

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. Кутикула насекомых – главный защитный барьер от повреждающих воздействий биотической и абиотической природы. Главной функцией кутикулы является предотвращение обезвоживания. Помимо этого, входящие в ее состав компоненты выступают в качестве сигнальных веществ и участвуют во внутри и межвидовых коммуникациях, а также определяют восприимчивость к патогенам, проникающим через покровы, поскольку начальной стадией заражения является взаимодействие грибных конидий и кутикулой хозяина. Известно, что кутикулярные липиды могут влиять на восприимчивость насекомых к грибным инфекциям, однако нет целостного понимания их роли в развитии микозов у хозяев. Колорадский жук и стадные саранчовые – итальянский прус *Calliptamus italicus* и перелетная саранча *Locusta migratoria* – являются экономически значимыми видами, наносящими урон агрокультурам. В связи с чем исследование состава кутикулярных липидов выше перечисленных насекомых позволит расширить фундаментальные знания о взаимоотношениях между насекомыми и патогенами. Следует также отметить, что установленные изменения в липидном составе эпикутикулы и восприимчивости к грибам у разных стадий колорадского жука могут быть использованы для совершенствования подходов к регуляции численности этого вида. В частности, полученные результаты позволяют определить наиболее эффективное время проведение обработки посадок биопрепаратами. Таким образом работа Ганиной Марии Денисовны «Состав и химическое строение кутикулярных липидов колорадского жука и стадных саранчовых, их роль в развитии грибных инфекций насекомых» безусловно является актуальной как с научной, так и практической точки зрения.

Научная новизна и достоверность полученных результатов. Основой проводимых исследований является разработанный автором алгоритм анализа эпикутикулярных липидов насекомых методом хромато-масс-спектрометрии (ГХ/МС) с использованием методик реконструкции хроматограмм по характеристичным ионам в сложных, хроматографически трудно разделяемых, смесях близких по строению органических соединений различных классов. Применение данного алгоритма, в сочетании с учетом биохимической осуществимости синтеза метилразветвленных углеводов насекомых, позволило впервые методом ГХ/МС установить состав и химическое строение эпикутикулярных липидов личинок и куколок колорадского жука, а также нимф итальянского пруса. Впервые было установлено уменьшение содержания углеводов в эпикутикуле личинок колорадского жука в течение последнего личиночного возраста, что согласуется с уменьшением уровня адгезии конидий *M. robertsii* к кутикуле и снижением восприимчивости к грибу. Впервые показано смещение углеводородного профиля имаго колорадского жука в длинноцепочечную область по сравнению с личинками и куколками, а также увеличение уровня связанных жирных кислот у куколок и свободных ненасыщенных жирных кислот у имаго. Установлено значительное сокращение метилразветвленных углеводов в кутикуле и целом теле колорадского жука после колонизации грибом *M. robertsii*. Впервые показано смещение углеводородного профиля кутикулы у нимф

ксерофильного вида *C. italicus* в более длинноцепочечную и разветвленную область по сравнению с мезо-ксерофильным видом *L. migratoria*, а также повышенный уровень адгезии конидий *M. robertsii* к кутикуле *C. italicus* и более высокая восприимчивость этого вида к грибу.

Достоверность результатов исследования подтверждена комплексом современных физико-химических и биологических методов исследований и не вызывает сомнений. Заключение и выводы обоснованы и полностью соответствуют полученным результатам. Автореферат отражает основные результаты исследования и соответствует содержанию диссертации. Основные результаты работы опубликованы в трех международных журналах (*Journal of Insect Physiology*, *Insects*, *Chemistry of Natural Compounds*), а также неоднократно были представлены 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. Диссертация включает 58 рисунка, 12 таблиц и 23 приложения. Во введении автор обосновывает актуальность работы, формулирует цели исследования, подтверждает научную новизну проводимых в рамках диссертационной работы исследований. Обзор литературы, насчитывающий более 150 источников, состоит из двух частей, посвященных роли эпикутикулярных липидов в физиологии насекомых и развитию грибных болезней, а также методу ГХ/МС, используемому для исследования эпикутикулярных липидов насекомых. Завершает литературный обзор Заключение по литературному обзору, обосновывающее актуальность проведенных автором исследований. Глава «Материалы и методы» детально описывает методические подходы, использованные для получения представленных в работе результатов, их анализа и проверки достоверности. Глава «Результаты и обсуждение» содержит пять разделов, отражающих исследования 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* (разделы 1-3). В четвертом разделе подробно описана методология 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 заключительном разделе сделана оценка метрологических характеристик количественного определения эпикутикулярных углеводов.

