

ОТЗЫВ

Официального оппонента на диссертационную работу

Ганиной Марии Денисовны «**Состав и химическое строение кутикулярных липидов колорадского жука и стадных саранчовых, их роль в развитии**

грибных инфекций насекомых», представленную на

соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 1.4.9 -

биоорганическая химия, 1.5.4. – биохимия

Актуальность темы исследования. Представленная работа посвящена изучению состава и химического строения эпикутикулярных липидов на разных фазах онтогенеза колорадского жука *Leptinotarsa decemlineata* и двух видов стадных саранчовых (азиатская саранча *Locusta migratoria* и итальянский прус *Calliptamus italicus*) с разными гигротермическими предпочтениями. Эти фитофаги наносят значительный урон сельскохозяйственным культурам, который усугубляется формированием рас, устойчивых к ряду химических инсектицидов. Для контроля численности насекомых-вредителей, в том числе для колорадского жука и саранчовых, используются биопрепараты на основе энтомопатогенных аскомицетов и состав эпикутикулярных липидов может влиять на восприимчивость насекомых к микозам. Однако детальная роль эпикутикулярных липидов в восприимчивости вредителей к грибным инфекциям не до конца ясна. Кроме того, адаптации насекомых к определенным условиям окружающей среды, например к аридному климату, часто сопровождаются их повышенной восприимчивостью к микозам. При этом механизмы достижения компромиссов между необходимостью адаптации и снижением устойчивости к патогенам в контексте состава кутикулярных липидов на сегодняшний день изучены слабо. Эти крайне актуальные вопросы, важные для расширения фундаментальных знаний о взаимоотношениях в системе «насекомое-патоген», а также усовершенствования подходов к биорегуляции численности насекомых-вредителей, явились целью защищаемой диссертационной работы.

Научная новизна и достоверность результатов. В представленной работе впервые проведено установление состава и химического строения эпикутикулярных углеводов и жирных кислот личинок и куколок колорадского жука и нимф итальянского пруса. Сравнение данных, полученных на разных фазах онтогенеза *Leptinotarsa decemlineata*, а также у двух видов саранчовых с разными гигротермическими предпочтениями, проливают свет на роль кутикулярных углеводов в развитии микозов у насекомых. В частности, впервые показано, что гриб *Metarhizium robertsii* при колонизации личинок колорадского жука утилизирует метилразветвленные углеводороды, что увеличивает его вирулентность.

Композиционные изменения липидного состава эпикутикулы колорадского жука в процессе онтогенеза также показаны впервые. В частности, впервые установлено сокращение содержания эпикутикулярных углеводов у личинок колорадского жука в последнем личиночном возрасте, что согласуется со снижением уровня адгезии конидий энтомопатогенного гриба *M. robertsii* к кутикуле и снижением восприимчивости к патогену. Впервые также показано, что углеводородный профиль имаго колорадского жука смещен в более длинноцепочечную область по сравнению с личинками и куколками. При этом у куколок наблюдается увеличение уровня связанных жирных кислот, а у имаго – свободных ненасыщенных жирных кислот. Полученные результаты расширяют понимание компромиссов функций эпикутикулы между предотвращением обезвоживания и резистентностью к грибным патогенам. Смещение углеводородного профиля эпикутикулы в длинноцепочечную область и изменение композиции жирных кислот эпикутикулы колорадского жука в процессе развития связано с изменением жизненных сред разных фаз жука, запасанием энергии в процессе метаморфоза и, предположительно, с внутривидовыми коммуникациями в фазе имаго. В то же время, эти изменения определяют разную восприимчивость вредителя к грибным патогенам на разных стадиях онтогенеза. При изучении эпикутикулярных липидов саранчовых впервые показано, что у нимф ксерофильного *C. italicus* углеводородный профиль кутикулы смещен в более длинноцепочечную и разветвленную область в сравнении с мезо-ксерофильной *L. migratoria*. Также для итальянского пруса показан повышенный уровень адгезии конидий гриба *M. robertsii* к кутикуле и более высокая восприимчивость к грибной инфекции. Выявленный сдвиг углеводородного профиля у итальянского пруса является адаптацией к более аридному климату, но делает этот вид более восприимчивым к грибным патогенам по сравнению с мезофильной перелетной саранчой.

Достоверность результатов исследования подтверждена комплексом современных хроматографических, масс-спектрометрических и биологических методов исследований и не вызывает сомнений. Заключение и выводы обоснованы и полностью основаны на полученных данных. Автореферат отражает основные результаты исследования и соответствует содержанию диссертации. Основные результаты работы опубликованы в трех международных высокорейтинговых изданиях *Journal of Insect Physiology*, *Insects*, *Chemistry of Natural Compounds*, а также неоднократно докладывались на международных и всероссийских научных конференциях.

Структура и содержание работы. Диссертация Ганиной Марии Денисовны изложена на 139 страницах, содержит введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты и

их обсуждение, выводы, список литературы и приложения. Текст диссертации иллюстрирован 58 рисунками, 12 таблицами и 23 приложениями.

Во введении автор обосновывает актуальность проблемы исследования и показывает степень ее разработанности, формулирует цели и задачи работы, демонстрирует научную новизну и практическую значимость результатов, формулирует положения, выносимые на защиту.

Обзор литературы посвящен роли эпикутикулярных липидов в физиологии насекомых и развитию грибных болезней, а также методу ГХ/МС, используемому для исследования эпикутикулярных липидов насекомых. Обзор литературы основан, большей частью, на англоязычных источниках и дает полное представление о проработанности исследуемой темы.

В главе «Материалы и методы» детально описываются методические подходы, использованные для получения представленных в работе результатов, их анализа и проверки достоверности. Высокая достоверность полученных результатов и выводов подтверждена применением ряда современных научных методов и подходов.

Глава «Результаты и обсуждение» включает пять разделов. Первые три посвящены исследованию состава и химического строения эпикутикулярных липидов вредителей, их сравнительному изучению на разных стадиях онтогенеза колорадского жука и у двух изученных видов саранчовых с разными гигротермическими предпочтениями, а также анализу изменений состава липидов личинок колорадского жука при микозе, вызванном энтомопатогенным грибом *M. robertsii*.

В четвертом разделе показана схема установления химического строения метилразветвленных алканов в сложных хроматографически трудно разделяемых смесях эпикутикулярных липидов и разработка алгоритма по выявлению характеристических ионов в масс-спектрах метилразветвленных алканов для их идентификации в этих смесях. В последнем разделе приведены результаты определения метрологических характеристик количественного определения эпикутикулярных углеводородов. Следует отметить удачную форму представления диссертантом полученных данных, когда описанный результат сразу сопоставляется с литературными данными и обсуждается.

Текст диссертации и автореферат в целом написаны ясным языком и легко читаются, все приводимые данные аккуратно и правильно оформлены и сопровождаются соответствующим иллюстративным материалом.

Замечания. Следует отметить, что число опечаток, связанных с пропущенными буквами или несогласованием падежей, в представленной работе крайне незначительно и не мешает знакомству с изложенным материалом.

В разделе «Обзор литературы» следовало бы добавить больше информации об особенностях фрагментации разветвленных алканов при масс-спектрометрическом анализе, что используется для определения точек ветвления и имеет непосредственное отношение к данной работе.

В главе «Результаты и обсуждение» следовало бы уточнить обозначения на горизонтальной оси графика, представленного на Рисунке 3.2 а. Только после прочтения последнего предложения в подписи к рисунку «Номера соединений соответствуют табл. 3.1.» и сопоставления тринадцати никак не обозначенных цифр с числом соединений, представленных в расположенной выше таблице можно догадаться, что каждый из 13 графиков соответствует отдельному соединению. В автореферате, в отличие от основного текста диссертации, цифровые обозначения соединений приведены в подписи к Рисунку 1, но надпись «варианты соединений» хорошо бы добавить на график и в этом случае.

При знакомстве с разделами 4 и 5 той же главы создается впечатление, что некоторые данные больше подходят для раздела «Материалы и методы». Разделы 3.4.1 и 3.4.2 на примере пика 9 экстрактов куколок колорадского жука, пика 25 из хроматограммы алканов имаго того же вредителя и пика 30 хроматографического профиля эпикутикулы итальянского пруса лишь подробно объясняют как ранее предложенная Нельсоном схема установления химического строения метилразветвленных алканов была использована в диссертации при анализе сложных, трудно разделяемых смесей.

При этом некоторые данные, представленные в главе «Материалы и методы», повторяются в главе «Результаты и обсуждение».

Стр. 60, раздел 2.10. «Показатель внутрилабораторной прецизионности определяли по образцу экстракта эпикутикулы личинок колорадского жука в концентрации 0.1 мг/мл. Образец анализировали на одном и том же оборудовании с разницей в 4 года: в одном измерении было $N_1=12$ (февраль 2018), в другом $N_2=10$ параллельных определений (ноябрь 2022 г.)»

Стр. 112, раздел 3.5. «Оценку показателей внутрилабораторной прецизионности проводили с использованием раствора экстракта эпикутикулярного слоя личинок колорадского жука в концентрации 0.1 мг/мл. Один и тот же образец анализировали на одном и том же оборудовании с разницей в 4 года. В одном эксперименте было 12, в другом – 10 параллельных определений».

Интересные результаты определения основных биохимических направлений синтеза метилразветвленных углеводов имаго колорадского жука получены диссертантом на основе количественного определения содержания идентифицированных соединений (раздел 3.4.4.). Однако данные о метрологических характеристиках, необходимые для

количественного определения эпикутикулярных углеводов приведены лишь в следующем разделе 3.5.

Данные замечания носят дискуссионный характер и не умаляют значимости диссертационной работы.

Заключение. Представленная на соискание ученой степени кандидата химических наук диссертация Ганиной Марии Денисовны, выполненная на высоком научном и методическом уровне, является завершенной научно-квалификационной работой, в которой решена важная задача – предложен новый научно обоснованный подход к усовершенствованию регуляции численности колорадского жука. Диссертация полностью соответствует требованиям пунктов 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Институте химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН. Содержание диссертации соответствует паспортам специальностей 1.4.9 – биоорганическая химия и 1.5.4. – биохимия. Диссертационная работа оформлена в соответствии с Приложениями 5 и 6 Положения о диссертационных советах Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН. Автор работы Гапина Мария Денисовна заслуживает присуждения искомой степени кандидата химических наук по специальностям 1.4.9 биоорганическая химия и 1.5.4. биохимия.

Долгих Вячеслав Васильевич, доктор биологических наук по специальности 03.02.11 – Паразитология, заведующий лабораторией молекулярной защиты растений Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений» (ФГБНУ ВИЗР)
Адрес: Санкт-Петербург, г. Пушкин, шоссе Подбельского, д. 3, 196608
Тел. +7(812)470-51-10 E-mail: info@vizr.spb.ru

20.02.2025.

Подпись руки

Долгих В.В.

Удостоверяю



М.М. Кощегорова