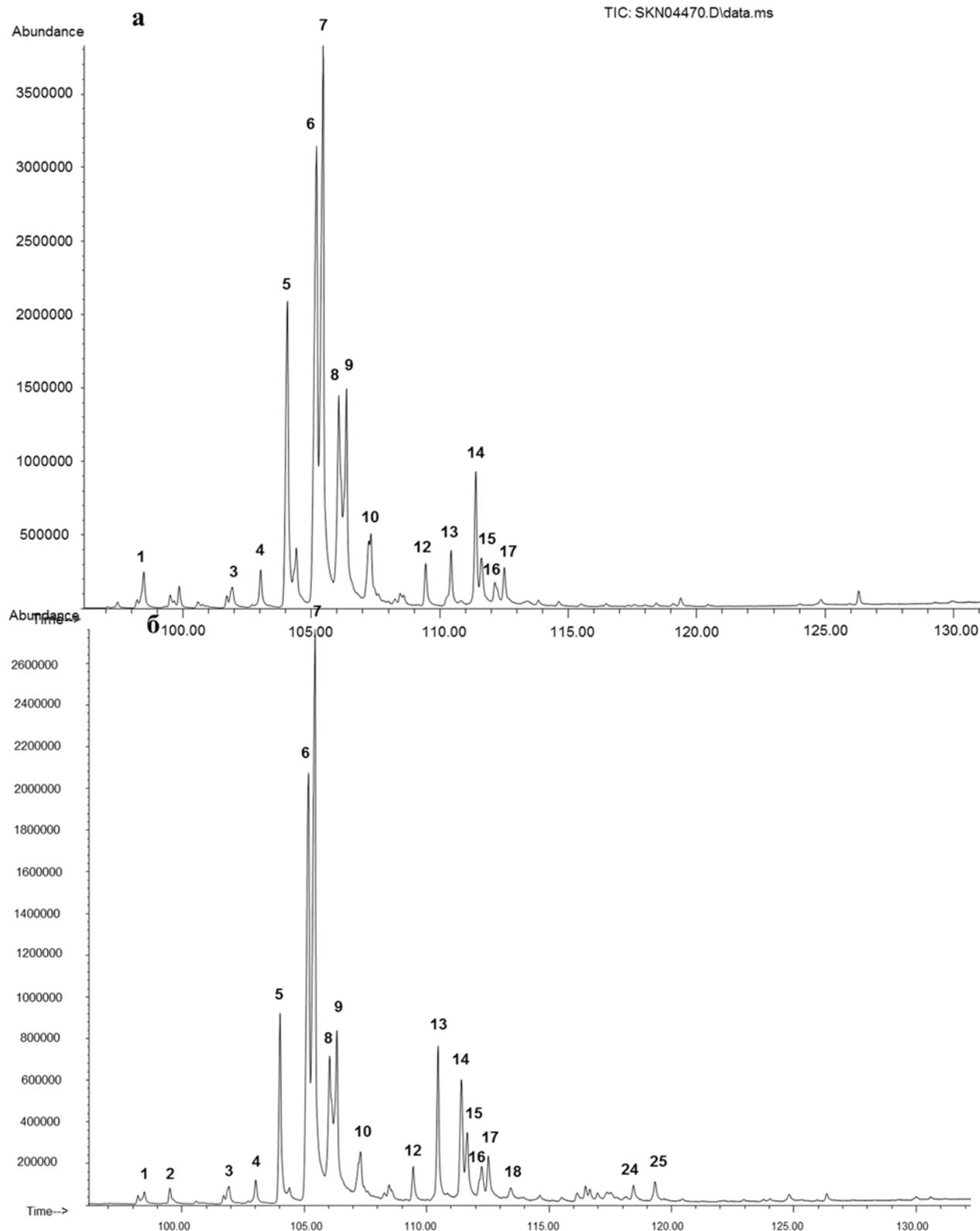
1.2 Сравнительный анализ эпикутикулярных липидов на стадиях личинки-куколки-имаго

В данном разделе приводятся результаты сравнительного анализа углеводов и жирных кислот эпикутикулы личинок, куколок и взрослых особей колорадского жука. Следует отметить, что куколки и имаго значительно более устойчивы к энтомопатогенным грибам *M. robertsii*, в отличие от личинок (гибель за 10 суток при инфицировании концентрацией $2 \cdot 10^7$ конидий/мл – 10%, 0% и 100% соответственно).

1.2.1 Углеводороды

Основными компонентами эпикутикулы личинок, куколок и имаго колорадского жука являлись моно-, ди-, и триметилразветвленные алканы. На рис. 3 приведены хроматограммы углеводородного профиля кутикулы трех стадий колорадского жука. В ряду личинки-куколки-имаго наблюдалось расширение состава углеводов со значительным сдвигом в более тяжелую область (Рис.6а). Так, в относительно легкой и наиболее обильной фракции (C28-C31) отмечено снижение содержания компонентов в ряду личинки-куколки-имаго. В более

тяжелой области (C32-C35) наблюдалась обратная тенденция. Самая тяжелая область (C36-C40) была представлена только у имаго (рис. 4а). При этом в онтогенетическом ряду общее содержание углеводородов в эпикутикуле несколько снижалось, составляя 856 ± 35 , $829 \pm 60\%$, 729 ± 21 мкг/мг экстракта у личинок, куколок и имаго соответственно ($P = 0.1$ для имаго по сравнению с личинками). По степени разветвления мажорной группой во всех стадиях были диметилразветвленные алканы, их содержание существенно отличалось от моно- и триметилизимеров (рис. 4б). Распределение индивидуальных компонентов приведено на рис.5. и в табл. 1.



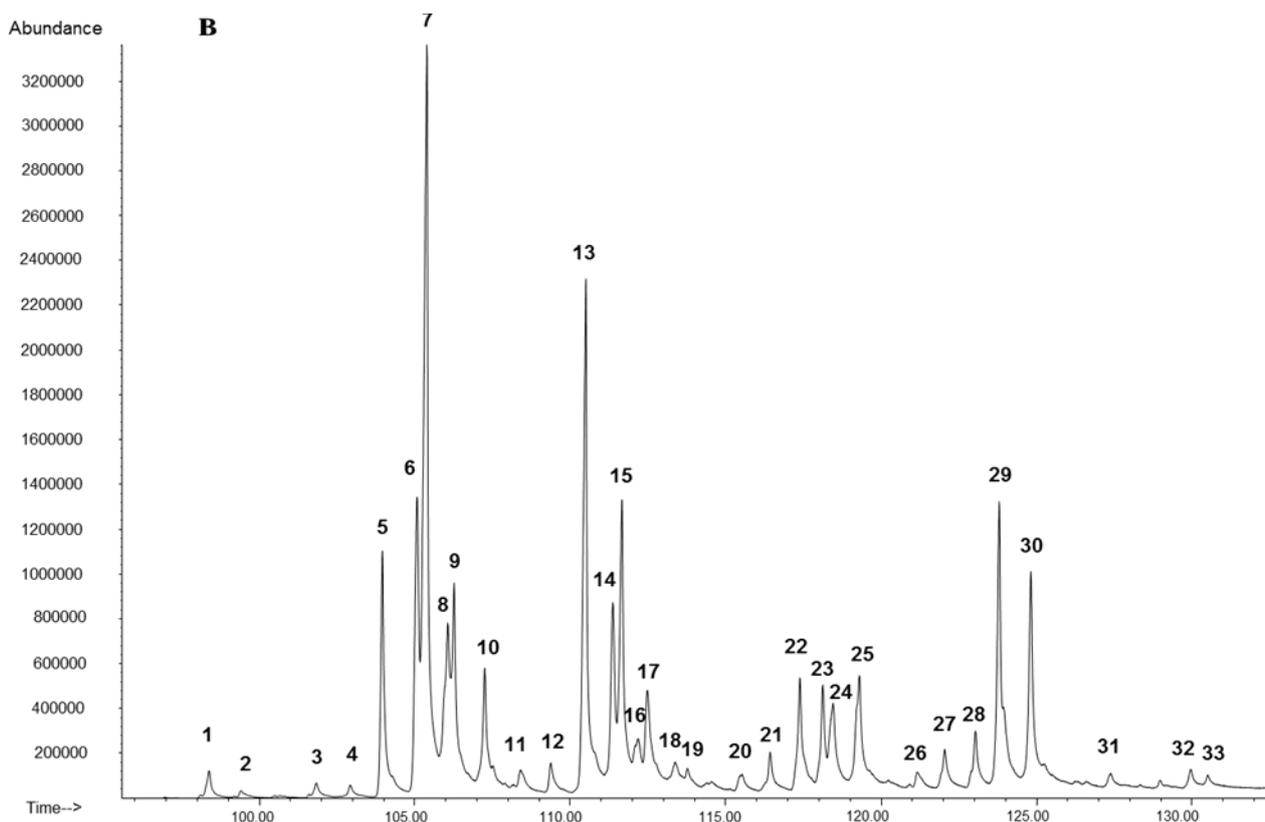


Рис. 3. Хроматограммы углеводородного профиля личинок (а), куколок (б) и имаго (в) колорадского жука; **1** – 2,6-диметилС26, **2** – 13-метилС27, **3** – 7-метилС28, **4** – 10-метилС28, **5** – 2- и/или 4-метилС28, **6** – 2,10-, 2,18-диметилС28, **7** – 2,6-диметилС28, **8** – 2,10,16-, 2,10,18-триметилС28, **9** – 11-метилС29, **10** – 11,19- и 11,17-диметилС29, **11** – 2,23-диметилС29, **12** – 12-метилС30, **13** – 2- и/или 4-метилС30, **14** – 2,12- и/или 2,18-, 2,10-диметилС30, **15** – 2,6-диметилС30, **16** – 2,12,16- и 2,10,16-триметилС30, **17** – 13-метилС31, **18** – 13,21-диметилС31, **19** – 3-метилС31, **20** – 10- и 12-метилС32, **21** – 2- и/или 4-метилС32, **22** – 2,10- и 2,16-диметилС32, **23** – 2,10,16- и/или 2,10,22-триметилС32, **24** – 11-, 13- и 17-метилС33, **25** – 11,21- и 11,17-диметилС33, **26** – 17-метилС34, **27** – 12,18- и 10,18-диметилС34, **28** – 2,16- и 2,10-диметилС34, **29** – 2,10,16-, 2,10,18-триметилС34 и 17-метилС35, **30** – 11,19-, 11,23-, 13,19-, 13,23-диметилС35, **31** – 12,16- и/или 12,20-, 10,18-диметилС36, **32** – 13,23- и 13,25-диметилС37, **33** – 13,17,25-триметилС37

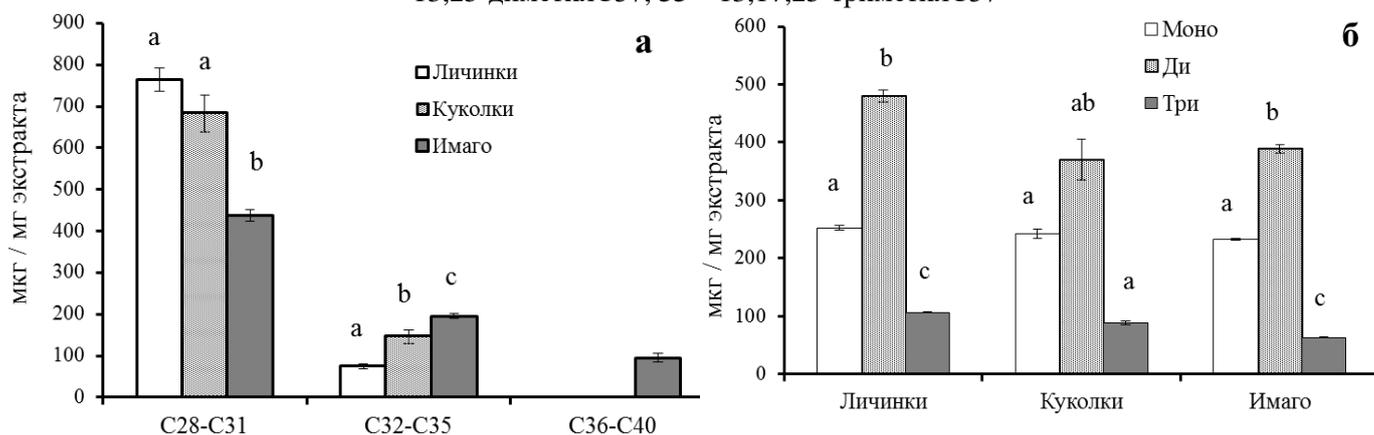


Рис. 4. Распределение углеводородов по молекулярной массе (а) и по степени разветвления (б) в эпикутикуле личинок IV возраста, куколках и имаго колорадского жука. По 5 биологических повторностей в каждой стадии. Разные буквы указывают значимые отличия (Tukey, $p < 0.05$)

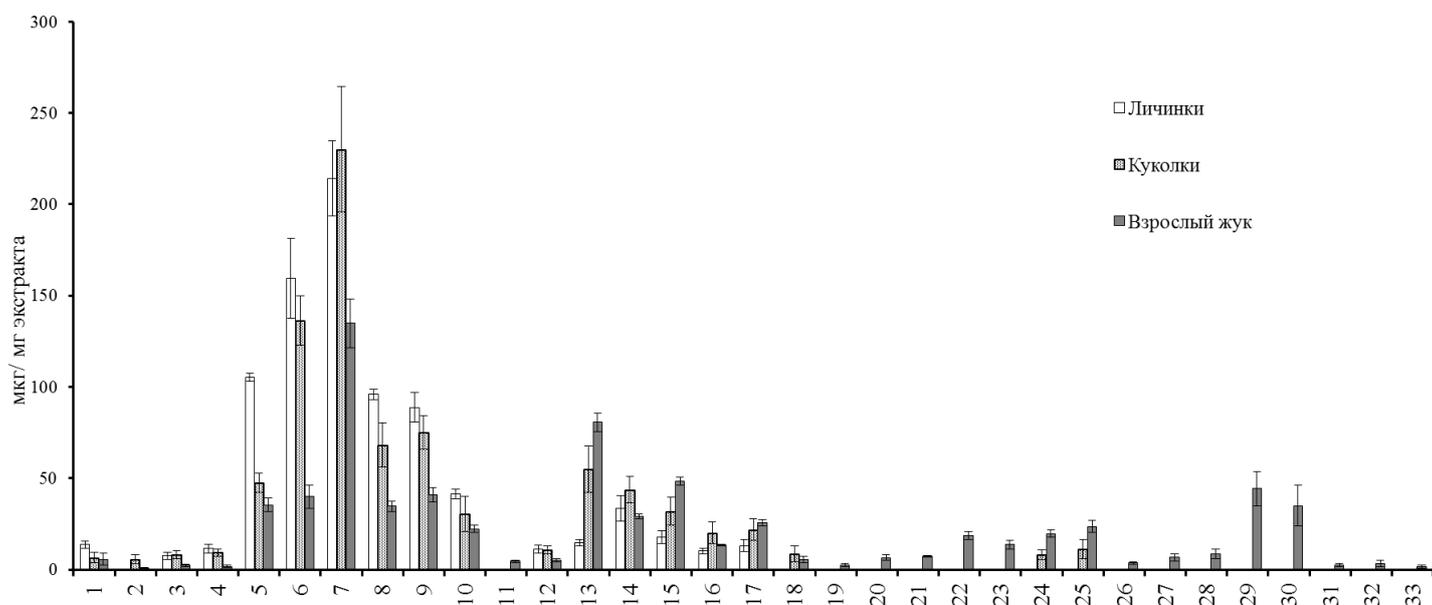


Рис. 5. Количественное содержание индивидуальных компонентов в эпикутикуле личинок IV возраста, куколках и имаго колорадского жука. Номера соединений соответствуют пикам на рис. 3.

Таблица 1. Идентифицированные углеводороды в эпикутикуле личинок IV возраста, куколках и имаго колорадского жука. По 5 биологических повторностей в каждой стадии. Номера соединений соответствуют пикам на рис. 3.

