

ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу Ганиной Марии Денисовны на тему:
**"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 специальностям 1.4.9 – «Биоорганическая химия» и 1.5.4. -
"Биохимия"

Введение

Хорошо известно, что насекомые вырабатывают комплекс защитных (адаптационных) механизмов, позволяющих им эффективно противостоять различным неблагоприятным факторам окружающей среды, как биотическим, так и абиотическим. Причем такие механизмы могут быть реализованы путем создания анатомо-морфологических и физиолого-биохимических "барьеров", основа которых все равно закладывается на молекулярном уровне. В этой связи кутикула является очень удачной моделью сочетания таких подходов, и ее ключевая функция заключается именно в предотвращении потери насекомым влаги. Рассматриваемые в рамках настоящей диссертационной работы главные липидные компоненты кутикулы (различные углеводороды и жирные кислоты) с точки зрения их качественного и количественного состава играют важную роль на первом этапе взаимодействия энтомопатогенных грибов с насекомыми, во многом определяя дальнейшую реализацию стратегии вирулентности микроорганизмов.

Актуальность темы диссертации

Как уже было отмечено, понимание молекулярных механизмов, ассоциированных с иммунитетом насекомых к различным стрессам, является приоритетной задачей, причем с фундаментальной точки зрения это выражается преимущественным образом в расширении понимания спектра природных соединений (на примере липидов), идентификации новых структурных компонентов, ранее не выявленных для изучаемых организмов, а также, что немаловажно, выявить наиболее вероятные корреляции с реализацией насекомыми (главным образом, фитофагами) определенных функций на более высоких уровнях организации. По сути это создает основу для понимания механизмов биологического действия таких молекул, в частности, опосредованных. Такие результаты, как правило, носят фундаментально-ориентированный характер и именно они создают основу для их возможного последующего прикладного применения, главным образом, для последующей таргетной разработки средств и приемов защиты культурных растений от насекомых-вредителей как с неполным, так и с полным превращением. В этой связи выбор липидов кутикулы как приоритетного объекта изучения абсолютно логичен и подчеркивает актуальность рассматриваемой диссертационной работы.

Научная новизна обоснованность и достоверность научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации

Научная новизна настоящего диссертационного исследования определяется тем, что впервые установлены состав и химическое строение эпикуткулярных липидов личинок и куколок колорадского жука, и нимф итальянского пруса. Выявленные по результатам проведенной

работы зависимости в отличиях состава липидов позволило установить корреляции с детектируемой восприимчивостью этих насекомых к инфицированию энтомопатогенными грибами, что определяется снижением уровня адгезии спор для их последующего прорастания и внедрения в тело хозяина. В этой связи дополнительно стоит отметить изменения в спектрах структурных групп детектируемых углеводов, которые удалось связать именно с их утилизацией грибами в процессе развития инфекции. Без всякого сомнения, полученная совокупность экспериментальных данных наряду с найденными закономерностями значительно расширяет имеющиеся представления о способах и механизмах адаптации изучаемых видов насекомых-фитофагов к различным биотическим и абиотическим стрессовым факторам окружающей среды. Таким образом, анализ методической и экспериментальной части диссертации в совокупности со сформулированными выводами не дает никаких оснований сомневаться в достоверности полученных результатов.

Практическая ценность результатов

На основании сформулированных положений можно заявить, что потенциальная практическая значимость данной работы заключается: а) в разработке научно-обоснованных подходов к корректировке сроков обработок агроценозов биопрепаратами на основе энтомопатогенных грибов с целью достижения наибольшей уязвимости насекомых-вредителей; б) использовании экстрактов кутикулярных липидов насекомых для повышения степени вирулентности биопрепаратов на основе энтомопатогенных грибов для их последующего применения в агроценозах. Данные рекомендуемые пути практической реализации результатов данной диссертационной работы, без всякого сомнения, позволит повысить биологическую эффективность использования биопрепаратов в защите растений от вредителей.

