

## ОТЗЫВ

**официального оппонента на диссертационную работу Оберемка Владимира Владимировича «Экологические основы контроля численности листогрызущих насекомых с применением ДНК-инсектицидов», представленной на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальностям 03.02.08 – экология и 06.01.07 - защита растений**

За последние десятилетия ориентация защиты растений в России существенно изменилась в направлении её биологизации и экологизации. Несмотря на серьёзную критику, традиционные химические средства защиты растений продолжают интенсивно использоваться в сельском хозяйстве развитых стран. Исследования в области биопестицидов сейчас являются обширной междисциплинарной сферой науки, не уступающей изучению возможностей массового разведения и применения энтомофагов и путей сохранения и использования природных популяций полезных организмов. Необходимо отметить высокую наукоёмкость экологизации растениеводства вообще и защиты растений в частности.

В сложившихся обстоятельствах биологизация и экологизация ассортимента инсектицидов является не простой задачей. Представленная к защите диссертационная работа Владимира Владимировича Оберемка весьма своевременна и актуальна как с теоретической, так и с практической точек зрения.

Новые подходы, предложенные автором не только теоретически обосновывают, но и демонстрируют эффективные пути получения малоопасных средств борьбы с фитофагами. Это является оригинальным подходом к решению существующих острых экологических проблем.

Диссертационная работа изложена на 259 страницах печатного текста, включает в себя введение, обзор литературы, объекты и методы проведения исследований, экспериментальную часть, а также заключение, практические рекомендации, список литературы из 257 источников, в том числе 230 на иностранных языках, иллюстрирована таблицами и рисунками.

В первом разделе (обзор литературы), имеющем оригинальное название «Биология инсектицидов», автор подробно анализирует проблемы применения современных препаратов и обосновывает необходимость разработки ДНК-инсектицидов с высоким уровнем экологичности. Большой объем фактического материала позволяет чётко представить сложившиеся к сегодняшнему дню направления химической и биологической защиты растений от фитофагов.

Правда, иногда, для усиления акцента на отрицательном эффекте химических пестицидов, автор приводит примеры опасных препаратов, уже несколько десятилетий не применяющихся в нашей стране (с.22-24, 39, 42). Большое внимание в разделе уделено существующим биологическим инсектицидам на основе вирусов и бактерий. Но стоит заметить, что указанные на странице 20 вирусные препараты Вирин-ЭНШ, Вирин-ХС, Вирин-АББ давно отсутствуют в Государственном каталоге пестицидов и агрохимикатов, разрешённых к применению на территории РФ, и заменены на ФермоВирин ЯП, Мадекс Твин, Карповирусин и Хеликовекс. Очень уместно было бы добавить в этом разделе ещё и то, что энтомоцидная активность препаратов на основе *Bacillus thuringiensis* Berliner основана на действии не только эндотоксина, но и экзотоксина, имеющего нуклеотидную природу (с.28-30).

Проанализировав возможности негативного воздействия химических инсектицидов на биоту, автор аргументированно утверждает, что перспективной идеей сегодня является разработка ДНК-инсектицидов на основе коротких антисмысловых фрагментов генов фитофагов и именно ДНК-инсектициды могут улучшить состояние проблемы возникновения устойчивости к препаратам для защиты растений от насекомых.

Во втором разделе - Объекты и методы проведения исследований - детально изложены методы исследований, представлен видовой состав фитофагов, методы статистической обработки полученных результатов.

Основные результаты диссертационной работы изложены в разделах 3-7.

В третьем разделе показано влияние коротких одноцепочечных фрагментов антиапоптозных генов на биологические показатели непарного шелкопряда и

нецелевых насекомых. Гибель безвирусных гусениц непарного шелкопряда в лабораторных условиях достигала к 14-м суткам после обработки  $42,5 \pm 23,2\%$  (то есть относительная ошибка выборочной средней превышала 54% при удовлетворительных 3-5%) (с.91- 92, рис.3.1). Близкие результаты были получены и в природных условиях. Впервые автором отмечено достоверное снижение массы тела гусениц непарного шелкопряда под влиянием короткого антисмыслового фрагмента антиапоптозного гена. