

В диссертационный совет ИХБФМ.02.01 на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН»
630090, Новосибирск, проспект Академика Лаврентьева 8.

О Т З Ы В

на автореферат и диссертацию Ганиной Марии Денисовны «**Состав и химическое строение кутикулярных липидов колорадского жука и стадных саранчовых, их роль в развитии грибных инфекций насекомых**», представленную на соискание учёной степени кандидата химических наук по специальностям 1.4.9 – *Биоорганическая химия* и 1.5.4. – *Биохимия*.

Кутикула насекомых – главный защитный барьер от повреждающих воздействий биотической и абиотической природы. Главной функцией кутикулы является предотвращение обезвоживания. Вместе с тем, входящие в её состав компоненты выступают в качестве сигнальных веществ и участвуют во внутри- и межвидовых коммуникациях, а также определяют восприимчивость к патогенам, проникающим через покровы. Некоторые насекомые-фитофаги, такие как колорадский жук и некоторые представители саранчовых, постепенно стали опаснейшими вредителями сельскохозяйственных культур и приносят существенный урон, а использование химических средств защиты растений на протяжении многих лет вызвало появление резистентных рас этих опасных вредителей. Одним из перспективных способов борьбы с бесконтрольным и опасным размножением насекомых-фитофагов является применение биологических средств защиты растений с использованием энтомопатогенных аскомицетов, которые являются естественными регуляторы численности членистоногих. Кутикула насекомого – естественный защитный барьер организма, с которым в первую очередь контактирует энтомопатогенный грибок. Состав и свойства кутикулы определяют восприимчивость насекомых к грибным инфекциям. Работа Ганиной Марии Денисовны направлена на проведение сравнительного анализа эпикутикулярных липидов разных стадий онтогенеза колорадского жука и двух видов саранчовых с разной восприимчивостью к энтомопатогенным грибам и выяснения особенностей изменения липидных композиций насекомых при развитии грибных инфекций. В этой связи предпринятое диссертационное исследование является, безусловно, актуальным.

В ходе выполнения диссертационного исследования соискателем:

1. Установлено, что преобладающими липидами эпикутикулы личинок колорадского жука являются метилразветвленные углеводороды, содержание которых в эпикутикуле личинок уменьшается в течение последнего, что сопровождается падением уровня адгезии конидий *Metarhizium robertsii* к кутикуле и снижением восприимчивости к грибу.
2. Показано, что углеводородный профиль эпикутикулы колорадского жука в процессе жизненного цикла смещается в сторону более длинноцепочечных компонентов с одновременным увеличением содержания связанных жирных кислот у куколок, ненасыщенных свободных жирных кислот у имаго.
3. Обнаружено, что в процессе патогенеза грибок *Metarhizium robertsii* утилизирует все метилразветвленные углеводороды личинок колорадского жука, а при колонизации грибом тела насекомого сокращается уровень полиненасыщенных кислот.

4. Найдено, что углеводородный профиль эпикутикулы итальянского пруса сдвигается в сторону длинноцепочечных и ди- и триметилразветвленных алканов по сравнению с азиатской саранчой, при этом наблюдается более высокий уровень адгезии конидий *Metarhizium robertsii* к кутикуле и более высокая восприимчивость к грибу у итальянского пруса; по сравнению с азиатской саранчой.
5. Разработан алгоритм выявления характеристических ионов в масс-спектрах метилразветвленных углеводородов для их идентификации в сложных смесях эпикутикулярных липидов насекомых и показано, что метилразветвленные углеводороды имаго колорадского жука образуют 8 изомерно-гомологических рядов.
6. Выполнено количественное определение углеводов в эпикутикуле насекомых методом ГХ/МС и определены такие метрологические характеристики как показатели прецизионности, предел обнаружения, линейный динамический диапазон и погрешность.