Структура и объем диссертации

Работа построена по классическому принципу: состоит из введения, трех глав (обзор литературы, материалы и методы, результаты и обсуждение), а также выводов и списка литературы, изложена на 139 страницах машинописного текста, содержит 58 рисунков и 12 таблиц и 23 приложений. Список цитируемых источников литературы насчитывает 214 наименования, из которых большинство работ охватывает период последних 10-15 лет. В главе «Обзор литературы» очень подробно отражена вся имеющаяся на текущий момент опубликованная информация о структурном разнообразии эпикутикулярных липидов, их роли в физиологии насекомых и адаптации к стрессам. Автором приведена детальная характеристика углеводов по структурным типам и основным физико-химическим параметрам, представлен механизм реализации их защитной функции от обезвоживания, а также представлены примеры изменений в их составах в процессе онтогенеза насекомых. В данном разделе также довольно тщательно расписаны биохимические пути биосинтеза углеводов, а также представлено множество примеров содержания конкретных соединений у разных видов исследуемых насекомых, в том числе и фитофагов. Отдельный раздел данной главы посвящен описанию роли кутикулярных углеводов и жирных кислот в развитии микозов у насекомых и их восприимчивости к ним, что непосредственным образом ассоциировано с темой данной диссертационной работы. Последний блок "обзора литературы" посвящен характеристике метода газовой хроматомасс-спектрометрии (ГХ/МС) для исследования кутикулярных липидов, а также характеристике ряда особенностей, используемых для структурной идентификации липидов на основании количественных значений индексов

удерживания. В главе «Материалы и методы» автором в достаточной степени подробно описаны методические подходы к работе с насекомыми, грибами, описаны детальные методики заражения и учета. Приведена информация по получению экстрактов кутикулярных липидов, их модификации, собственно ГХ/МС анализа и интерпретации полученных масс-спектров. В главе «Результаты и обсуждение» представлены полученные экспериментальные данные структурному разнообразию, по количественному и качественному составу эпикутикулярных липидов, а также свободных и связанных жирных кислот колорадского жука (*L. decemlineata*) в онтогенезе, а также видов саранчи (*L. migratoria* и *C. italicus*) с различными гидротермическими предпочтениями; показаны изменения в составе углеводов колорадского жука и саранчовых при грибной инфекции, проведен сравнительный анализ липидного состава насекомых; представлены результаты экспериментов по повышению вирулентности энтомопатогенного гриба *M. robertsii*, выращенного на среде с добавлением экстракта липидов, на колорадском жуке.

В целом диссертационная работа Ганиной М.Д. производит исключительно положительное впечатление - она представляет собой целостное междисциплинарное и крайне объемное исследование, выполнение которого категоризирует её автора как высоко квалифицированного специалиста в области химии природных соединений, способного комбинировать проведение исследований на стыке биоорганической химии, биохимии, энтомологии и микологии. Работа написана грамотным научным языком, ее отличает логичное и последовательное изложение основных этапов развития работы. Следует отметить, что автореферат полностью соответствует содержанию диссертации, отражает основные результаты. В нём представлены основные публикации автора диссертационной работы, среди которых 2 статьи в высокорейтинговых журналах, относящихся к WoS Q1.

Список замечаний по диссертационной работе

Несмотря на общее положительное впечатление о данной работе, хотелось бы обратить внимание автора на ряд моментов, которые были сформулированы в виде вопросов и замечаний.

1. Глава "Обзор литературы", раздел 1.1.4. "Роль кутикулярных углеводов и жирных кислот в развитии микозов у насекомых" (стр. 26 диссертации) - автора пишет, что поверхность большинства конидий грибов покрыта гидрофобными белками (гидрофобинами), которые и обеспечивают пассивную адгезию за счет образования неспецифических гидрофобных взаимодействий. То есть по сути сам процесс адгезии заключается в образовании межмолекулярных комплексов между гидрофобинами грибов и липидами насекомых? Есть ли какие-либо данные, подтверждающие углеводородную специфичность гидрофобинов I и II класса? И где имеемо образуются эти связи (структура комплексов "гидрофобин : углеводороды)? Не планируется ли данная работа автором в продолжение темы диссертационного исследования применительно к выбранным объектам, соответственно, насекомым и энтомопатогенным грибам?

2. Та же глава, раздел 1.2. "Метод ГХ/МС для исследования эпикутикулярных липидов насекомых" (стр. 41 диссертации) - автор пишет (со ссылкой на соответствующую работу), что "Хроматографические профили природного объекта являются идентификационными или диагностическими характеристиками при исследовании природных объектов и процессов..."