№	ЛИУ	M+	Характеристические ионы, <i>m/z</i>	Структура	Брутто	Содержание, мкг/мг экстракта		
						Личинки	Куколки	Имаго
1	2696	394	112/113, 308/309	2,6-диметилC26	C28	13.7±0.9	6.7±1.3	5.7±1.5
2	2726	394	196/197, 224/225	13-метилC27	C28	-	5.7±1.1	0.8±0.1
3	2797	408	112/113, 322/323	7-метилC28	C29	7.6±0.9	8.2±1.0	2.4±0.3
4	2830	408	154/155, 280/281	10-метилC28	C29	11.5±1.1	9.4±0.9	1.8±0.2
5	2860	408	365, 393 (M-15)	4- и/или 2-метилC28	C29	105.3±1.0	47.6±2.4	35.4±1.7
6	2894	422	168/169, 280/281	2,10- и/или 2,18-диметилC28	C30	159.5±9.7	136.4±6.0	40.0±2.8
7	2903	422	112/113, 336/337	2,6-диметилC28	C30	214.1±9.2	230.1±15.4	134.9±6.0
8	2922	436	168/169, 196/197, 266/267, 294/295	2,10,16-триметилC28	C31	95.9±1.3	68.3±5.4	34.7±1.2
	2924	436	168/169, 294/295	2,10,18-триметилC28	C31			
9	2931	422	168/169, 280/281	11-метилC29	C30	88.8±3.5	75.1±4.0	40.9±1.8
10	2958	436	168/169, 196/197, 266/267, 294/295	11,17-диметилC29*	C31	41.2±1.1	30.4±4.3	22.3±0.9
	2961	436	168/169, 294/295	11,19-диметилC29	C31			

11	2994	436	112/113, 350/351	2,23-диметилС29*	С31	-	-	4.5±0.3
12	3029	436	182/183, 280/281	12-метилС30	С31	11.1±1.0	10.9±1.0	5.1±0.3
13	3062	436	393, 421 (М-15)	4- и/или 2- метилС30	С31	14.8±0.7	55.0±5.6	80.6±2.2
14	3090	450	196/197, 280/281	2,12- и/или 2,18- диметилС30	С32	33.5±3.1	43.8±3.2	29.0±0.6
	3091	450	168/169, 308/309	2,10-диметилС30	С32			
15	3100	450	112/113, 364/365	2,6-диметилС30	С32	17.7±1.6	32.0±3.4	48.2±1.0
16	3114	464	196/197, 224/225, 266/267, 294/295	2,12,16- триметилС30	С33	10.2±0.7	20.0±2.6	13.3±0.1
	3118	464	168/169, 224/225, 266/267, 322/323	2,10,16- триметилС30	С33			
17	3128	450	196/197, 280/281	13-метилС31	С32	13.0±1.4	22.0±2.6	25.7±0.7
18	3159	464	168/169, 196/197, 294/295, 322/323	13,21-диметилС31	С33	-	8.6±1.9	5.6±0.8
19	3170	450	421 (М-29)	3-метилС31	С32	-	-	2.6±0.4
20	3226	464	182/183, 308/309	12-метилС32	С33	-	-	6.5±0.7
	3229	464	154/155, 336/337	10-метилС32	С33			
21	3259	464	421 (М-43)	4-метилС32	С33	-	-	7.4±0.2
22	3287	478	252/253	2,16-диметилС32	С34	-	-	18.8±1.0
	3293	478	168/169, 336/337	2,10-диметилС32	С34			
23	3320	492	168/169, 252/253, 266/267, 350/351	2,10,16- и/или 2,10,22- триметилС32	С35	-	-	13.8±1.1
24	3325	478	252/253	17-метилС33	С34	-	8.1±1.2	19.6±0.8
	3326	478	196/197, 308/309	13-метилС33	С34			
	3329	478	168/169, 336/337	11-метилС33	С34			
25	3355	492	168/169, 252/253, 266/267, 350/351	11,17-диметилС33	С35	-	11.4±2.3	23.6±1.5
	3358	492	168/169, 196/197, 322/323, 350/351	11,21-диметилС33	С35			
26	3424	492	252/253, 266/267	17-метилС34	С35	-	-	3.6±0.3

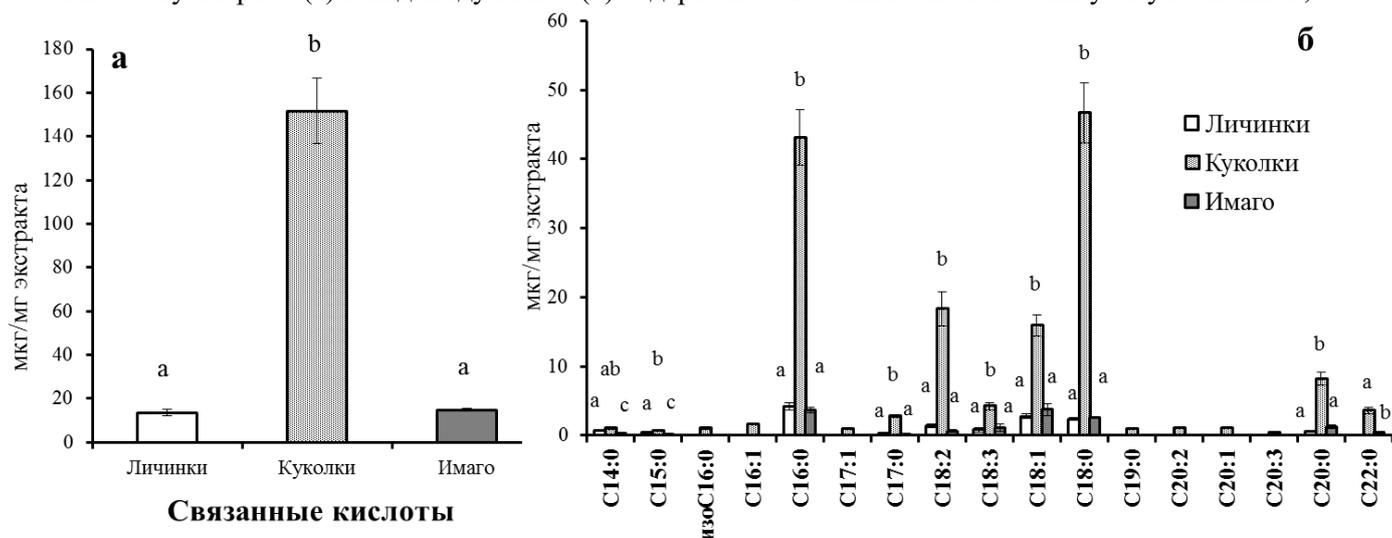
27	3451	506	182/183, 252/253, 280/281, 350/351	12,18-диметилС34	С36	-	-	6.6±0.9
	3456	506	154/155, 252/253, 280/281, 378/379	10,18-диметилС34	С36	-	-	
28	3486	506	252/253, 280/281	2,16-диметилС34	С36	-	-	8.6±1.2
	3491	506	168/169, 364/365	2,10-диметилС34	С36	-	-	
29	3519	520	168/169, 266/267, 280/281, 378/379	2,10,16- триметилС34	С37	-	-	44.3±4.2
			168/169, 252/253, 294/295, 378/379	2,10,18- триметилС34	С37	-	-	
	3524	506	252/253, 280/281	17-метилС35	С36	-	-	
30	3557	520	168/169, 196/197, 252/253, 294/295, 350/351, 378/379	11,19-, 11,23-, 13,19-, 13,23- диметилС35	С37	-	-	35.1±4.2
31	3651	520 (М-15)	182/183, 252/253, 308/309, 378/379	12,16- и/или 12,20- диметилС36	С38	-	-	2.5±0.4
	3654	520 (М-15)	154/155, 280/281, 406/407	10,18-диметилС36	С38	-	-	
32	3751	535 (М-15)	196/197, 224/225, 350/351, 378/379	13,23-диметилС37	С39	-	-	3.3±0.7
	3752	535 (М-15)	196/197, 378/379	13,25-диметилС37	С39	-	-	
33	3773	549 (М-15)	196/197, 266/267, 322/323, 392/393	13,17,25- триметилС37	С40	-	-	1.5±0.4
Сумма:						856.7±35.5	829.8±60.4	729±20.5

*предположительная структура

1.2.2 Жирные кислоты

В эпикутикуле колорадского жука идентифицированы свободные и связанные жирные кислоты. В эпикутикулярных липидах куколок содержание связанных кислот было более чем в 10 раз выше по сравнению с личинками и имаго ($p < 0.001$, Рис.6а), обусловленное преимущественно за счет мажорных насыщенных C16:0, C18:0, а также ненасыщенных C18:2 и C18:1 кислот (рис. 6б). Содержание свободных кислот в эпикутикуле повышалось в ряду личинки-куколки-имаго, общее содержание у куколок и имаго было значительно выше, чем у личинок (Рис.7а). При этом, у куколок повышение происходило за счет насыщенных C16:0, C18:0, а у имаго – за счет ненасыщенных C18:1 и C18:2 кислот (рис. 7б). Соотношение насыщенные:ненасыщенные свободные жирные кислоты значительно уменьшалось в процессе развития, составляя 3:1, 4:1 и 1:2 для личинок, куколок и имаго соответственно.

Рис. 6. Суммарное (а) и индивидуальное (б) содержание связанных кислот в эпикутикуле личинок,



куколок и имаго колорадского жука. По 5 биологических повторностей для личинок и имаго и 4 для куколок. Разные буквы указывают значимые отличия (Tukey, $p < 0.05$)

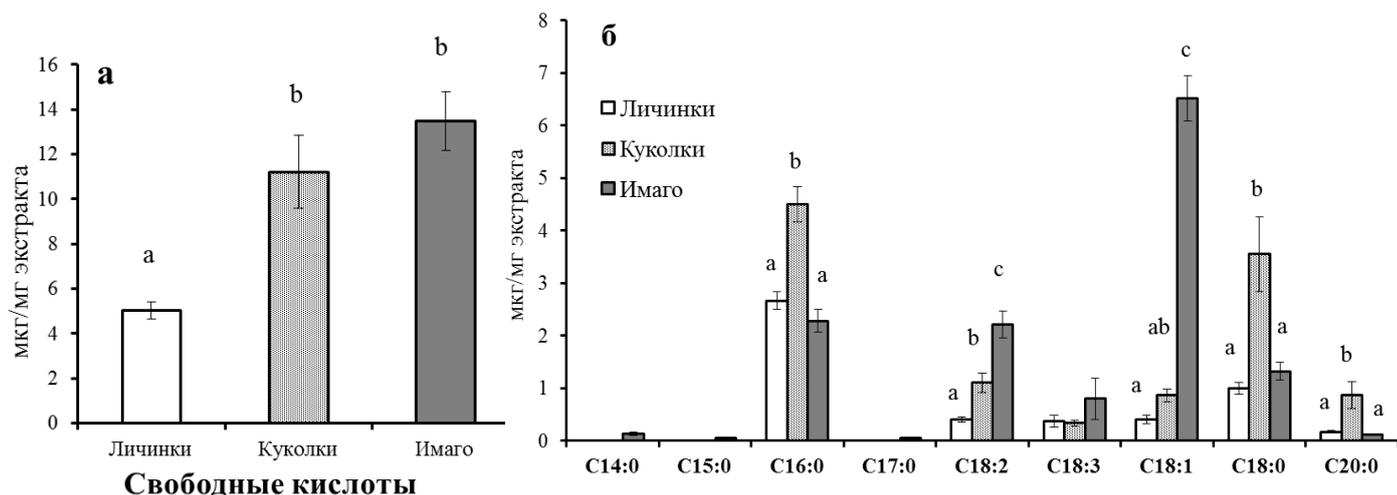


Рис. 7. Суммарное (а) и индивидуальное (б) содержание свободных кислот в эпикутикуле личинок, куколок и имаго колорадского жука. По 6 биологических повторностей для личинок и имаго и 4 для куколок. Разные буквы указывают значимые отличия (Tukey, $p < 0.05$)

Таким образом, выявлен ряд существенных изменений углеводородного и жирнокислотного состава эпикутикулы колорадского жука в процессе онтогенеза. Сдвиг углеводородного профиля в более тяжелую область на взрослой стадии, вероятно, связан с вовлечением эпикутикулярных углеводов в половых коммуникациях, а также с усложнением поведения и с большим многообразием сред жизни взрослого жука (растение, почва, миграции). Повышение содержания связанных кислот в эпикутикуле на стадии

куколки, по-видимому, служит механизмом запасания энергии в процессе метаморфоза [Dutra et al., 2007]. Подобные изменения в композициях исследуемых липидов в ряду личинки-куколки-имаго могут вносить вклад в устойчивость к грибным инфекциям. В частности, высокое содержание жирных кислот у куколок может быть токсичным для гриба и задерживать дифференциацию инфекционных структур [Wronska et al., 2018]. Снижение уровня алканов на стадии имаго может ингибировать прорастание грибов [Jarrold et al., 2007]. Помимо этого устойчивость имаго к патогену может объясняться резким сдвигом кислотного профиля в сторону преобладания ненасыщенных кислот, которые обладают более выраженными фунгистатическими и фунгицидными свойствами к грибам по сравнению с насыщенными [Pohl et al., 2011].

1.3 Изомерно-гомологические ряды углеводов имаго

Установлено, что эпикутикулярные углеводороды имаго колорадского жука образуют 8 изомерно-гомологических рядов моно-, ди- и триметилразветвленных алканов с длиной главной цепи C26-C37. Основная группа изомерно-гомологических рядов – терминально разветвленные углеводороды с разветвлением во 2-м положении, синтезируемые из валина (51 % кутикулярных липидов). В данной биохимической группе самое высокое содержание наблюдалось для диметилалканов. Второе биохимическое направление – синтез внутренне разветвленных алканов с праймером ацетил-СоА (18%). Изомерно-гомологические ряды углеводов, синтезируемых из пропионил-СоА, составляют 4%. В табл. 2 приведены биохимические пути синтеза основных групп метилразветвленных углеводов и их содержание.

Таблица 2. Содержание основных групп метилразветвленных углеводов в эпикутикуле колорадского жука и биохимические пути их синтеза (% от эпикутикулярных липидов, N=5, по 40 особей в каждом образце).

Терминально разветвленные (праймер – валин)			Внутренне разветвленные (праймер – ацетил-СоА)			Внутренне разветвленные (праймер – пропионил- СоА)	
Монометил (V1)	Диметил (V2)	Триметил (V3)	Монометил (A1)	Диметил (A2)	Триметил (A3)	Монометил (P1)	Диметил (P2)
11.6±0.2	28.5±1.0	10.6±0.5	9.0±0.2	9.0±0.7	0.1±0.03	2.7±0.1	0.9±0.1
50.7±1.3			17.8±0.7			3.6±0.2	

На рис. 8 в качестве примера даны изомерно-гомологические ряды основных биохимических семейств идентифицированных эпикутикулярных терминально и внутренне разветвленных ди- и триметилалканов колорадского жука. Как следует из полученных данных, у терминально разветвленных алканов между первой и второй метильными группами нечетное число атомов углерода, что соответствует праймеру валину. Между второй и третьей группами у терминально разветвленных алканов, а также у внутренне разветвленных структур всегда нечетное число атомов углерода. У всех групп углеводов после последнего метильного разветвления наблюдается четное число атомов углерода. Выявленные закономерности подтверждают правила приращения углеродной цепи метилразветвленных алканов насекомых.

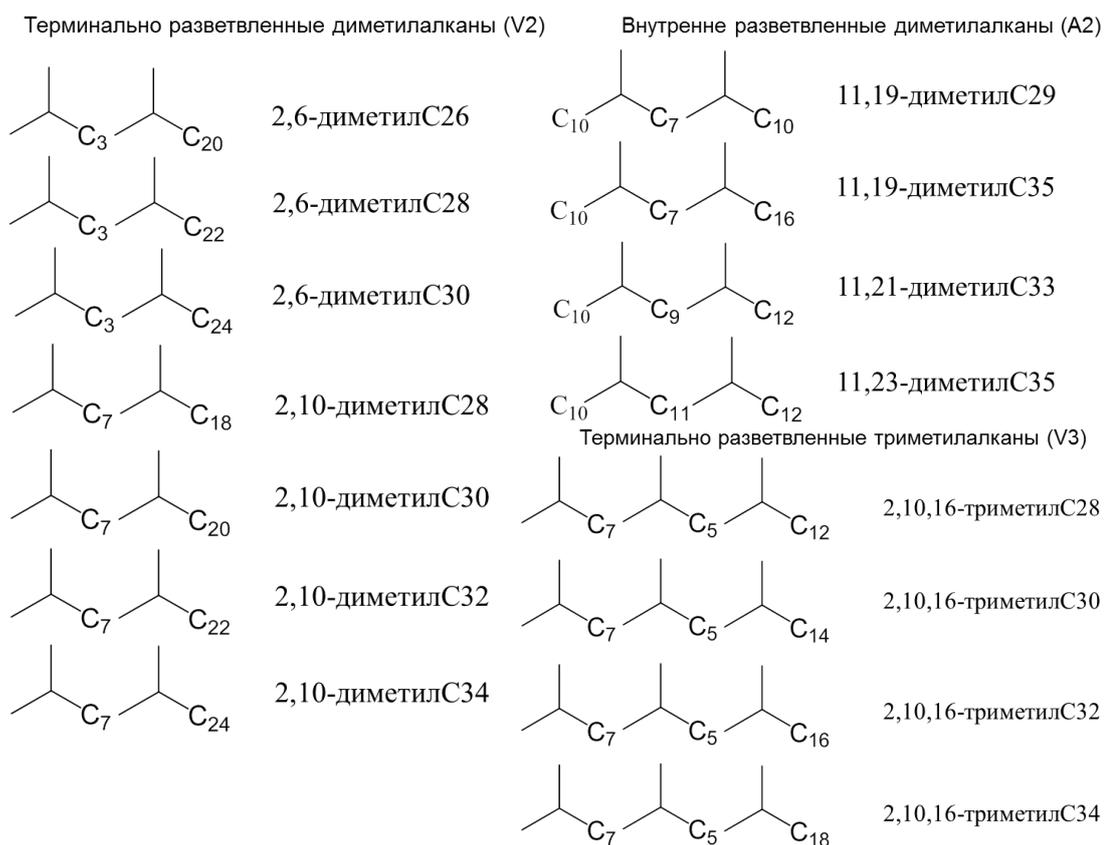


Рис. 8. Изомерно-гомологические ряды ди- и триметилалканов основных биохимических групп

2. Анализ трансформации состава липидов личинок колорадского жука при микозе

В данном разделе представлены результаты по исследованию изменений липидного состава целого тела личинок колорадского жука при развитии грибной инфекции, вызванной *Metarhizium robertsii*. Также показаны данные о липидном составе конидий гриба до и после колонизации и гибели насекомого. Помимо этого анализировались личинные шкурки личинок для понимания процесса утилизации липидов кутикулы колорадского жука грибом независимо от изменений метаболизма живых насекомых, возникающих при микозах.

2.1 Липиды целого тела насекомых

В липидах целого тела личинок колорадского жука были обнаружены предельные метилразветвленные углеводороды состава C28-C32, свободные (C12-C20) и связанные (C14-C20) карбоновые кислоты. Суммарное содержание углеводородов уменьшалось в 16 раз при микозе ($p < 0.001$, рис.9). Общее содержание связанных карбоновых кислот не изменялось значительно при микозе (рис.7), но среди главных соединений уровни кислот C18:2 и C18:1 увеличивались ($p = 0.03$), уровень кислоты C18:3 снижался ($p < 0.001$), а содержание C16:0 и C18:0 не изменялось ($p > 0.06$). Общее содержание свободных кислот у личинок уменьшалось в 3.0 раз при инфекции ($p < 0.001$, рис.9), при этом тренд к уменьшению наблюдался для всех мажорных кислот (C16:0, C18:2, C18:1, C18:3, C18:0), но наибольшее снижение было у кислоты C18:3 (в 11.9 раз, $p = 0.001$).

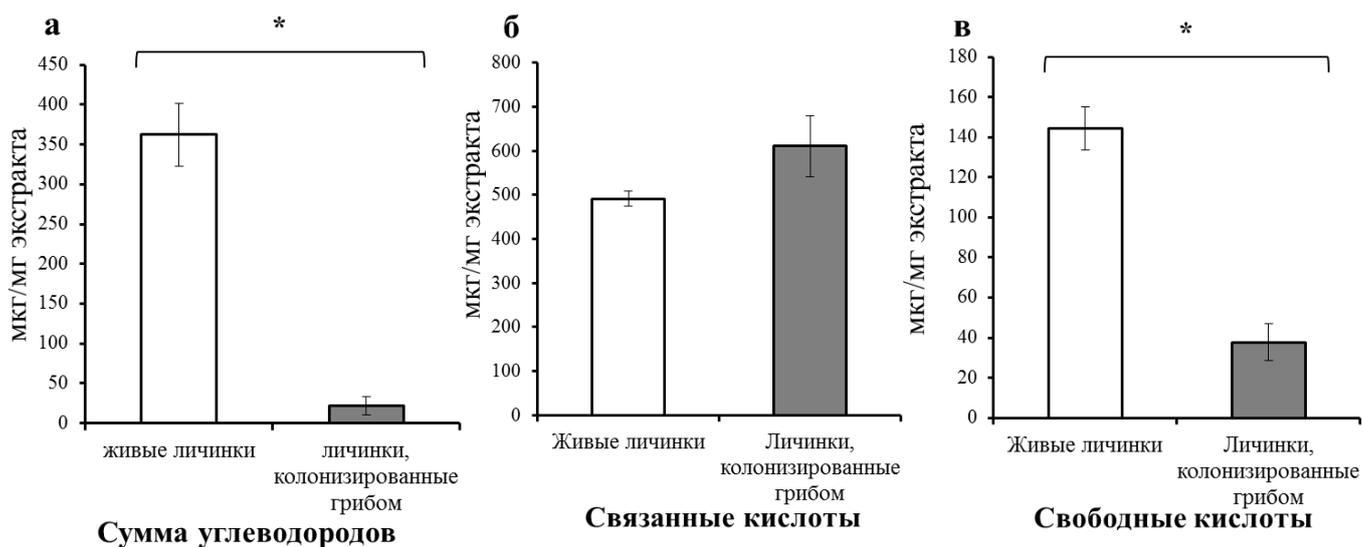
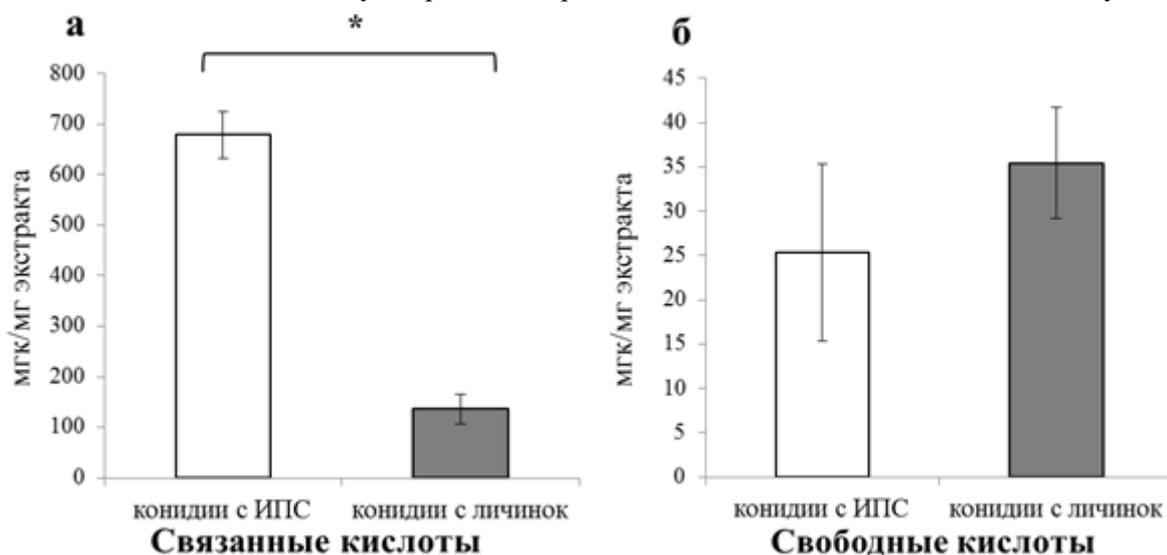


Рис. 9. Изменение суммарного содержания липидов в гомогенатах целого тела личинок колорадского жука до и после колонизации грибом *M. robertsii*: углеводороды (а), связанные кислоты (б), свободные кислоты (в). * указывают значимые отличия, Student test, Mann-Whitney test, $P < 0.05$

2.2 Липиды конидий гриба *M. robertsii*

Главными соединениями экстрактов конидий *M. robertsii* были кислоты C12-C24, из которых мажорными были C16:0, C18:0, C18:1, C18:2 в свободной и связанной формах. Углеводороды не были детектированы в конидиях. Суммарное содержание связанных кислот в конидиях, полученных на личинках жука, уменьшалось в 5.0 раз по сравнению с конидиями, полученными на ИПС, при этом уменьшение выявлено для всех мажорных кислот (Рис.10). С другой стороны общее содержание свободных кислот значительно не менялось (Рис. 10). Уровень C18:2 повышался после инфицирования, но различия были не существенными.

Рис. 10. Изменение суммарного содержания кислот в конидиях *M. robertsii*, полученных на



ИПС и образующихся на личинках колорадского жука. * указывают значимые отличия – Student test, Mann-Whitney test, $P < 0.05$

2.3 Липиды личинных шкурок личинок

В липидах личинных шкурок личинок колорадского жука IV-го возраста идентифицированы предельные моно-, ди- и триметилразветвленные углеводороды состава C28-C33. В обработанных грибом образцах общее содержание углеводородов уменьшалось в 2.5 раза по сравнению с контролем ($p=0.03$, рис. 11). Для всех идентифицированных соединений наблюдались значимые отличия, кроме 7-метилоктакозана ($p=0.08$) (Рис. 12). Но наибольшие изменения были зафиксированы для 2,10- и/или 2,18-диметилоктакозана (уменьшение в 6.0 раз) и 2,12- и/или 2,18-диметилтриаконтана (уменьшение в 4.9 раз).

Общее содержание связанных кислот в эпикутикуле существенно не изменялось при микозе ($p=0.5$, рис. 8), основными связанными кислотами были C16:0, C18:2, C18:1, C18:0. Сумма свободных кислот в эпикутикуле увеличивалась в 2.1 раз при микозе, но изменения были несущественными ($p=0.08$, рис. 11). Тенденция к увеличению наблюдалась для всех мажорных кислот (C16:0, C18:1, C18:0).

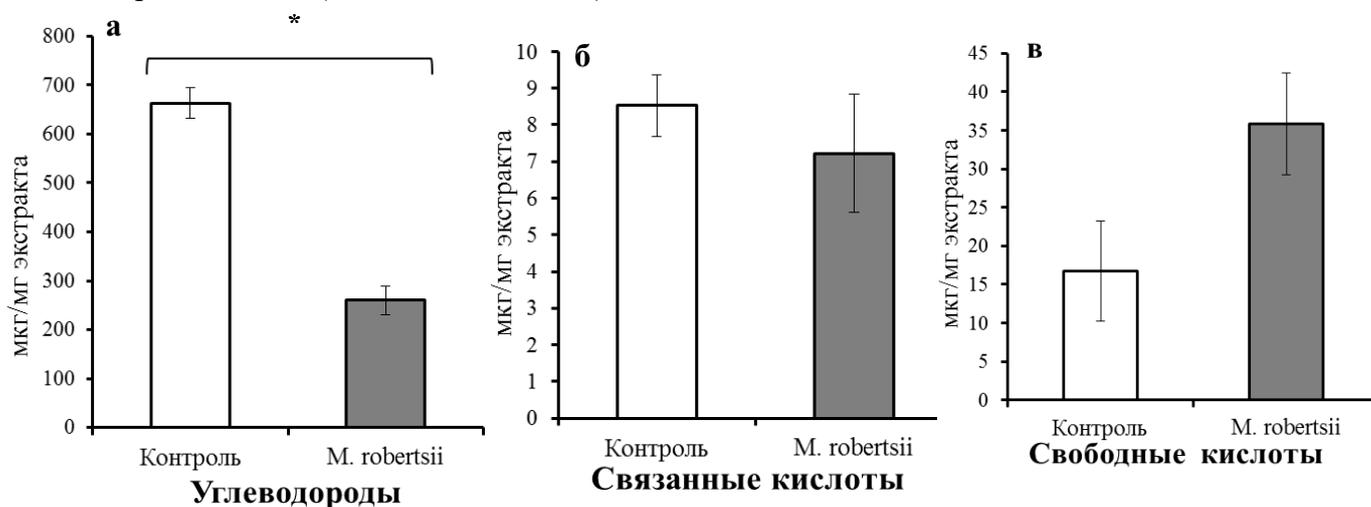


Рис. 11. Изменение суммарного содержания липидов в экстрактах личиночных шкурок личинок колорадского жука до и после заражением грибом *M. robertsii*: углеводороды (а), связанные жирные кислоты (б), свободные жирные кислоты (в). * указывают значимые отличия, Mann-Whitney test, $P < 0.05$

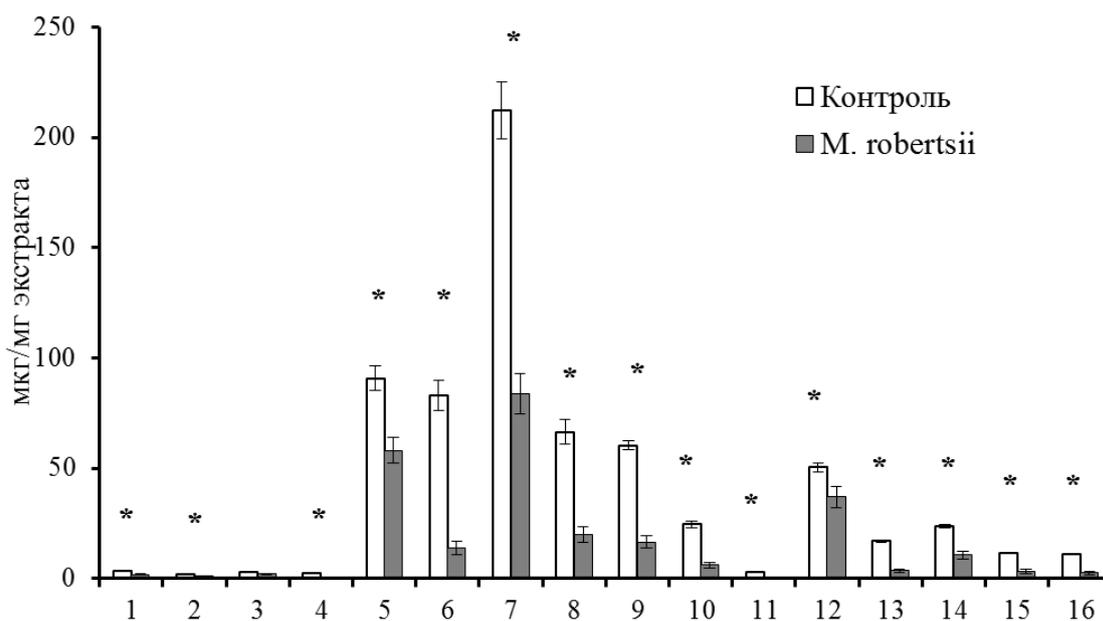


Рис. 12. Содержание индивидуальных углеводов в экстрактах личиночных шкурок личинок колорадского жука до и после заражением грибом *M. robertsii*. * указывают значимые отличия, Student test, Mann-Whitney test, $P < 0.05$; **1** – 2,6-диметилC26, **2** – 13-метилC27, **3** – 7-метилC28, **4** – 10-метилC28, **5** – 4- и/или 2-метилC28, **6** – 2,10- и/или 2,18-диметилC28, **7** – 2,6-диметилC28, **8** – 2,10,16-, 2,10,18-триметилC28, **9** – 11-метилC29, **10** – 11,19- + 11,17-диметилC29, **11** – 12-метилC30, **12** – 4- и/или 2-метилC30, **13** – 2,12- и/или 2,18-диметилC30, **14** – 2,6-диметилC30, **15** – 11,17-диметилC31, **16** – 13-метилC31

Таким образом, впервые показано, что *M. robertsii* утилизирует метилразветвленные алканы личинок колорадского жука при развитии грибной инфекции. Показано уменьшение уровня свободных кислот в экстрактах целого тела личинок при микозе. В целом, полученные данные могут свидетельствовать о преобразовании грибом углеводов колорадского жука в свободные жирные кислоты.

3. Сравнительный анализ эпикутикулярных липидов стадных саранчовых с разными гигротермическими предпочтениями

В данном разделе на примере стадных саранчовых из разных гигротермических стадий показано, как связаны эпикутикулярный липидный состав у насекомых из разных мест обитания с восприимчивостью к патогенным грибам. В качестве объектов выступали личинки саранчовых с разными гигротермическими предпочтениями: азиатская саранча *L. migratoria* – мезоксерофил и итальянский прус, населяющий широкий диапазон стадий и предпочитающий ксерофитные ценозы [Sergeev, 2021]. Наша гипотеза состояла в том, что кутикула насекомых из аридных стадий обладает особой липидной композицией, которая предотвращает обезвоживание, но в то же время делает их более восприимчивыми к патогенам. Нами установлено, что *C. italicus* более восприимчив к грибным патогенам *Metarhizium* и *Beauveria*, по сравнению с *L. migratoria* [Ganina et al., 2022].

3.1 Углеводороды

Методом ГХ/МС установлено, что основными компонентами эпикутикулярного слоя личинок саранчовых являются предельные нормальные, моно-, ди- и триметилразветвленные углеводороды состава C25-C39. Хроматограммы углеводородного профиля эпикутикулы *C. italicus* и *L. migratoria* представлены на рис. 13. Суммарное содержание углеводородов существенно не отличалось между исследуемыми видами, однако углеводородные композиции *L. migratoria* и *C. italicus* были разными.

Углеводородный профиль *C. italicus* был значительно сдвинут в более тяжелую область по сравнению с *L. migratoria* в расчете на вес экстракта (рис. 14а). Так, в относительно легкой области (C25-C29) отличий в содержании не наблюдалось. В средней области (C30-C34) содержание углеводородов у итальянского пруса было 5.9-кратно ниже, чем у *L. migratoria* ($P < 0.0001$). Содержание тяжелых углеводородов (C35-C39) у пруса было 1.9-кратно выше, чем у азиатской саранчи ($P < 0.001$). Кроме того, у итальянского пруса были обнаружены в следовых количествах углеводороды состава C40, C41, которые отсутствовали у *L. migratoria* (табл. 3, 4).

Профили обоих видов отличались по степени разветвленности углеводородной цепи (рис. 14б). Качественно, итальянский прус характеризовался более узким спектром моноалканов, но более широким спектром ди- и триметилалканов (рис. 14в). Количественно, содержание *n*-алканов было выше у итальянского пруса в 1.2 раза но лишь на незначительном уровне ($P=0.18$). Содержание моноалканов у *C. italicus* было 7.2-кратно ниже, чем у азиатской саранчи ($P < 0.0001$). У итальянского пруса обнаружено в 1.6 раз повешенное содержание диметилразветвленных углеводородов ($P=0.002$), по сравнению с миграционной саранчой. Основными диметилалканами у обоих видов были алканы с главной цепью C35, причем у итальянского пруса содержание было в 1.8 раз выше ($P < 0.001$). Кроме того, у пруса обнаружены в небольшом количестве триметилалканы, отсутствующие в азиатской саранче (табл. 3, 4). Аналогичные результаты получены при оценке количества углеводородов в пересчете на массу насекомых.

3.2 Жирные кислоты

Спектр свободных и связанных кислот итальянского пруса был гораздо уже, чем у азиатской саранчи. Так, в эпикутикуле азиатской саранчи идентифицированы кислоты состава C14-C34. Самыми интенсивными были кислоты C16:0, C18:3, C28:0 и C30:0. У итальянского пруса были идентифицированы только кислоты C16-C20, причем самой интенсивной была кислота C16:0 (рис.15). Суммарное содержание кислот у пруса составляло 14.1 ± 1.7 мкг / мг экстракта, а у азиатской саранчи 21.1 ± 2.49 мкг / мг экстракта ($P=0.041$).

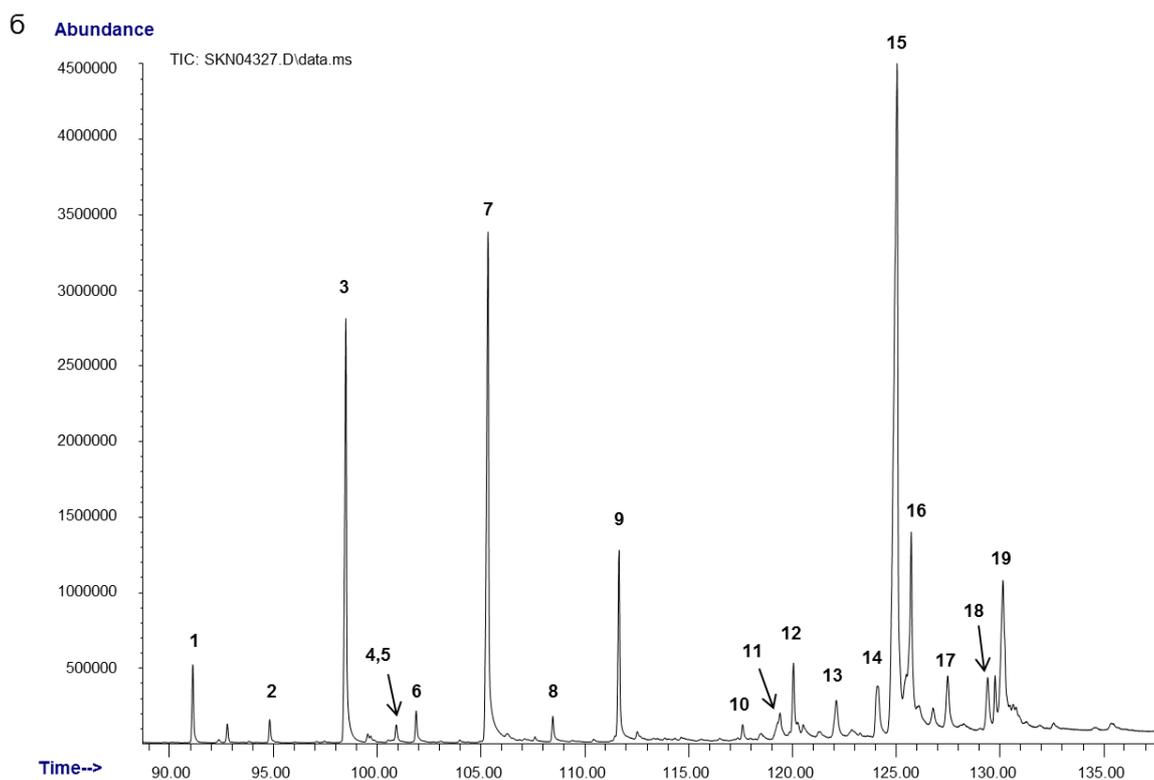
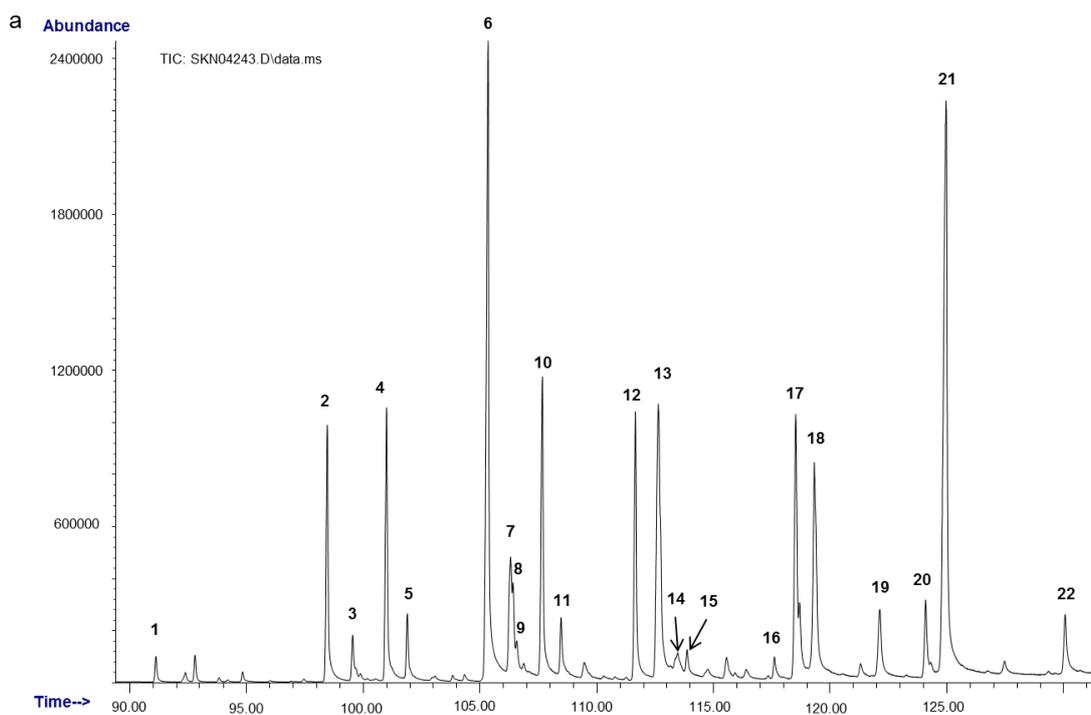


Рис. 13. Хроматограмма по полному ионному току углеводородного профиля *L. migratoria* (а): **1** – *n*-C25, **2** – *n*-C27, **3** – 13- и 11-метилC27, **4** – 3-метилC27, **5** – *n*-C28, **6** – *n*-C29, **7** – 13- и 11-метилC29, **8** – 9-метилC29, **9** – 7-метилC29, **10** – 3-метилC29, **11** – *n*-C30, **12** – *n*-C31, **13** – 13-, 11- и 9-метилC31, **14** – 11,19- и 13,19-диметилC31, **15** – 3-метилC31, **16** – *n*-C33, **17** – 13- и 11-метилC33, **18** – 13,21- и 11,23-диметилC33, **19** – 12,22-диметилC34, **20** – 13- и 15-метилC35, **21** – 13,21- и 13,23-диметилC35, **22** – 13,23-диметилC37; и *C. italicus* (б): **1** – *n*-C25, **2** – *n*-C26, **3** – *n*-C27, **4** – 7,15-диметилC27, **5** – 3-метилC27, **6** – *n*-C28, **7** – *n*-C29, **8** – *n*-C30, **9** – *n*-C31, **10** – *n*-C33, **11** – 13,19-, 11,19- и 9,19-диметилC33, **12** – 9,13,19-триметилC33, **13** – 11,15-диметилC34, **14** – 17-, 15-, 13- и 11-метилC35, **15** – 13,19-, 11,19-, 11,25- и 11,21-диметилC35, **16** – 9,13,19-триметилC35 и 7,17,21-триметилC35, **17** – 12,20- и 11,19-диметилC36, **18** – 17-, 13- и 11-метилC37, **19** – 13,25- и 11,21-диметилC37

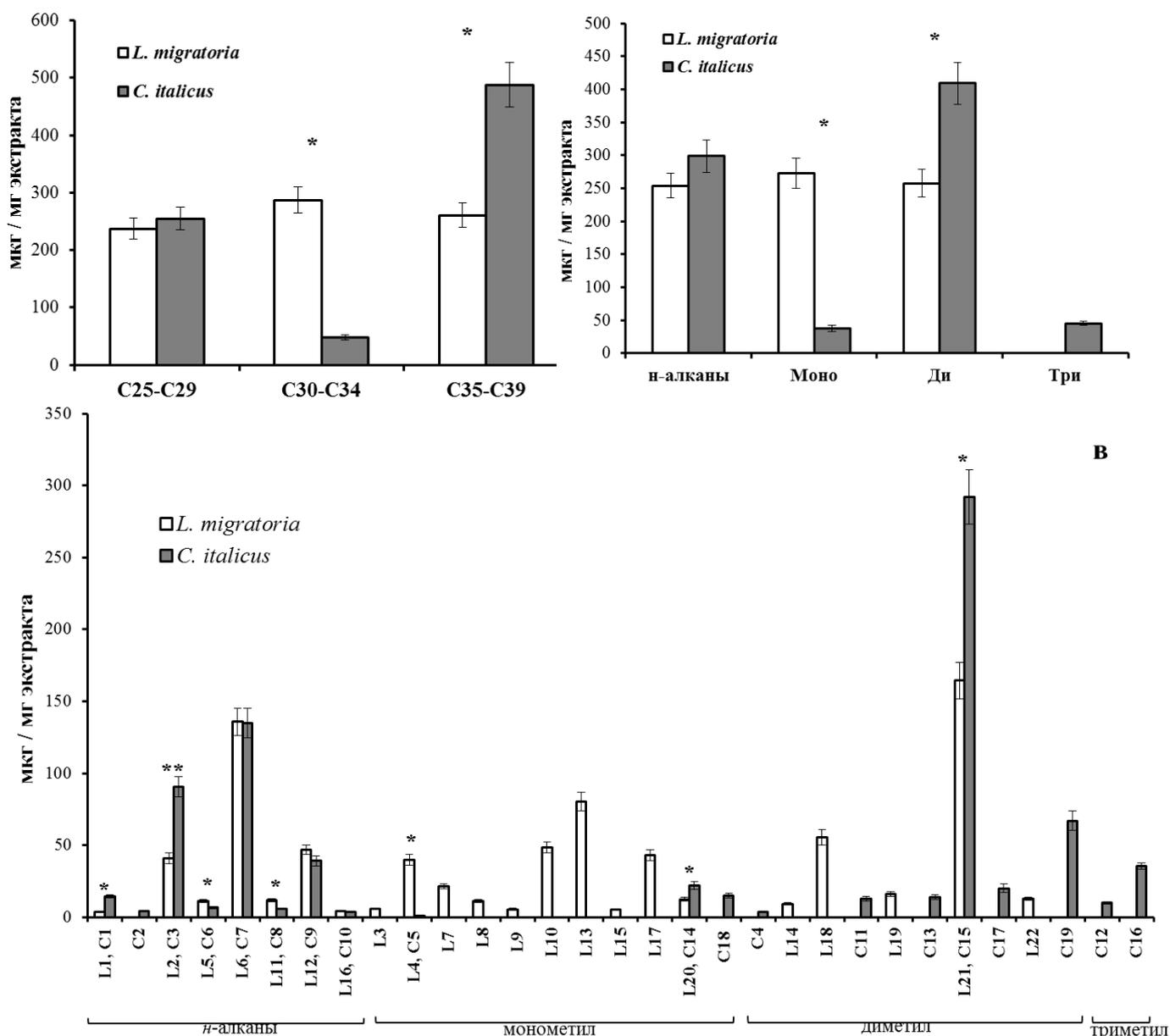


Рис. 14. Состав углеводов в эпикутикуле личинок *C. italicus* и *L. migratoria*: распределение по молекулярной массе (а), количеству метильных групп (б) и индивидуальное содержание углеводов (в). Номера соединений соответствуют пикам на рис. 13, L – для *L. migratoria*, C – для *C. italicus*. *Значимые отличия между видами (*t* test, Mann–Whitney *U* test, $P < 0.05$)