Завершают работу, Заключение, Выводы, полностью отражающие результаты работы, список цитируемой литературы и приложение.

Замечания. Целью своей работы Мария Денисовна определяет как установление состава и химического строения эпикутикулярных липидов разных фаз развития колорадского жука и двух видов саранчовых с разной восприимчивостью к энтомопатогенным грибам; анализ изменения липидных композиций насекомых при развитии грибных инфекций. Первыми задачами, которые ставит перед собой автор являются: 1. Методом хромато-масс-спектрометрии (ГХ/МС) установить состав и химическое строение эпикутикулярных липидов разных фаз онтогенеза колорадского жука *Leptinotarsa decemlineata* и нимф двух видов саранчовых *Locusta migratoria* и *Calliptamus italicus*; 2. Разработать алгоритм выявления характеристических ионов в масс-спектрах метилразветвленных алканов для их идентификации в сложных хроматографически

трудно разделяемых смесях эпикутикулярных липидов. И далее: 3. Провести сравнительный анализ эпикутикулярных липидов...; 4. Проанализировать изменения липидного состава...; Провести сравнительный анализ эпикутикулярных липидов у нимф перелетной саранчи....

Логично было бы предположить построение диссертации в соответствии с поставленными задачами. Однако в литературном обзоре основное внимание уделено роли эпикутикулярных липидов в физиологии насекомых и развитии грибных болезней, в то время методам исследования эпикутикулярных липидов насекомых и в частности, применения ГХ/МС, уделено незначительное внимание.

Аналогично глава Результаты и обсуждения начинается с обсуждения состава, химического строения и сравнительного анализа эпикутикулярных липидов колорадского жука на разных стадиях онтогенеза. В то время как описание разработки алгоритма по выявлению характеристических ионов в масс-спектрах метилразветвленных алканов для их идентификации в сложных, хроматографически трудно разделяемых смесях эпикутикулярных липидов, дается в самом конце главы. Хотя именно благодаря разработанному алгоритму автору и удалось получить описанные в предыдущих разделах результаты.

Следует отметить, что данное замечание носит исключительно дискуссионный характер. В то время как опечатки, не удачных подписей к рисункам (например, Рис.2.2 Три фазы колорадского жука, используемые в экспериментах), отсутствие подписей к данным на осях графика (рис 3.2а), носят исключительный характер и в целом не влияют на восприятие текста.

Заключение В целом диссертацию характеризует высокий научный уровень. Диссертация представляет собой законченную научно-исследовательскую работу, выполненную на высоком уровне с использованием современных методов исследования. Основные результаты являются новыми, представляющими значительный научный и, в ряде случаев, практический интерес. Достоверность результатов и их интерпретация не вызывают сомнения. Представленная диссертация полностью соответствует требованиям пунктов 2.1-2.5 Положения о порядке присуждения 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. Автор работы Ганина Мария Денисовна заслуживает присуждения искомой степени кандидата химических наук по специальностям 1.4.9 биоорганическая химия и 1.5.4. биохимия.

Сильников Владимир Николаевич, Главный научный сотрудник, заведующий лабораторией Органического синтеза ИХБФМ СО РАН, д.х.н

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук (ИХБФМ СО РАН), 630090, г. Новосибирск, пр. Ак. Лаврентьева, 8. Тел. (383) 363-51-82, E-mail silnik@niboch.nsc.ru.

3 марта 2025 г.

Подпись Сильникова В.Н. заверяю
Ученый секретарь ФГБУН ИХБФМ СО РАН
к.б.н.

Логашенко Е.Б.