Полученные данные являются новыми, а в тексте диссертации изложены в увязке с имеющимися в настоящее время сведениями о составе эпикутикулярных восков других видов насекомых и с учётом взаимодействий в системе насекомое–патоген. Изложенные в диссертации результаты исследований являются подтверждением того, что углеводороды играют важную роль в развитии грибных инфекций у таких насекомых как колорадский жук и саранчовые, и химический состав эпикутикулы насекомых отражает компромисс функций эпикутикулы и сменой главных факторов опасности на конкретной стадии развития или в определенном местообитании. Данные по составу кутикулярных липидов насекомых позволяют объяснить различный уровень восприимчивости к патогенным грибам у саранчовых с разными гигротермическими предпочтениями. Установленные изменения в липидном составе эпикутикулы и восприимчивости к грибам у разных стадий колорадского жука могут быть использованы для совершенствования подходов к применению энтомопатогенных аскомицетов для регуляции численности вида.

Вместе с тем, при ознакомлении с текстами автореферата и диссертации выявились некоторые недочёты из-за появления неудачных формулировок и выражений, а именно:

7. На стр. 14 справедливо отмечено, что «Кутикулярные липиды представляют собой сложную многокомпонентную смесь, и размягчение/плавление происходит в определенном диапазоне температур», однако далее, на стр. стр. 16, написано следующее со ссылками на работы [48,49]: «показано, что кутикулярные липиды имеют более высокую точку плавления». Возможно, в оригинальных работах так и написано – «точка плавления», но к опубликованным данным следует подходить критически и не повторять в своей работе неверные формулировки, поскольку сложная смесь не может плавиться в точке.
8. На стр. 15: сказано, что «что композиция кутикулярных липидов зависит от количества осадков ареалов обитания муравьев...» – может быть, речь идёт о количестве осадков **В** ареалах обитания?
9. На стр. 58 сказано: «Было установлено, что самыми оптимальными являются режимы с линейным поднятием». Режим может быть либо оптимальным, либо не оптимальным. А что такое «самый оптимальный»?
10. На стр. 108 сказано: «Следует отметить, что в американской популяции колорадского жука встречались изомеры с другим распределением метиленовых единиц между метильными группами...». Из такого утверждения мало что понятно. Если метиленовые группы находятся между метильными группами, то речь идёт о нормальном, то есть неразветвлённом алкане. А если обсуждаются разветвлённые алканы, то метиленовые группы могут быть по-разному распределены между точками разветвления, но не между метильными группами.

11. В тексте попадаются упоминания о «сложных пиках» (например, на стр.: «Для анализа сложных пиков использовали реконструкцию исходной хроматограммы по характеристичным ионам («ионная экстракция»)), на стр. 96: «3.4.2. Анализ сложных пиков из хроматографических профилей эпикутикулярных липидов». Однако такого термина в хроматографической литературе не встречается, а и текста диссертации ясно, что во всех случаях речь идёт о составных пиках, которые представляют собой суперпозицию двух или более частично или полностью неразделённых пиков.
12. На стр. 47 сказано: «Прирост цепи идет двууглеродными частицами...». Вероятно, из-за буквального и неточного перевода на русский язык возникли непонятные фразы про «двууглеродные частицы». Под названием «частица» в химических текстах обычно подразумевается некий локализованный объект с определёнными физическими и химическими свойствами. Поэтому формулировка «двууглеродные частицы» должна означать кластер из двух молекул углерода, однако из контекста очевидно, что это не так.

Есть также замечания и вопросы к содержательной части диссертации:

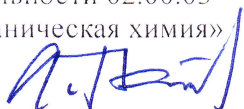
13. На стр. 15 сказано: «В расплавленном эпикутикулярном слое выше энтропия по сравнению с твердым, плотно упакованным липидным слоем. Так что переход воды через расплавленный липидный слой термодинамически более выгоден». Во-первых, из такой формулировки возникает ощущение, что энтропия мыслится как нечто, содержащееся в эпикутикулярном слое. Правильнее было бы сформулировать так: «энтропия расплавленного эпикутикулярного слоя выше, чем твердого, плотно упакованного липидного слоя». Во-вторых, совершенно не ясно, как энтропия фазы связана с проницаемостью для молекул воды. Вполне вероятны случаи, когда высоко упорядоченная фаза будет иметь более высокую проницаемость, например, из-за наличия каналов.
14. На стр. 74 сказано: «Большое количество связанных жирных кислот в эпикутикуле насекомых является необычным феноменом». Не ясно, что вкладывается в понятие «необычность» в данном случае, поскольку выше, в Литературном обзоре на стр. 21, указывалось со ссылкой на работу [65], что «более половины кутикулярных липидов имаго стрекоз *Aeschna grandis* и *Aeschna mixta* составляют триглицериды с основными кислотами C16:0 и C18:1». То есть получается наоборот: большое количество связанных жирных кислот в эпикутикуле насекомых является вполне обычным делом.
15. Можно утверждать, что свойства эпикутикулы насекомых всецело определяется составом образующих её компонентов, свойства которых, в свою очередь, напрямую зависят от структуры их молекул. В результате проделанного соискателем исследования получена информация о химической структуре лишь части молекул, формирующих эпикутикулу, а именно – углеводов, свободных жирных кислот, кетонов. Эти компоненты поддаются прямому газо-хроматографическому определению. Вместе с тем, в составе кутикулы обнаруживаются заметные количества других компонентов. Соискатель на стр. 72 прямо пишет, что «связанные жирные кислоты составляют до 25% от веса суммарного экстракта». Эту составную часть кутикулы соискатель анализирует через разрушение молекул исходных нативных компонентов и определение входящих в их состав кислот. Приведённая на стр. 56-57 методика обработки смывов и экстрактов должна приводить к разрушению структуры нативных компонентов и превращение их кислой части в метиловые эфиры, которые и анализируются методом ГХ/МС. Известно, что «связанные» жирные кислоты могут существовать в виде моно-, ди- и триглицеридов, фосфолипидов, сложных эфиров стероидов, эфиров жирных спиртов. Поэтому, к сожалению, так и осталось не ясным, что из всего этого содержится в исследованных

смывах и экстрактах, и какую роль эти не идентифицированные нативные компоненты (а не продукты их декструкции/метанолиза) играют в адаптационных механизмах насекомых и при взаимодействии с патогенными грибами.

Текст диссертации и автореферат в целом написаны ясным языком и легко читаются, все приводимые данные аккуратно и правильно оформлены и сопровождаются соответствующим иллюстративным материалом. Содержания автореферата соответствует основным идеям и выводам диссертации. Работу в целом характеризует высокий научный уровень, завершённый характер и значительный объём новых научных данных. Исследование выполнено на высоком уровне с использованием современных методов исследования. Основные результаты являются новыми, представляющими значительный научный интерес. Достоверность результатов и их интерпретация не вызывают сомнения. Основные результаты диссертационного исследования опубликованы в профильных научных журналах, а отдельные части работы неоднократно докладывались на российских и международных научных конференциях.

Диссертационная работа Ганиной Марии Денисовны «Состав и химическое строение кутикулярных липидов колорадского жука и стадных саранчовых, их роль в развитии грибных инфекций насекомых» по объёму и уровню проведённых исследований отвечает требованиям, предъявляемым к диссертациям, в частности, п. 9 «Положения о порядке присуждения учёных степеней», утверждённого постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 (в редакции от 01 октября 2018 г.) и соответствует требованиям пп. 2.1–2.5 «Положения о присуждении ученых степеней в Институте химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН», а её автор, Ганина Мария Денисовна, заслуживает присуждения учёной степени кандидата химических наук по специальностям 1.4.9 – *Биоорганическая химия* и 1.5.4. – *Биохимия*.

Заведующий Лабораторией терпеновых соединений НИОХ СО РАН,
доктор химических наук по специальности 02.00.03 — Органическая химия,
Профессор по специальности «органическая химия»



Ткачев Алексей Васильевич
понедельник, 10 марта 2025 г.

+7(383)330-88-52
atkachev@nioch.nsc.ru
<http://web3.nioch.nsc.ru/terpenlab/>

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Новосибирский институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова Сибирского отделения Российской академии наук (НИОХ СО РАН)
630090, г. Новосибирск, пр. Академика Лаврентьева, 9
+7(383)330-88-50
benzol@nioch.nsc.ru
www.nioch.nsc.ru

Подпись зав. лабораторией терпеновых соединений
НИОХ СО РАН
д.х.н. Ткачева А.В.
ЗАВЕРЯЮ:



Ученый секретарь НИОХ СО РАН
к.х.н. Бредихин Роман Андреевич