ОТЗЫВ

официального оппонента на диссертационную работу Салимовой Дилары Ринатовны на тему: «ВЫДЕЛЕНИЕ И ХАРАКТЕРИСТИКА ВТОРИЧНЫХ МЕТАБОЛИТОВ ГРИБОВ РОДА *ALTERNARIA* С ЭНТОМОТОКСИЧЕСКИМИ СВОЙСТВАМИ» на соискание ученой степени кандидата биологических наук по научной специальности 1.5.18. Микология

Актуальность исследований. Энтомопатогенные грибы известны очень природные инсектициды и энтомопатогенные давно. Широко известны препараты, основу которых составляют культуры микроскопических грибов. Однако работы, выполняемые в области изучения прямого или косвенного воздействия грибов метаболитов энтомопатогенных И ИХ на жизнеспособность, насекомых и членистоногих по-прежнему очень малочисленны. Процессы взаимодействия насекомых с микромицетами, подразумевают сложные системы их взаимодействия. Грибы рода Alternaria обладают высоким потенциалом к образованию вторичных метаболитов с энтомотоксическими свойствами. Эти данные определяют интерес к энтомотоксическим свойствам вторичных метаболитов микромицетов рода Alternaria.

<u>Целью работы</u> являлось получение вторичных метаболитов различных штаммов трех видов рода Alternaria (A. japonica, A. sonchi, A. tenuissima), обладающих энтомотоксическими свойствами, и охарактеризовать их. В том числе, уточнить видовую идентификацию изучаемых штаммов, исследовать влияние состава питательного субстрата на образование эндо- и экзогенных метаболитов биологической исследуемых штаммов, оценить спектр определить активности полученных экстрактов, химический состав экстрактов, обладающих энтомотоксической активностью, уточнить энтомотоксические свойства тенуазоновой кислоты как типичного метаболита грибов рода Alternaria, оценить влияние тенуазоновой кислоты на иммунитет насекомых.

Научная новизна. Автором комплексно изучены вторичные метаболиты в экстрактах из культур А. japonica и обнаружены биологически активные соединения. Автором установлено, что А. japonica не образует токсины мелкоспоровых видов. Показана связь ряда компонентов экстрактов А. japonica с их энтомотоксической активностью в отношении некоторых насекомых на разных стадиях их жизненного цикла. Диссертантом характеризованы энтомотоксические свойства тенуазоновой кислоты в отношении членистоногих. Показан синергетический эффект на смертность насекомых при совместной обработке широко известным энтомопатогеном Веаиveria и тенуазоновой кислотой. Впервые показано влияние тенуазоновой кислоты на параметры гуморального иммунитета и активности ферментов детоксицирующей системы в гемолимфе гусениц.

Теоретическая и практическая значимость. Гриб Alternaria japonica охарактеризован как продуцент вторичных метаболитов с энтомотоксическими свойствами. На примере тенуазоновой кислоты, показано прямое и косвенное действие в отношении различных членистоногих. Показана способность микотоксина A. tenuissima вызывать иммуносупрессию у гусениц. Разработаны методические рекомендации по выделению тенуазоновой кислоты.

Для достижения цели диссертационного исследования были применены общепринятые микологические, молекулярно-генетические методы, различные методики биотестирования и методы физико-химического анализа. Методы описаны подробно и корректно.

<u>Положения, выносимые на защиту</u>. Положения логически вытекают из анализа материалов диссертации и четко обоснованы полученными результатами, отражают полученные автором результаты и согласуются с основными выводами.

<u>Достоверность полученных результатов</u> подтверждена их воспроизводимостью, применением адекватных подходов и методов исследования, использованием стандартизированных методик, соответствием

результатов работы международному уровню знаний в исследуемой области микологии. Автором проведен анализ большого объема экспериментальных данных, полученных с применением современных методов. Основные результаты исследования опубликованы в 8 работах, из них 4 статьи - в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК РФ и входящих в перечень международных реферативных баз данных. Результаты апробированы на четырех всероссийских и международных конференциях.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 136 страницы и состоит из 5 глав, введения, заключения, выводов, приложений и списка литературы, который содержит 246 источников, из них 222 на иностранных языках.

В главе 1, посвященной обзору литературы, рассмотрены вопросы разнообразия, биологической активности структурного вторичных метаболитов Alternaria spp. и перспективы поиска среди них соединений с свойствами. Представлены энтомотоксическими ТИПЫ возможных антагонистических взаимодействий грибов рода Alternaria и насекомых. энтомотоксические свойства Рассмотрены типичного микотоксина мелкоспоровых *Alternaria* spp. – тенуазоновой кислоты.

В главе 2 Материалы и методы исследования рассмотрены штаммы трех видов рода *Alternaria* из коллекций чистых культур ВИЗРа. Подробно рассмотрены методы исследований, применяемых диссертантом. Для работы использовали жидкие и твердофазные среды. Рассмотрены использованные методы выделения метаболитов рода *Alternaria*.

С главы 3, посвященной биологической активности и химическому составу метаболитов рода *Alternaria*, начинается рассмотрение результатов полученных диссертантом. В работе рассмотрена идентификация и физиолого-биохимические свойства штаммов грибов, проведено уточнение филогенетического положения грибов и соотношение его с метаболитным профилем. В работе также проведено исследование состава и показано влияние питательной среды и способа культивирования на образование

метаболитов исследуемых штаммов. Для поиска биологически активных применены соединений были различные подходы культивирования потенциальных продуцентов. Для поиска БАВ были автором протестированы 162 экстракта из девяти штаммов рода *Alternaria*. При исследовании спектра биологической активности экстрактов были исследованы энтомотоксическая активность, фитотоксическая активность, антибиотическая активность и цитотоксическая активность штаммов. Автором рассмотрены метаболитные профили экстрактов и проведен их подробный анализ. Дана оценка взаимосвязи типов активности и состава экстрактов.

Четвертая глава посвящена исследованию энтомотоксической активности тенуазоновой кислоты. Рассмотрены аспекты исследований связанные с энтомотоксическими свойствами, акарицидными и цитотоксические свойства тенуазоновой кислоты. Отмечены пероральный эффект, остро-контактная активность, контактно-кишечная активность и цитотоксическая активность. Результаты исследований ТК против различных видов членистоногих поднимают вопросы, непосредственно связанные с изучениям механизмов действия токсина.

Пятая, заключительная глава посвящена исследованию иммунного ответа насекомых под действием тенуазоновой кислоты. Рассмотрены вопросы реакции клеточного и гуморального иммунитета при воздействии тенуазоновой кислоты

Работа завершается заключением и выводами. В заключении подчеркнуто, что грибы рода *Alternaria* характеризуются высоким потенциалом к образованию биологически активных вторичных метаболитов. Некоторые из этих соединений могут оказывать существенное влияние на жизнеспособность, плодовитость и поведение насекомых, а также быть причиной повышения их чувствительности к инфекциям. Подчеркнуто влияние тенуазоновой кислоты, ее роль для формирования новых подходов к биологическому контролю насекомых. Работа заканчивается 10 выводами, которые не вызывают сомнения.

Но, как для каждого исследования, в работе имеется ряд замечаний и предложений. Так, многократно отмечается эффект меланизирования пораженных насекомых. Нигде не отмечено, есть ли связь данного эффекта с развитием темно пигментированного гриба рода *Alternaria*, и с чем связан данный эффект.

Таблицы приложения A, наверное стоило бы поместить в главу Результаты, т.к. это основные данные полученные автором и проанализированные им.

На рисунке 26 А явно просматривается эффект гормезиса, однако в работе этот эффект не рассмотрен.

Также не понятно, почему действие тенуазоновой кислоты и др. рассмотрено только в течении 12 дней или менее, чем обусловлен этот срок, как это связано с жизненным циклом насекомых.

Общее число выводов можно было бы несколько сократить, объединив данные некоторых выводов в один.

Есть ряд мелких редакционных замечаний (например рис.10 В не корректно указано штамм и среда, наверное стоит указать только среду, т.к. штамм в данных исследованиях только один).

Перечисленные мелкие недочеты и предложения не имеют принципиального характера и не умаляют значения работы и ее высокий научный уровень, их можно отнести к рабочим моментам экспериментальных исследований. Достоверность работы обусловлена значительным количеством полученных данных, использованием современных методов исследования, проведением статистической обработки полученных результатов. Материал всесторонне проанализирован. Стиль изложения хороший. Автореферат в полное мере отражает содержание диссертационной работы, ее основные положения и выводы.

<u>Заключение.</u> Диссертационная работа Салимовой Дилары Ринатовны на тему «Выделение и характеристика вторичных метаболитов грибов рода *Alternaria*

с энтомотоксическими свойствами», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук, по новизне, актуальности, объему выполненных исследований, практической значимости, достоверности полученных результатов является законченным научно-квалификационным исследованием, в котором решена задача разработки подходов и поиска инсектицидов микогенного происхождения. Диссертационная работа соответствует требованиям пунктов 9-11, 13, 14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ от 24.09.2013 г. № 842. Её автор, Салимова Дилара Ринатовна, заслуживает присуждения искомой степени кандидата биологических наук по научной специальности 1.5.18. Микология.

Доктор биологических наук, Кирцидели Ирина Юрьевна старший научный сотрудник лаборатории систематики и географии грибов Федерального государственного бюджетного учреждения науки Ботанического института им. В.Л. Комарова Российской академии наук (БИН РАН)

«8 мая» 2024 г

Контактные данные:

Тел.: (+7-921)5784128, e-mail: microfungi@mail.ru

Специальность, по которой официальным оппонентом защищена диссертация: 03.02.12 – микология

Адрес места работы:

Санкт-Петербург, ул. проф. Попова 2.,

Федерального государственного бюджетного учреждения науки

Ботанического института им. В.Л. Комарова Российской академии наук (БИН РАН),

лаборатория систематики и географии грибов

Тел.: 8(812)-3725469; e-mail: IKirtsideli@binran.ru; Факс: 8(812)-3725443,

Подпись сотрудника

Подпись руки Сургания в Сургания