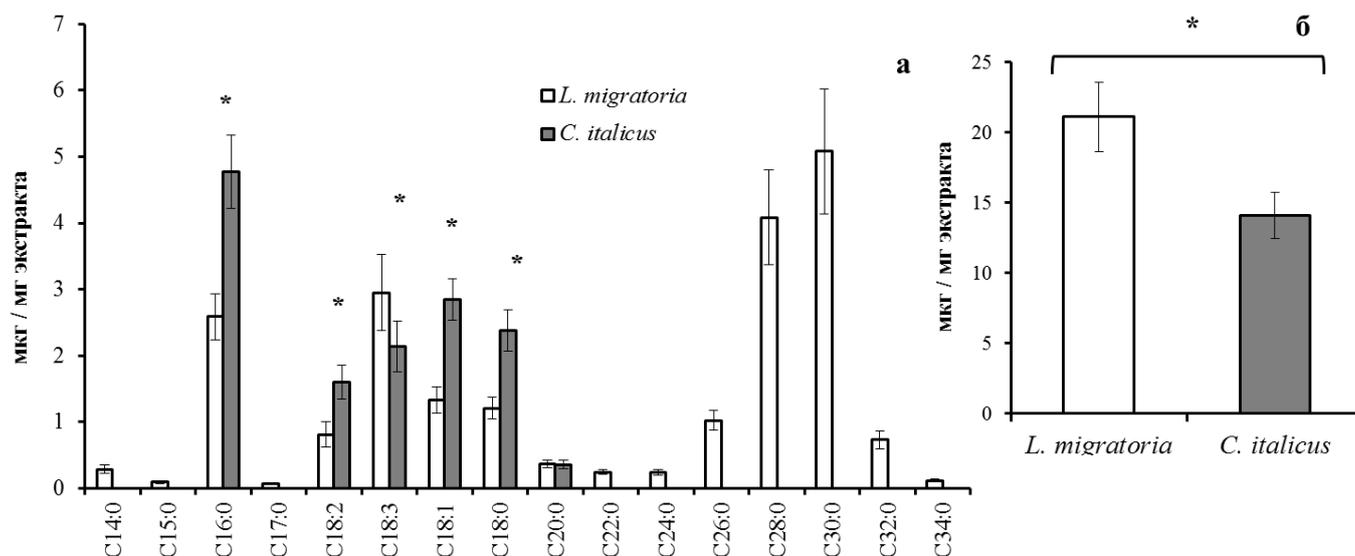


Рис. 15. Количественное содержание идентифицированных кислот (а) и сумма кислот (б) в эпикутикуле личинок *C. italicus* и *L. migratoria*. * указывает значительные различия между видами (t-test, $p < 0.05$)

Таблица 3. Идентифицированные углеводороды в эпикутикуле *L. migratoria*

№	ЛИУ	Характеристические ионы, m/z	M^+ , m/z	Брутто	Структура	мкг / г насекомого	мкг / мг экстракта
1	2500	-	352	C25	<i>n</i> -C25	2.05±0.24	3.4±0.4
	2527	196/197	351 (M-15)	C26	13-метилC25	tr	
	2566	336/337	351 (M-15)	C26	3-метилC25	tr	
	2576	84/85, 196/197, 210/211, 322/323	365 (M-15)	C27	5,13-диметилC25	tr	
	2600	-	366	C26	<i>n</i> -C26	tr	
	2626	196/197, 210/211	365 (M-15)	C27	13-метилC26	tr	
	2651	70/71, 336/337	365 (M-15)	C27	4-метилC26	tr	
	2667	350/351	365 (M-15)	C27	3-метилC26	tr	
2	2700	-	380	C27	<i>n</i> -C27	24.9±2.5	40.9±3.8
3	2726	196/197, 224/225	394, 379 (M-15)	C28	13-метилC27	3.56±0.38	5.8±0.6
	2727	168/169, 252/253	394, 379 (M-15)	C28	11-метилC27	tr	
	2730	140/141, 280/281	394, 379 (M-15)	C28	9-метилC27	tr	
	2736	112/113, 308/309	394, 379 (M-15)	C28	7-метилC27	tr	
	2744	84/85, 336/337	394, 379 (M-15)	C28	5-метилC27	tr	
	2756	168/169, 196/197, 238/239, 266/267	393 (M-15)	C29	11,15-диметилC27*	tr	
4	2769	364/365	394	C28	3-метилC27	24.3±2.4	40.0±3.8
5	2800	-	394	C28	<i>n</i> -C28	6.82±0.68	11.2±1.1
	2853	70/71, 364/365	393 (M-15)	C29	4-метилC28	tr	
	2869	378/379	393 (M-15)	C29	3-метилC28	tr	
6	2900	-	408	C29	<i>n</i> -C29	82.6±6.4	135.8±9.5
7	2928	196/197, 252/253	422	C30	13-метилC29	12.9±1.0	21.3±1.5
	2930	168/169, 280/281	422	C30	11-methylC29	tr	
8	2933	140/141, 308/309	422	C30	9-метилC29	6.82±0.73	11.2±1.1
9	2938	112/113, 336/337	422	C30	7-метилC29	3.33±0.40	5.5±0.6
	2947	84/85, 364/365	407 (M-15)	C30	5-метилC29	tr	
10	2975	392/393	422	C30	3-метилC29	29.3±2.4	48.3±3.8

11	3000	-	422	C30	<i>n</i> -C30	7.08±0.56	11.6±0.9
	3028	182/183, 280/281; 196/197, 266/267	422(M-15)	C31	13- и 12-метилС30		tr
	3030	168/169, 294/295	422(M-15)	C31	11-метилС30		tr
	3031	154/155, 308/309	422(M-15)	C31	10-метилС30		tr
	3033	140/141, 322/323	422(M-15)	C31	9-метилС30		tr
	3056	70/71, 392/393	421(M-15)	C31	4-метилС30		tr
	3072	406/407	407(M-29)	C31	3-метилС30		tr
12	3100	-	436	C31	<i>n</i> -C31	28.5±2.1	46.8±3.2
	3131	196/197, 280/281	450	C32	13-метилС31		
13	3133	168/169, 308/309	450	C32	11-метилС31	48.8±4.3	80.2±6.6
	3135	140/141, 336/337	450	C32	9-метилС31		
	3160	196/197, 294/295	450 (M-15)	C33	13,19-диметилС31*	5.58±0.58	9.2±0.9
	3160	168/169, 196/197, 294/295, 322/323	450 (M-15)	C33	11,19-диметилС31		
15	3173	420/421	450	C32	3-метилС31	3.21±0.42	5.3±0.7
	3200	-	450	C32	<i>n</i> -C32		tr
	3229	210/211, 280/281	449(M-15)	C33	14-метилС32		tr
	3229	182/183, 308/309 196/197, 294/295	449(M-15)	C33	12- и 13-метилС32		tr
	3230	168/169, 322/323	449(M-15)	C33	11-метилС32		tr
	3258	182/183, 196/197, 308/309, 322/323	463 (M-15)	C34	12,20-диметилС32		tr
16	3300	-	464	C33	<i>n</i> -C33	2.61±0.29	4.3±0.5
	3331	196/197,308/309	478	C34	13-метилС33	26.1±2.3	43.1±3.8
17	3332	168/169, 336/337	478	C34	11-метилС33		
	3359	196/197, 322/323	492	C35	13,21-диметилС33	33.7±3.4	55.3±5.4
18	3361	168/169, 350/351	492	C35	11,23-диметилС33*		
	3429	196/197, 322/323, 210/211, 308/309, 182/182, 336/337	477(M-15)	C35	12-, 13- и 14-метилС34		tr
19	3459	182/193, 196/197, 336/337, 350/351	491 (M-15)	C36	12,22-диметилС34*	9.70±0.87	16.0±1.4
20	3530	196/197, 336/337; 224/225, 308/309	505	C36	13- и 15-метилС35	7.59±0.69	12.5±1.1
	3560	196/197, 224/225, 322/323, 350/351	520	C37	13,21-диметилС35	99.9±8.1	164.3±12.4
21	3563	196/197, 350/351	520	C37	13,23-диметилС35		
	3656	196/197, 211/210, 350/351, 364/365; 182/183, 224/225, 336/337, 350/351	519 (M-15)	C38	13,23- и 12,22*-диметилС36		tr
22	3756	196/197, 224/225, 350/351, 378/379	533 (M-15)	C39	13,23-диметилС37	7.72±0.70	12.7±1.1

* предположительная структура, tr – в следовых количествах

Таблица 4. Идентифицированные углеводороды в эпикутикуле *C. italicus*

№	ЛИУ	Характеристические ионы, <i>m/z</i>	<i>M+</i> , <i>m/z</i>	Брутто	Структура	мкг/ г насекомого	мкг / мг экстракта
1	2500	-	352	C25	<i>n</i> -C25	8.85±0.75	14.4±1.3
	2527	196/197	351(M-15)	C26	13-метилC25	tr	
	2566	336/337	366	C26	3-метилC25	tr	
2	2600	-	366	C26	<i>n</i> -C26	2.43±0.26	4.0±0.5
	2656	336/337	380	C27	4-метилC26	tr	
	2667	350/351	380	C27	3-метилC26	tr	
3	2700	-	380	C27	<i>n</i> -C27	55.5±3.5	90.5±6.9
	2726	196/197, 224/225; 168/169, 252/253	379(M-15)	C28	13- и 11-метилC27	tr	
	2731	140/141, 280/281	379(M-15)	C28	9-метилC27	tr	
	2736	112/113, 308/309	379(M-15)	C28	7-метилC27	tr	
	2755	168/169,196/197, 238/239, 266/267	393(M-15)	C29	11,15-диметилC27*	tr	
4	2767	112/113, 196/197, 238/239, 322/323	393 (M-15)	C29	7,15-диметилC27*	2.22±0.21	3.7±0.4
5	2767	364/365	394	C28	3-метилC27	0.55±0.07	0.9±0.1
6	2800	-	394	C28	<i>n</i> -C28	4.03±0.42	6.6±0.8
	2858	364/365	408	C29	4-метилC28	tr	
7	2900	-	408	C29	<i>n</i> -C29	82.7±5.4	134.9±10.2
	2927	197/196, 252/253, 224/225	407(M-15)	C30	13- и 15-метилC29	tr	
	2928	168/169, 280/281	407(M-15)	C30	11-метилC29	tr	
	2970	392/393	407(M-15)	C30	3-метилC29	tr	
8	3000	-	422	C30	<i>n</i> -C30	3.45±0.33	5.6±0.6
	3060	392/393	421(M-15)	C31	4-метилC30	tr	
9	3100	-	436	C31	<i>n</i> -C31	23.9±1.8	39.1±3.6
	3128	168/169, 196/197, 280/281, 308/309	435(M-15)	C32	13- и 11-метилC31	tr	
	3134	140/141, 336/337	435(M-15)	C32	9-метилC31	tr	
10	3300	-	464	C33	<i>n</i> -C33	2.08±0.31	3.4±0.6
	3327	196/197, 224/225, 280/281, 308/309	463(M-15)	C34	15- и 13-метилC33	tr	
	3331	168/169, 336/337	463(M-15)	C34	11-метилC33	tr	
	3354	196/197, 224/225, 294/295, 322/323	477 (M-15)	C35	13,19-диметилC33	tr	
11	3358	168/169, 224/225, 294/295, 350/351	477 (M-15)	C35	11,19-диметилC33	7.88±0.87	12.9±1.5
	3362	140/141, 224/225, 294/295, 378/379	477 (M-15)	C35	9,19-диметилC33	tr	
12	3384	140/141, 210/211, 224/225, 308/309, 322/323, 392/393	506	C36	9,13,19*-триметилC33	6.03±0.50	9.8±0.9
	3402	84/85, 224/225, 238/239, 294/295, 308/309, 448/449	506	C36	5,15,19-триметилC33*	tr	
	3406	84/85, 182/183, 196/197, 336/337, 350/351, 448/449	506	C36	5,11,21-триметилC33*	tr	

	3432	224/225, 238/239, 280/281, 294/295	492	C35	15- и 16- метилС34	tr	
	3435	182/183, 196/197, 322/323, 336/337	492	C35	12- и 13- метилС34	tr	
	3437	168/169, 350/351	492	C35	11-метилС34	tr	
13	3458	168/169, 238/239, 294/295, 364/365	491 (M-15)	C36	11,15- диметилС34*	8.48±0.77	13.9±1.4
14	3528	252/253, 280/281	506	C36	17-метилС35	13.4±1.5	21.9±2.8
	3529	224/225, 308/309	506	C36	15-метилС35		
	3530	196/197, 336/337	506	C36	13-метилС35		
	3532	168/169, 364/365	506	C36	11-метилС35		
15	3558	196/197, 252/253, 294/295, 350/351	520	C37	13,19-диметилС35	179.0±9.4	292.0±19.1
	3561	168/169, 252/253, 294/295, 378/379	520	C37	11,19-диметилС35		
	3564	168/169, 378/379	520	C37	11,25-диметилС35*		
	3566	168/169, 224/225, 322/323, 378/379	520	C37	11,21- диметилС35*		
	3582	168/169, 196/197, 238/239, 322/323, 364/365, 392/393	520 (M-15)	C38	11,15,23- триметилС35	tr	
16	3587	140/141, 210/211, 252/253, 308/309, 350/351, 420/421	535	C38	9,13,19- триметилС35*	21.7±1.0	35.3±2.2
	3590	112/113, 224/225, 266/267, 294/295, 336/337, 448/449	535	C38	7,17,21- триметилС35*		
3605		84/85, 210/211, 224/225, 350/351, 336/337, 476/477	535	C38	5,13,21- триметилС35*	tr	
		84/85, 182/183, 224/225, 336/337, 378/379, 476/477	535	C38	5,11,21- триметилС35*	tr	
		84/85, 154/155, 224/225, 336/337, 406/407, 476/477	535	C38	5,9,21- триметилС35*	tr	
	3630	182/183, 196/197, 224/225, 322/323, 350/351, 364/365	520	C37	12-,13- и 15- метилС36*	tr	
17	3656	168/169, 182/183, 252/253, 266/267, 294/295, 308/309, 378/379, 392/393	534	C38	12,20- и 11,19- диметилС36	12.1±1.5	19.9±2.9
18	3727	252/253, 308/309	536	C38	17-метилС37	9.08±0.99	14.8±1.8
	3731	196/197, 364/365			13-метилС37		
	3733	168/169, 392/393			11-метилС37		
19	3757	196/197, 378/379	548	C39	13,25-диметилС37	40.9±3.5	66.9±6.8
	3760	168/169, 252/253, 322/323, 406/407	548	C39	11,21- диметилС37*		
	3779	168/169, 238/239, 252/253, 336/337, 350/351, 420/421	549 (M-15)	C40	11,15,21- триметилС37*	tr	

	3854	182/183, 252/253, 280/281, 308/309, 336/337, 406/407	549 (M-15)	C40	12,20*- и 12,22*- диметилС38	tr
	3950	168/169, 434/435	548 (M-29)	C41	11,29- диметилС39*	tr
	3953	168/169, 196/197, 406/407, 434/435	549 (M-29)	C41	11,27- диметилС39*	tr
	3955	140/141, 462/463	549 (M-29)	C41	9,31-диметилС39*	tr

* предположительная структура, tr – в следовых количествах

3.3 Адгезия и смертность

Личинки *L. migratoria* были более устойчивы к грибам *M. robertsii*, чем *C. italicus*. Полулетальное время (LT₅₀) после обработки конидиями составило 12 ± 0.06 д у *L. migratoria* и 9 ± 0.06 д у *C. italicus* (P < 0.0001, Рис. 16а). Различия в смертности между необработанными контрольными насекомыми были незначительными: 3% у *C. italicus* и 10% у *L. migratoria*.

Количество адгезировавшихся конидий *M. robertsii* к кутикуле личинок *C. italicus* было в 3.3 раза выше, чем к кутикуле *L. migratoria* (рис.16б). Оба экстракта *C. italicus* и *L. migratoria* стимулировали прорастание конидий на агарозе (7.5-8-кратно по сравнению с обработкой чистыми растворителями, P < 0.006, Рис. 16в), однако уровни прорастания отличались незначительно (P = 0.73).