Дело в том, что это далеко не совсем так виду того, что качественный состав многих природных соединений при прочих равных довольно часто зависит от множества факторов, так как ареал и условия обитания организма, его окружение, иммунный статус и др. и даже в лабораторных условиях не всегда удастся достичь полного совпадения компонентного состава, например, при ВЭЖХ-анализе. В этой связи более правильно рассуждать о наличии каких-то определенных "маркерных" метаболитах, свойственных, например, конкретному виду организма.

3. Та же глава, тот же раздел - приведите, пожалуйста, детальную характеристику словосочетания "биохимическая осуществимость".
4. Глава 2 "Материалы и методы", раздел 2.3. "Восприимчивость к грибной инфекции *M. robertsii*" (стр. 52 диссертации) - по какой причине для анализа смертности использовали титр 10^7 конидий/мл для саранчовых и 10^6 конидий/мл для колорадского жука? При этом для оценки степени адгезии и прорастания спор вообще была взята нагрузка 10^8 ? (раздел 2.4. "Уровень адгезии и прорастания *M. robertsii*").
5. Глава 3 "Результаты и обсуждение" - общий вопрос по профилям ГХ/МС: какова уверенность в том, что в экстрактах содержатся только вещества липидной природы? Возможно ли присутствие в анализируемых пробах неполярных метаболитов прочей химической природы, которые могут оказаться там в процессе экстракции? В том числе контаминация?
6. Глава 3 "Результаты и обсуждение" - общий вопрос по интерпретации данных ГХ/МС: автор во всех таблицах приводит значения m/z с точностью до 1 Да. Данное обстоятельство вызывает вопрос о точности масс-детектора?
7. Глава 3 "Результаты и обсуждение" - не происходит ли изменение липидного состава у насекомых при их содержании в лабораторных условиях относительно природных? Что известно об этом?
8. Общее число выводов превышает количество поставленных задач. В этой связи было бы целесообразно объединить выводы 4 и 5 в один для достижения полного соответствия изложению задач данной диссертационной работы.

Заключение

В заключении необходимо отметить, что приведенные замечания и комментарии в целом не снижают научный уровень и практическую значимость рецензируемой диссертации. Рукопись изложена относительно доступным языком, характерным для работ в области естественных наук. Автореферат и опубликованные статьи в полной мере отражают содержание диссертационного исследования. Актуальность темы, степень обоснованности выводов и научных положений данной работы, а также достоверность и бесспорная новизна экспериментальных результатов позволяют заключить, что диссертация Ганиной Марии Денисовны на тему: **"СОСТАВ И ХИМИЧЕСКОЕ СТРОЕНИЕ КУТИКУЛЯРНЫХ ЛИПИДОВ КОЛОРАДСКОГО ЖУКА И СТАДНЫХ САРАНЧОВЫХ, ИХ РОЛЬ В РАЗВИТИИ ГРИБНЫХ ИНФЕКЦИЙ НАСЕКОМЫХ"** представляет собой в достаточной степени законченную научно-квалификационную работу, в которой фигурируют результаты, имеющие, в частности, важное практическое значение в области новых методов и подходов в биологической защите растений от насекомых-вредителей. Настоящая работа 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, Ганина Мария Денисовна, заслуживает присуждения ей ученой степени кандидата химических наук по специальностям 1.4.9 – «Биоорганическая химия» и 1.5.4. - "Биохимия".

Старший научный сотрудник лаборатории

нейрорецепторов и нейрорегуляторов

ГНЦ РФ ФГБУН Институт биоорганической химии

им. академиков М.М. Шемякина и

Ю.А. Овчинникова РАН (ГНЦ ИБХ РАН),

кандидат химических наук по специальности

1.4.9 – «биоорганическая химия»,

/Рогожин Евгений Александрович/

117997, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 16/10; e-mail: office@ibch.ru;

тел.: +7 (495) 335-01-00

Подпись к.х.н. Рогожина Е.А. заверяю:

Ученый секретарь

ГНЦ РФ ФГБУН Институт биоорганической химии

им. академиков М.М. Шемякина и

Ю.А. Овчинникова РАН (ГНЦ ИБХ РАН),

доктор физико-математических наук,



/Олейников Владимир Александрович/

« 27 » февраля 2025 г.