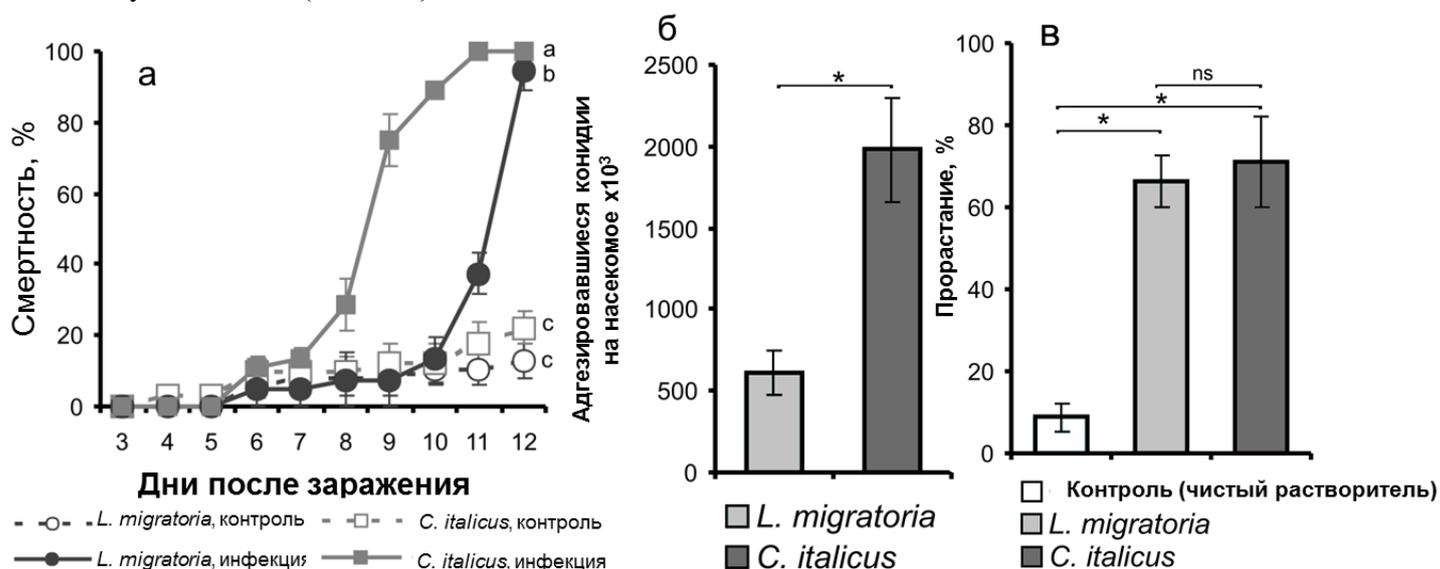


Рис. 16. Динамика смертности личинок *L. migratoria* и *C. italicus*, зараженных *M. robertsii* (а), разные буквы указывают значимые различия в динамике смертности (log-rank test: $\chi^2 > 6.8$, df = 1, p < 0.009); количество адгезировавшихся конидий *M. robertsii* к кутикуле *L. migratoria* и *C. italicus* (б) и прорастание конидий на эпикуткулярных экстрактах *L. migratoria* и *C. italicus* (в). * указывает значительные различия между видами (t-test, p < 0.003); ns: незначительные различия.

Таким образом, показаны существенные различия в липидном составе эпикуткулы мезоксерофильной *L. migratoria* и ксерофильного *C. italicus*; данные различия коррелировали с более высоким уровнем адгезии конидий к кутикуле и более высокой восприимчивостью к патогену у *C. italicus* по сравнению с *L. migratoria*. Высокое содержание ди- и триметилалканов у пруса, по-видимому, является адаптацией к ариднему климату: метилразветвленные алканы расширяют диапазон плавления эпикуткулы, делают липидную матрицу более текучей, что важно при больших суточных колебаниях температур [Lockey and Oraha, 1990]; длинноцепочечные компоненты предотвращают обезвоживание [Gibbs, 2002, Gibbs and Pomonis, 1995, Patel et al., 2001]. С другой стороны гидрофобные длинноцепочечные алканы вносят вклад в неспецифическую адгезию конидий к кутикуле [Verbruggen et al., 2000, Butt, 2016]. Отсутствие существенных различий в уровне прорастания конидий на экстрактах

свидетельствует о том, что именно изменение уровня адгезии вносит вклад в повышенную восприимчивость *C. italicus* к грибам.

4. Разработка алгоритма по выявлению характеристических ионов в масс-спектрах метилразветвленных алканов

Эпикутикула насекомых представляет собой сложную многокомпонентную смесь близких по строению и физико-химическим свойствам углеводородным изомерам. Это приводит в ряде случаев к недостаточному разделению пиков индивидуальных соединений в широком диапазоне температур при хроматографическом анализе. Помимо этого метилразветвленные алканы состава $>C_{20}$ практически отсутствуют в библиотеках масс-спектральных данных. С целью надежной идентификации изомеров метилразветвленных углеводородов в эпикутикуле насекомых был разработан алгоритм по выявлению характеристических ионов в масс-спектрах идентифицируемых соединений на основе статистической обработки масс-спектров линейных и метилразветвленных алканов.

В масс-спектре *n*-алкана C_{31} в области с m/z от 155 до 407 для интенсивностей ионов строились анаморфоза и регрессия. На основе рассчитанной регрессии строился $\pm 3\sigma$ -интервал. В случае, если интенсивность характеристического иона метилразветвленного алкана превышала верхний предел 3σ -интервала, то ион считался характеристическим, в противном случае – нет. На рис. 17 приведен пример применения данного алгоритма для масс-спектра 12,22-диметилтетрааконтана.

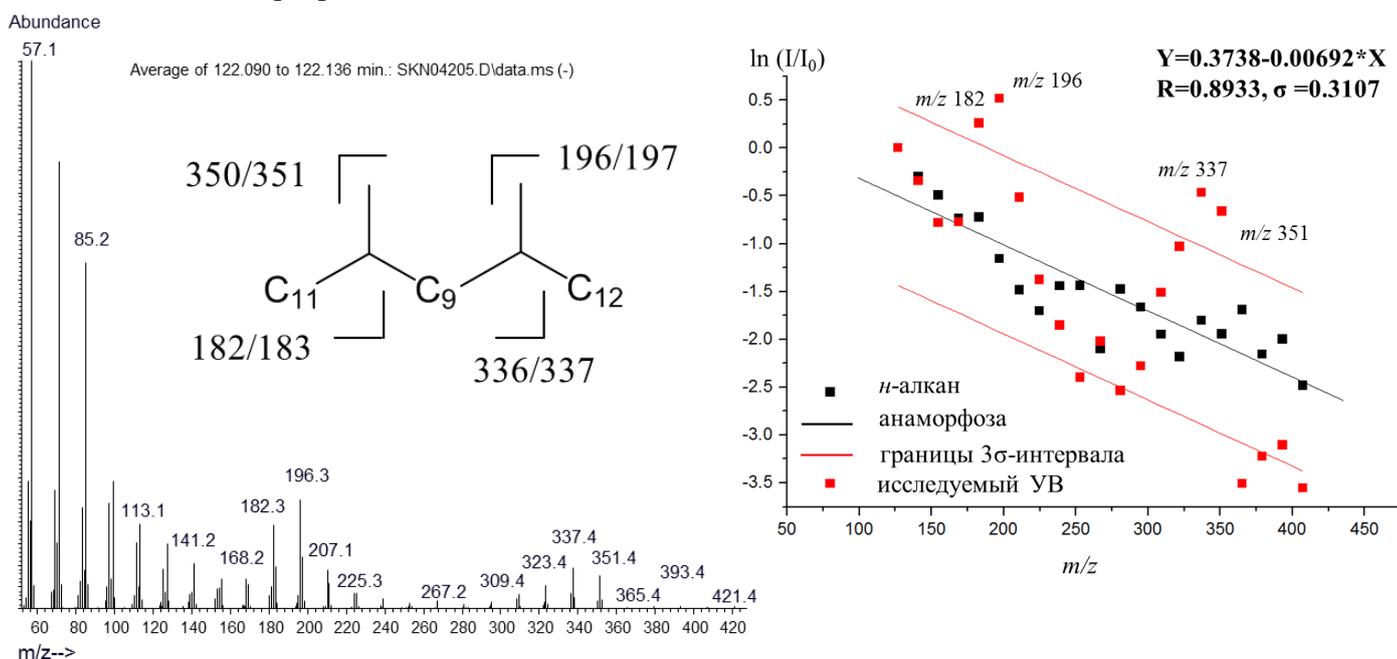


Рис. 17. Масс-спектр 12,22-диметилтетрааконтана и схема выявления характеристических ионов для него

5. Оценка метрологических характеристик количественного определения эпикутикулярных углеводородов

Оценены метрологические характеристики количественного определения углеводородов в эпикутикулярном слое саранчовых и колорадского жука методом ГХ/МС. Прецизионность оценивали в варианте повторяемости и внутрилабораторной прецизионности. Показатель повторяемости определяли по эпикутикулярным липидам итальянского пруса; минимальное значение составило 1.0%, максимальное – 12.3%. Для определения показателей внутрилабораторной прецизионности использовали образец эпикутикулы личинок колорадского жука; минимальное значение составило 5.5%, максимальное – 30.3%. Предел обнаружения, определенный по стандартным растворам *n*-октакозана, составил 0.0001 мг/мл при соотношении сигнал:шум = 3:1. Линейный диапазон, определенный также при помощи стандартных растворов *n*-октакозана, составил 2 порядка от 0.001 до 0.15 мг/мл.

Заключение

Результаты работы расширяют понимание компромиссов между защитой насекомых от обезвоживания и устойчивостью к грибным инфекциям. В частности, уменьшение количества углеводов в эпикутикуле личинок колорадского жука на поздних стадиях последнего возраста ассоциировано с изменением среды обитания: переход в почву на поздних стадиях приводит к снижению рисков, связанных с обезвоживанием, но повышением рисков грибных инфекций, поэтому потеря липидов на поздних стадиях оказывается адаптивной. Повышенная устойчивость куколок (по сравнению с личинками) ассоциирована с высоким содержанием жирных кислот в эпикутикуле, а имаго – с изменением в соотношении насыщенные : ненасыщенные жирные кислоты.

Похожий эффект наблюдается и у стадных саранчовых из разных местообитаний. Сдвиг углеводородного профиля у итальянского пруса в сторону длинноцепочечных углеводов (по сравнению с азиатской саранчой) может служить защитой от обезвоживания в более аридных ценозах, а повышенное содержание ди- и триметилразветвленных алканов у итальянского пруса может обеспечить стабильность кутикулярной матрицы в условиях высоких суточных колебаний температур. С другой стороны такая углеводородная композиция благодаря высокой гидрофобности может обуславливать повышенную адгезию конидий патогена к кутикуле, соответственно более высокую восприимчивость к энтомопатогенным грибам.

Таким образом, композиция эпикутикулы насекомых отражает компромисс функций эпикутикулы и сменой «приоритетных» факторов опасности на конкретной стадии развития или в определенном местообитании.

Нами впервые установлена активная утилизация грибами всех метилразветвленных углеводов колорадского жука при развитии микозов. Утилизация регистрировалась как в целом теле личинок колорадских жуков, так и в кутикуле. Экстракты с преобладанием углеводов (колорадский жук, саранчовые) существенно усиливали скорость прорастания конидий *in vitro*. Эти данные согласуются с тем, что углеводороды необходимы для развития энтомопатогенных грибов на насекомых, усиливая их рост, развитие и вирулентность [Keyhani et al., 2018, Pedrini et al., 2013, 2018]. На основании результатов по жирным кислотам не исключено, что гриб преобразует разветвленные углеводороды в свободные жирные кислоты [Napolitano and Juarez, 1997], хотя здесь необходимы дополнительные исследования. Таким образом, полученные данные являются подтверждением того, что углеводороды играют существенную роль в развитии микозов у таких групп насекомых как колорадский жук и саранчовые.

Выводы:

1. В эпикутикуле колорадского жука в течение последнего личиночного возраста уменьшается содержание метилразветвленных углеводов, что сопровождается падением уровня адгезии конидий *Metarhizium robertsii* к кутикуле и снижением восприимчивости к грибу.

2. Углеводородный профиль эпикутикулы колорадского жука в процессе жизненного цикла смещается в сторону более длинноцепочечных компонентов, а также увеличивается содержание связанных жирных кислот у куколок, ненасыщенных свободных жирных кислот у имаго.

3. Энтомопатоген *Metarhizium robertsii* утилизирует метилразветвленные углеводороды личинок колорадского жука, а также изменяется жирнокислотный состав в кутикуле и в целом теле насекомого при патогенезе.

4. Углеводородный профиль эпикутикулы итальянского пруса сдвигается в сторону длинноцепочечных и ди- и триметилразветвленных алканов по сравнению с азиатской саранчой, что ассоциировано с более высоким уровнем адгезии конидий *Metarhizium robertsii* к кутикуле и восприимчивости к грибу у итальянского пруса, по сравнению с азиатской саранчой.

5. Разработан алгоритм по выявлению характеристических ионов в масс-спектрах метилразветвленных углеводов для их идентификации в сложных смесях эпикутикулярных липидов насекомых.

6. Определены метрологические характеристики количественного определения углеводов в эпикутикуле насекомых методом ГХ/МС: показатели прецизионности, предел обнаружения, линейный диапазон.

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ

Публикации

- «Changes in antifungal defence systems during the intermoult period in the Colorado potato beetle» Tomilova O. G., Yaroslavtseva O. N., **Ganina M. D.**, Tyurin M. V., Chernyak E. I., Senderskiy I. V., Noskov Yu. A., Polenogova O. V., Akhanaev Yu. B., Kryukov V. Yu., Glupov V. V., Morozov S. V. *Journal of insect physiology*, 116, 2019, 106-117. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2019.05.003>

- Comparative Analysis of Epicuticular Lipids in *Locusta migratoria* and *Calliptamus italicus*: A Possible Role in Susceptibility to Entomopathogenic Fungi. **Ganina, M.D.**; Tyurin, M.V.; Zhumatayeva, U.T.; Lednev, G.R.; Morozov, S.V.; Kryukov, V.Y. *Insects* 2022, 13, 736. <https://doi.org/10.3390/insects13080736>

- Отправлена в печать статья: «Закономерности образования изомерно-гомологических рядов эпикутикулярных углеводов колорадского жука». Журнал «Химия природных соединений», **М. Д. Ганина**, М. В. Тюрин, В. Ю. Крюков, С. В. Морозов

Тезисы

1. «Исследование состава эпикутикулярного слоя личинок колорадского жука (*Leptinotarsa decemlineata*) на разных стадиях межлиночного периода методом ГХ/МС», 56 Международная научная студенческая конференция (Новосибирск, 2018),

2. «Effect of entomopathogenic fungi and different immunosuppressors on Colorado potato beetle defense systems and ontogeny», Internatiol congress on invertebrate pathology and microbial control (Queensland, Australia, 2018),

3. «Перспективы использования энтомопатогенных микроорганизмов для защиты картофеля от колорадского жука», Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Актуальные проблемы картофелеводства: фундаментальные и прикладные аспекты» (Томск, 2018),

4. «Исследование состава эпикутикулярного слоя личинок колорадского жука (*Leptinotarsa decemlineata*) на разных стадиях межлиночного периода методом ГХ/МС», VII Международная научно-практическая конференция «Адаптация биологических систем к естественным и экстремальным факторам среды» (Челябинск, 2018),

5. «Исследование состава эпикутикулярного слоя личинок колорадского жука (*Leptinotarsa decemlineata*) на разных стадиях межлиночного периода», XXIII Международная экологическая студенческая конференция «Экология России и сопредельных территорий» (Новосибирск, 2018),

6. «Хромато-масс-спектрометрическое исследование состава углеводов эпикутикулярного слоя личинок колорадского жука (*Leptinotarsa decemlineata*)», 57 Международная научная студенческая конференция (Новосибирск, 2019),

7. «Исследование углеводородного состава эпикутикулярного слоя личинок колорадского жука (*Leptinotarsa decemlineata*) на разных стадиях онтогенеза», XX Международная научно-практическая конференция студентов и молодых ученых «Химия и химическая технология в XXI веке» (Томск, 2019),

8. «Динамика изменения состава эпикутикулярного слоя личинок колорадского жука (*Leptinotarsa decemlineata*) на разных стадиях онтогенеза», IX школа-семинар молодых ученых России «Проблемы устойчивого развития региона» (Улан-Удэ, 2019),

9. «Исследование динамики содержания углеводов в эпикутикулярном слое личинок колорадского жука (*Leptinotarsa decemlineata*) на разных стадиях межлиночного

периода», II международная научная конференция «Энерго-ресурсоэффективность в интересах устойчивого развития» (Иркутск, 2019),

10. «Исследование изменения состава эпикутикулярного слоя личинок колорадского жука (*Leptinotarsa decemlineata*) на разных стадиях межличиночного периода», 24 Международная Пущинская школа-конференция молодых ученых «Биология – наука XXI века» (Пушино, 2020)

11. «Исследование состава эпикутикулярного слоя личинок азиатской саранчи (*Locusta migratoria*) и итальянского пруса (*Calliptamus italicus*) методом хромато-масс-спектрометрии», 58 Международная научная студенческая конференция (Новосибирск, 2020),

12. «Сравнительный анализ липидного состава эпикутикулярного слоя личинок азиатской саранчи (*Locusta migratoria*) и итальянского пруса (*Calliptamus italicus*) методом ГХ/МС», XXII Международная научно-практическая конференция студентов и молодых ученых (Томск, 2021)

13. «Исследование состава эпикутикулярного слоя колорадского жука (*LEPTINOTARSA DECEMLINEATA*) на разных стадиях онтогенеза методом ГХ/МС», XI Всероссийская научная конференция и школа «Аналитика Сибири и Дальнего Востока» (Новосибирск, 2021)

14. «Исследование видовых особенностей кутикулярных липидов *Locusta migratoria* и *Calliptamus italicus* методом ГХ/МС», XXIV Международная экологическая студенческая конференция «Экология России и сопредельных территорий» (Новосибирск, 2021)

15. «Сравнительный анализ кутикулярных липидов саранчовых *Locusta migratoria* и *Calliptamus italicus* (Orthoptera: Acrididae): возможный вклад в устойчивость к грибным патогенам», XVI съезд Русского энтомологического общества (Москва, 2022)

16. «Сравнительный анализ эпикутикулярных липидов саранчовых из разных ареалов обитания», 26 Пущинская школа-конференция молодых ученых с международным участием «Биология – наука XXI века» (Пушино, 2023)

17. «Хромато-масс-спектрометрический анализ эпикутикулярных липидов колорадского жука на разных стадиях жизненного цикла», XXIV Международная научно-практическая конференция студентов и молодых ученых «Химия и химическая технология в XXI веке» (Томск, 2023).

Список использованной литературы

Blomquist G. J., Bagnères A. G. (ed.). Insect hydrocarbons: biology, biochemistry, and chemical ecology. – Cambridge University Press, 2010.

Blomquist G. J., Ginzl M. D. Chemical ecology, biochemistry, and molecular biology of insect hydrocarbons // Annual review of entomology. – 2021. – Т. 66. – С. 45-60.

Moore D. A plague on locusts-the Lubilosa story // Outlooks on Pest Management. – 2008. – Т. 19. – №. 1. – С. 14.

Lomer C. J., Bateman, R. P., Johnson, D. L., Langewald, J., & Thomas, M.. Biological control of locusts and grasshoppers // Annual review of entomology. – 2001. – Т. 46. – №. 1. – С. 667-702.

Pedrini N., Ortiz Urquiza, A., Huarte Bonnet, C., Zhang, S., Keyhani, N. O. Targeting of insect epicuticular lipids by entomopathogenic fungi: hydrocarbon oxidation within the context of a host-pathogen interaction // Frontiers in microbiology. – 2013. – Т. 4. – № 24. – С. 1-18.

Pedrini N. Molecular interactions between entomopathogenic fungi (Hypocreales) and their insect host: Perspectives from stressful cuticle and hemolymph battlefields and the potential of dual RNA sequencing for future studies // Fungal Biology. – 2018. – Т. 122. – №. 6. – С. 538-545.

Nelson D.R., Adams T.S., Fatland C.L. Hydrocarbons in the surface wax of eggs and adults of the Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* // Comparative Biochemistry and Physiology Part B. – 2003. – N 134. – P. 447-466.

Yocum G. D., Buckner J. S., Fatland C. L. A comparison of internal and external lipids of nondiapausing and diapause initiation phase adult Colorado potato beetles, *Leptinotarsa decemlineata* // Comparative Biochemistry and Physiology, Part B. – 2011. – 159. – p. 163-170

Lockey K. H., Orahá V. S. Cuticular lipids of adult *Locusta migratoria migratorioides* (R and F), *Schistocerca gregaria* (Forskål)(Acrididae) and other orthopteran species—II. Hydrocarbons //Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry. – 1990. – T. 95. – №. 4. – С. 721-744.

Keyhani N. O. Lipid biology in fungal stress and virulence: Entomopathogenic fungi //Fungal biology. – 2018. – T. 122. – №. 6. – С. 420-429.

Ortiz-Urquiza A., Keyhani N. O. Action on the surface: entomopathogenic fungi versus the insect cuticle //Insects. – 2013. – T. 4. – №. 3. – С. 357-374.

Butt T. M., Coates, C. J., Dubovskiy, I. M., Ratcliffe, N. A. Entomopathogenic fungi: new insights into host–pathogen interactions //Advances in genetics. – 2016. – T. 94. – С. 307-364.

Wrońska A. K., Kaczmarek A., Boguś M. I., Kuna A. Lipids as a key element of insect defense systems // Frontiers in Genetics. – 2023. – T. 14. – С. 1183659.

Kaczmarek A., Boguś M. I., Włóka E., Wrońska A. K., Krawiel A., Kazek M., Zalewska K., Kłocińska-Biały K., Sobocińska M., Gliniewicz A., Mikulak E., Matławska M. The interaction between cuticle free fatty acids (FFAs) of the cockroaches *Blattella germanica* and *Blatta orientalis* and hydrolases produced by the entomopathogenic fungus *Conidiobolus coronatus* // PLoS One. – 2020. – T. 15. – №. 7. – С. e0235785.

Menzel F., Blaimer B. B., Schmitt T. How do cuticular hydrocarbons evolve? Physiological constraints and climatic and biotic selection pressures act on a complex functional trait //Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences. – 2017. – T. 284. – №. 1850. – С. 20161727.

Kryukov V. Y., Lednev G.R., Dubovskiy I.M., Serebrov V.V., Levchenko M.V. Khodyrev V.P. Sagitov A.O., Glupov V.V. New approaches to the biological control of insects by entomopathogenic Hyphomycetes (Deuteromycota, Hyphomycetes) //Eurasian Entomol. J. – 2007. – T. 6. – №. 2. – С. 195-204.

Kryukov, V., Yaroslavtseva, O., Tyurin, M., Tokarev, Y., Glupov V. Ecological preferences of *Metarhizium* spp. from Russia and neighboring territories and their activity against Colorado potato beetle larvae // Journal of Invertebrate Pathology. – 2017. – N 149. – P. 1-7.

Тюрин М.В., Крюков В.Ю., Ярославцева О.Н., Елисафенко Е.А., Дубовский И.М., Глупов В.В. Сравнительный анализ иммунного ответа личинок колорадского жука при развитии микозов, вызванных *Metarhizium robertsii*, *M. brunneum* и *M. pempighi* // Журнал эволюционной биохимии и физиологии. – 2016. – Т. 25. – № 3. – С. 226-232.

Ment D., Gindin G., Rot A., Soroker V., Glazer I., Barel S., Samish M. Novel technique for quantifying adhesion of *Metarhizium anisopliae* conidia to the tick cuticle //Applied and environmental microbiology. – 2010. – T. 76. – №. 11. – С. 3521-3528.

Ment D. et al. Role of cuticular lipids and water-soluble compounds in tick susceptibility to *Metarhizium* infection //Biocontrol Science and Technology. – 2013. – T. 23. – №. 8. – С. 956-967.

Kryukov V.Yu., Dubovskiy I.M., Yaroslavtseva O.N., Levchenko M.V., Slyamova N.D., Belgibaeva A.B. Khodyrev V.P. , Lednev G.R., Glupov V.V. Analysis of two strategies of entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. Mycology and Phytopathology, 2011. 44, V2, pp. 164-177.

Tomilova O. G. Yaroslavtseva O.N., Ganina M.D., Tyurin M.V., Chernyak E.I., Senderskiy I.V., Noskov Yu.A., Polenogova O.V., Akhanaev Yu.B. Kryukov V.Yu., Glupov V.V., Morozov S.V. Changes in antifungal defence systems during the intermoult period in the Colorado potato beetle //Journal of insect physiology. – 2019. – T. 116. – С. 106-117.

Gołębiowski M., Maliński E., Boguś M. I., Kumirska J., Stepnowski P. The cuticular fatty acids of *Calliphora vicina*, *Dendrolimus pini* and *Galleria mellonella* larvae and their role in resistance to fungal infection // Insect Biochemistry and Molecular Biology. – 2008. – N 38. – P. 619-627.

Koukos D., Meletiου-Christou M. S., Rhizopoulou S. Leaf surface wettability and fatty acid composition of *Arbutus unedo* and *Arbutus andrachne* grown under ambient conditions in a natural macchia //Acta Botanica Gallica. – 2015. – T. 162. – №. 3. – С. 225-232.

Ruther J., Döring M., Steiner S. Cuticular hydrocarbons as contact sex pheromone in the parasitoid *Dibrachys cavus* // *Entomologia Experimentalis et Applicata*. – 2011. – T. 140. – №. 1. – C. 59-68.

Genin E. Jullien R., Perez F., Fuzeau-Braesch S. Cuticular hydrocarbons of gregarious and solitary locusts *Locusta migratoria cinerascens* // *Journal of chemical ecology*. – 1986. – T. 12. – C. 1213-1238.

Sprenger P. P., Burkert L. H., Abou B., Federle W., Menzel F. Coping with the climate: cuticular hydrocarbon acclimation of ants under constant and fluctuating conditions // *Journal of Experimental Biology*. – 2018. – T. 221. – №. 9. – C. jeb171488.

Akino T. Cuticular hydrocarbons of *Formica truncorum* (Hymenoptera: Formicidae): description of new very long chained hydrocarbon components // *Applied Entomology and Zoology*. – 2006. – T. 41. – №. 4. – C. 667-677.

Dutra B. K., Fernandes F. A., Nascimento J. C., Quadros F. C., Oliveira G. T. Intermediate metabolism during the ontogenetic development of *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae) // *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*. – 2007. – T. 147. – №. 3. – C. 594-599.

Wrońska A. K., Boguś M. I., Włóka E., Kazek M., Kaczmarek A., Zalewska K. Cuticular fatty acids of *Galleria mellonella* (Lepidoptera) inhibit fungal enzymatic activities of pathogenic *Conidiobolus coronatus* // *PLoS One*. – 2018. – T. 13. – №. 3. – C. e0192715.

Jarrold S. L., Moore D., Potter U., Charnley A. K. The contribution of surface waxes to pre-penetration growth of an entomopathogenic fungus on host cuticle // *Mycological research*. – 2007. – T. 111. – №. 2. – C. 240-249.

Pohl C. H., Kock J. L. F., Thibane V. S. Antifungal free fatty acids: a review // *Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances*. – 2011. – T. 3. – C. 61-71.

Sergeev M. G. Distribution patterns of grasshoppers and their kin over the Eurasian Steppes // *Insects*. – 2021. – T. 12. – №. 1. – C. 77.

Sergeev M. G. Ups and downs of the Italian locust (*Calliptamus italicus* L.) populations in the Siberian steppes: On the horns of dilemmas // *Agronomy*. – 2021. – T. 11. – №. 4. – C. 746.

Gibbs A. G. Lipid melting and cuticular permeability: new insights into an old problem // *Journal of Insect Physiology*. – 2002. – T. 48. – №. 4. – C. 391-400.

Gibbs A., Pomonis J. G. Physical properties of insect cuticular hydrocarbons: the effects of chain length, methyl-branching and unsaturation // *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*. – 1995. – T. 112. – №. 2. – C. 243-249.

Patel S., Nelson D. R., Gibbs A. G. Chemical and physical analyses of wax ester properties // *Journal of Insect Science*. – 2001. – T. 1. – №. 1. – C. 4.

Verbruggen E. M. J., Hermens J. L. M., Tolls J. Physicochemical properties of higher nonaromatic hydrocarbons: A literature study // *Journal of Physical and Chemical Reference Data*. – 2000. – T. 29. – №. 6. – C. 1435-1446.

Napolitano R., Juárez M. P. Entomopathogenous Fungi Degrade Epicuticular Hydrocarbons of *Triatoma infestans* // *Archives of biochemistry and biophysics*. – 1997. – T. 344. – №. 1. – C. 208-214.

Отчет о проверке на заимствования №1



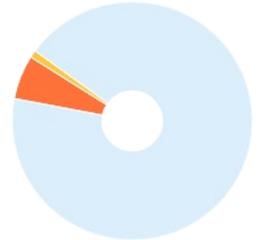
Автор: Ганина Мария Денисовна
 Проверяющий: Гапонова Светлана Константиновна
 Отчет предоставлен сервисом «Антиплагиат» - <http://users.antiplagiat.ru>

ИНФОРМАЦИЯ О ДОКУМЕНТЕ

№ документа: 15
 Начало загрузки: 11.09.2023 13:02:58
 Длительность загрузки: 00:01:04
 Имя исходного файла: Ганина
 Аттестационная работа_без ссылок.docx
 Название документа: Ганина
 Аттестационная работа_без ссылок
 Размер текста: 67 кБ
 Символов в тексте: 68388
 Слов в тексте: 7416
 Число предложений: 433
 Способ извлечения текста: OCR

ИНФОРМАЦИЯ ОБ ОТЧЕТЕ

Начало проверки: 11.09.2023 13:04:02
 Длительность проверки: 00:02:14
 Комментарии: не указано
 Поиск с учетом редактирования: да
 Модули поиска: ИПС Адилет, Библиография, Сводная коллекция ЭБС, Интернет Плюс*, Сводная коллекция РФБ, Цитирование, Переводные заимствования (RuEn), Переводные заимствования по eLIBRARY.RU (EnRu), Переводные заимствования по eLIBRARY.RU (KkRu), Переводные заимствования по eLIBRARY.RU (KyRu), Переводные заимствования по коллекции Гарант: аналитика, Переводные заимствования по коллекции Интернет в английском сегменте, Переводные заимствования по Интернету (EnRu), Переводные заимствования по Интернету (KkRu), Переводные заимствования по Интернету (KyRu), Переводные заимствования по коллекции Интернет в русском сегменте, Переводные заимствования (KkEn), Переводные заимствования (KyEn), Переводные заимствования издательства Wiley, eLIBRARY.RU, СПС ГАРАНТ: аналитика, СПС ГАРАНТ: нормативно-правовая документация, IEEE, Медицина, Диссертации НББ, Коллекция НБУ, Перефразирования по eLIBRARY.RU, Перефразирования по СПС ГАРАНТ: аналитика, Перефразирования по Интернету, Перефразирования по Интернету (EN), Перефразированные заимствования по коллекции Интернет в английском сегменте, Перефразированные заимствования по коллекции Интернет в русском сегменте, Перефразирования по коллекции издательства Wiley, Патенты СССР, РФ, СНГ, СМИ России и СНГ, Шаблонные фразы, Кольцо вузов, Издательство Wiley, Переводные заимствования



СОВПАДЕНИЯ	САМОЦИТИРОВАНИЯ	ЦИТИРОВАНИЯ	ОРИГИНАЛЬНОСТЬ
5,82%	1,31%	0%	92,87%

Совпадения — фрагменты проверяемого текста, полностью или частично сходные с найденными источниками, за исключением фрагментов, которые система отнесла к цитированию или самоцитированию. Показатель «Совпадения» — это доля фрагментов проверяемого текста, отнесенных к совпадениям, в общем объеме текста.

Самоцитирование — фрагменты проверяемого текста, совпадающие или почти совпадающие с фрагментом текста источника, автором или соавтором которого является автор проверяемого документа. Показатель «Самоцитирования» — это доля фрагментов текста, отнесенных к самоцитированию, в общем объеме текста.

Цитирование — фрагменты проверяемого текста, которые не являются авторскими, но которые система отнесла к корректно оформленным. К цитированиям относятся также шаблонные фразы; библиография; фрагменты текста, найденные модулем поиска «СПС Гарант: нормативно-правовая документация». Показатель «Цитирования» — это доля фрагментов проверяемого текста, отнесенных к цитированию, в общем объеме текста.

Текстовое пересечение — фрагмент текста проверяемого документа, совпадающий или почти совпадающий с фрагментом текста источника.

Источник — документ, проиндексированный в системе и содержащийся в модуле поиска, по которому проводится проверка.

Оригинальный текст — фрагменты проверяемого текста, не обнаруженные ни в одном источнике и не отмеченные ни одним из модулей поиска. Показатель «Оригинальность» — это доля фрагментов проверяемого текста, отнесенных к оригинальному тексту, в общем объеме текста.

«Совпадения», «Цитирования», «Самоцитирование», «Оригинальность» являются отдельными показателями, отображаются в процентах и в сумме дают 100%, что соответствует полному тексту проверяемого документа.

Обращаем Ваше внимание, что система находит текстовые совпадения проверяемого документа с проиндексированными в системе источниками. При этом система является вспомогательным инструментом, определение корректности и правомерности совпадений или цитирований, а также авторства текстовых фрагментов проверяемого документа остается в компетенции проверяющего.

№	Доля в тексте	Доля в отчете	Источник	Актуален на	Модуль поиска	Блоков в отчете	Блоков в тексте	Комментарии
[01]	1,64%	1,31%	http://entomology.bio.msu.ru/wp-cont... http://entomology.bio.msu.ru	16 Ноя 2022	Перефразированные заимствования по коллекции Интернет в русском сегменте	4	4	
[02]	1,31%	1,31%	ИССЛЕДОВАНИЕ СОСТАВА ЭПИКУТИК... http://elibrary.ru	01 Янв 2018	eLIBRARY.RU	3	3	
[03]	1,29%	1,29%	http://entomology.bio.msu.ru/wp-cont... http://entomology.bio.msu.ru	16 Ноя 2022	Переводные заимствования по коллекции Интернет в русском сегменте	2	2	
[04]	1,04%	0,34%	Заключение Диссертационного совета http://bionet.nsc.ru	02 Сен 2021	Интернет Плюс*	4	9	
[05]	0,93%	0%	http://entomology.bio.msu.ru/wp-cont... http://entomology.bio.msu.ru	16 Ноя 2022	Интернет Плюс*	0	12	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[06]	0,86%	0,86%	2021_NOR_inst.pdf http://web.nioch.nsc.ru	01 Фев 2023	Перефразированные заимствования по коллекции Интернет в	2	2	

						русском сегменте			
[07]	0,81%	0,32%	https://mdpi-res.com/d_attachment/in... https://mdpi-res.com	04 Апр 2023	Переводные заимствования по коллекции Интернет в английском сегменте	1	2		
[08]	0,73%	0,51%	ИССЛЕДОВАНИЕ УГЛЕВОДОРОДНОГ... http://elibrary.ru	13 Янв 2019	Перефразирования по eLIBRARY.RU	2	2		
[09]	0,68%	0%	Identification and composition of cuticu... https://doi.org	31 Дек 2005	Издательство Wiley	0	6	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.	
[10]	0,67%	0%	https://soils-journal.ru/index.php/POS/... https://soils-journal.ru	11 Сен 2023	Интернет Плюс*	0	6	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.	
[11]	0,67%	0%	https://www.cnmt.ru/doc/BMF-2019_fin... https://cnmt.ru	05 Мая 2022	Интернет Плюс*	0	5	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.	
[12]	0,65%	0%	Способ получения 1,5,8-пара-ментатр... http://findpatent.ru	24 Июн 2015	Патенты СССР, РФ, СНГ	0	3	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.	
[13]	0,62%	0,35%	КОМБИНИРОВАННОЕ ДЕЙСТВИЕ ЭНТ... http://elibrary.ru	31 Авг 2017	Перефразирования по eLIBRARY.RU	1	1		
[14]	0,6%	0%	Постановление об утверждении прог... https://npbio.ru	23 Мар 2021	Интернет Плюс*	0	5	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.	
[15]	0,6%	0%	Постановление об утверждении прог... http://npbio.ru	27 Июн 2022	Интернет Плюс*	0	5	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.	
[16]	0,56%	0%	https://hht.tpu.ru/upload/constructor/... https://hht.tpu.ru	14 Апр 2023	Интернет Плюс*	0	4	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.	
[17]	0,56%	0%	2nd International Scientific Conference ... https://sewanconf.ru	27 Окт 2020	Интернет Плюс*	0	7	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.	
[18]	0,56%	0%	2nd Internatinal Scientific Conference ... https://sewanconf.ru	20 Фев 2020	Интернет Плюс*	0	7	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.	
[19]	0,55%	0%	Химико-токсикологическое исследов... http://diss.natlib.uz	02 Сен 2014	Коллекция НБУ	0	3	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.	
[20]	0,55%	0%	не указано	13 Янв 2022	Шаблонные фразы	0	13	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.	
[21]	0,54%	0,44%	4 октября 2017 года состоялся Симпо... http://moskva.bezformata.ru	06 Окт 2017	СМИ России и СНГ	2	2		
[22]	0,5%	0%	Тезисы докладов Всероссийской науч... http://elibrary.ru	01 Янв 2017	eLIBRARY.RU	0	3	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.	
[23]	0,49%	0%	Заключение Диссертационного совета http://bionet.nsc.ru	17 Мая 2020	Интернет Плюс*	0	3	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.	
[24]	0,45%	0%	https://www.pasteurorg.ru/files/materi... https://pasteurorg.ru	07 Окт 2022	Интернет Плюс*	0	3	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.	
[25]	0,41%	0%	Молодые ученые в решении актуаль... http://bibliorossica.com	26 Мая 2016	Сводная коллекция ЭБС	0	2	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.	
[26]	0,4%	0,4%	Женщины в науке: учёные Дальневос... http://to-ros.info	17 Авг 2019	СМИ России и СНГ	1	1		
[27]	0,4%	0%	http://entomology.bio.msu.ru/wp-cont... http://entomology.bio.msu.ru	22 Янв 2023	Интернет Плюс*	0	3	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.	
[28]	0,4%	0%	Мазурков, Олег Юрьевич Противови... http://dlib.rsl.ru	01 Янв 2020	Сводная коллекция РГБ	0	2	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.	
[29]	0,39%	0%	Алкилирующие фторированные про... http://findpatent.ru	25 Июн 2015	Патенты СССР, РФ, СНГ	0	2	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.	
[30]	0,39%	0%	Фосфорсодержащие фторированные ... http://findpatent.ru	24 Июн 2015	Патенты СССР, РФ, СНГ	0	2	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.	
[31]	0,39%	0%	Распоряжение Правительства РФ от 2... http://ivo.garant.ru	04 Мая 2021	СПС ГАРАНТ: нормативно-правовая документация	0	2	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.	
[32]	0,39%	0%	Распоряжение Правительства РФ от 2... http://ivo.garant.ru	27 Фев 2021	СПС ГАРАНТ: нормативно-правовая документация	0	2	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.	
[33]	0,39%	0%	Распоряжение Правительства РФ от 2... http://ivo.garant.ru	02 Авг 2021	СПС ГАРАНТ: нормативно-правовая документация	0	2	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.	
[34]	0,37%	0%	http://www.niboch.nsc.ru/lib/exe/fetch... http://niboch.nsc.ru	01 Сен 2022	Интернет Плюс*	0	2	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.	
[35]	0,36%	0%	Миронова, Алина Дмитриевна Новые... http://dlib.rsl.ru	01 Янв 2020	Сводная коллекция РГБ	0	2	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.	

[36]	0,35%	0%	https://www.meshalkin.ru/uploads/diss... https://meshalkin.ru	12 Мая 2022	Интернет Плюс*	0	2	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[37]	0,32%	0%	https://mdpi-res.com/d_attachment/in... https://mdpi-res.com	30 Ноя 2022	Переводные заимствования по коллекции Интернет в английском сегменте	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[38]	0,31%	0%	Противоопухолевое средство тритер... http://findpatent.ru	25 Июн 2015	Патенты СССР, РФ, СНГ	0	2	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[39]	0,31%	0%	Сидоренко, Дарья Сергеевна Молеку... http://dlib.rsl.ru	01 Янв 2019	Сводная коллекция РГБ	0	2	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[40]	0,31%	0%	http://www.niboch.nsc.ru/lib/exe/fetch... http://niboch.nsc.ru	17 Июн 2022	Интернет Плюс*	0	2	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[41]	0,31%	0%	№ 4 (2020) https://jsms.elpub.ru	13 Янв 2021	Интернет Плюс*	0	3	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[42]	0,3%	0%	№ 11 (179) http://emll.ru	08 Июл 2017	Медицина	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[43]	0,27%	0%	%D0%91%D0%B8%D0%BE%D0%BB%D... http://spsl.nsc.ru	08 Мая 2021	Перефразированные заимствования по коллекции Интернет в русском сегменте	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[44]	0,26%	0%	Останин, Максим Александрович Хим... http://dlib.rsl.ru	16 Июн 2021	Сводная коллекция РГБ	0	3	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[45]	0,26%	0%	http://web3.nioch.nsc.ru/nioch/templat... http://web3.nioch.nsc.ru	10 Июн 2023	Интернет Плюс*	0	2	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[46]	0,25%	0%	Андросов М.В., Бажайкин А.Л., Бортни... http://ivo.garant.ru	16 Янв 2016	Переводные заимствования по коллекции Гарант: аналитика	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[47]	0,25%	0%	Identification of branched alkanes in lipi... https://doi.org	11 Сен 2023	Интернет Плюс*	0	5	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[48]	0,25%	0%	Антирадикальные и противовирусны... http://dep.nlb.by	11 Ноя 2016	Диссертации НББ	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[49]	0,25%	0%	Журнал аналитической химии. 2017. Т... http://biblioclub.ru	21 Янв 2020	Сводная коллекция ЭБС	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[50]	0,23%	0%	Технология и потребительские свойс... http://dep.nlb.by	16 Янв 2020	Диссертации НББ	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[51]	0,23%	0%	Биоразнообразие возбудителей церк... http://dep.nlb.by	20 Дек 2016	Диссертации НББ	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[52]	0,23%	0%	Токсикологическая химия. Метаболи... http://studentlibrary.ru	20 Янв 2020	Медицина	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[53]	0,23%	0%	Способ получения наноразмерной с... http://findpatent.ru	25 Июн 2015	Патенты СССР, РФ, СНГ	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[54]	0,23%	0%	Модели, методика и средства разраб... http://dep.nlb.by	06 Дек 2018	Диссертации НББ	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[55]	0,23%	0%	68306 http://e.lanbook.com	09 Мар 2016	Сводная коллекция ЭБС	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[56]	0,23%	0%	не указано http://ivo.garant.ru	02 Авг 2022	СПС ГАРАНТ: аналитика	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[57]	0,23%	0%	не указано http://ivo.garant.ru	02 Авг 2022	СПС ГАРАНТ: аналитика	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[58]	0,23%	0%	Поздравляем директора Российско-а... http://barnaul.bezformata.com	17 Авг 2019	СМИ России и СНГ	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[59]	0,23%	0%	Джаксыбаев Арыстан.16-111	08 Июн 2023	Кольцо вузов	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[60]	0,23%	0%	Косова, Анастасия Андреевна Взаимо... http://dlib.rsl.ru	01 Янв 2018	Сводная коллекция РГБ	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[61]	0,23%	0%	Т. 2 http://emll.ru	08 Июл 2017	Медицина	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[62]	0,23%	0%	Т. 2 http://emll.ru	28 Апр 2017	Медицина	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.

[63]	0,23%	0%	Interpretation of radioimpedance soun... https://ieeexplore.ieee.org	04 Ноя 2013	IEEE	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[64]	0,21%	0%	Т. 52, № 5, сентябрь-октябрь http://emll.ru	21 Дек 2016	Медицина	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[65]	0,2%	0%	Технология получения модифициров... http://dep.nlb.by	04 Июл 2017	Диссертации НББ	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[66]	0,2%	0%	http://www.niboch.nsc.ru/lib/exe/fetch... http://niboch.nsc.ru	15 Мая 2023	Интернет Плюс*	0	2	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[67]	0,19%	0%	Изучение биологически активных ве...	22 Мая 2019	Кольцо вузов	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[68]	0,19%	0%	применение усниновой кислоты в ка... http://freepatent.ru	11 Сен 2023	Интернет Плюс*	0	2	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[69]	0,18%	0%	Национальные приоритеты России: ... http://biblioclub.ru	21 Янв 2020	Сводная коллекция ЭБС	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[70]	0,18%	0%	Молекулярная биология. 2017. Т. 51, ... http://biblioclub.ru	21 Янв 2020	Сводная коллекция ЭБС	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[71]	0,18%	0%	234519 http://biblioclub.ru	19 Апр 2016	Сводная коллекция ЭБС	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[72]	0,18%	0%	Совершенствование водораспреде... http://diss.natlib.uz	02 Сен 2014	Коллекция НБУ	0	2	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[73]	0,17%	0%	https://obolensk.org/files/journal/2018/... https://obolensk.org	22 Дек 2020	Интернет Плюс*	0	3	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[74]	0,16%	0%	https://scidok.sulb.uni-saarland.de/bits... https://scidok.sulb.uni-saarland.de	11 Сен 2023	Интернет Плюс*	0	4	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[75]	0,16%	0%	Эффективное лекарство от астмы и а... https://scientificrussia.ru	31 Окт 2018	СМИ России и СНГ	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[76]	0,16%	0%	141945 http://biblioclub.ru	18 Апр 2016	Сводная коллекция ЭБС	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[77]	0,15%	0%	http://www.reports-science.kz/assets/2... http://reports-science.kz	11 Сен 2023	Интернет Плюс*	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[78]	0,14%	0%	ИССЛЕДОВАНИЕ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО ... http://elibrary.ru	01 Янв 2021	eLIBRARY.RU	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[79]	0,14%	0%	Участники https://hht.tpu.ru	28 Мая 2023	Интернет Плюс*	0	2	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[80]	0,13%	0%	Юдинцева, Наталия Михайловна Разл... http://dlib.rsl.ru	01 Янв 2010	Сводная коллекция РГБ	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[81]	0,13%	0%	https://fptt.ru/upload/journals/fptt/202... https://fptt.ru	16 Фев 2023	Интернет Плюс*	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[82]	0,13%	0%	№1 (19) http://emll.ru	21 Дек 2016	Медицина	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[83]	0,12%	0%	VI съезд Вавиловского общества гене... http://elibrary.ru	14 Сен 2015	eLIBRARY.RU	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[84]	0,12%	0%	Изучение фенспирида для целей и за... https://mediasphera.ru	11 Сен 2023	Интернет Плюс*	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[85]	0,12%	0%	Фармакологический анализ антицик... http://disszakaz.com	11 Сен 2023	Интернет Плюс*	0	2	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[86]	0,1%	0%	Марказий Фаргона ерлардаги арзик... http://diss.natlib.uz	31 Янв 2017	Коллекция НБУ	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[87]	0,1%	0%	РАЗНООБРАЗИЕ КУЛЬТИВИРУЕМЫХ ... https://cyberleninka.ru	28 Апр 2023	Интернет Плюс*	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[88]	0,1%	0%	https://elar.urfu.ru/bitstream/10995/80... https://elar.urfu.ru	26 Мая 2022	Интернет Плюс*	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.
[89]	0,09%	0%	http://ams.tsu.ru/TSU/QualificationDep... http://ams.tsu.ru	12 Сен 2022	Интернет Плюс*	0	1	Источник исключен. Причина: Маленький процент пересечения.

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
НАУКИ ИНСТИТУТ ХИМИЧЕСКОЙ БИОЛОГИИ И
ФУНДАМЕНТАЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ СИБИРСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

Отчёт о проверке текста научно-квалификационной работы на
объём заимствования

Ганина Мария Денисовна

«Эпикутикулярные углеводороды и жирные кислоты колорадского жука и саранчовых: компромисс между устойчивостью к обезвоживанию и восприимчивостью к энтомопатогенным грибам»

Оригинальность работы составляет 92.86%, что соответствует требованиям порядка и условиям допуска научно-квалификационных работ к защите на заседании Итоговой аттестации в аспирантуре ИХБФМ СО РАН.

Проверку выполнила секретарь АК – к.б.н. С.К. Гапонова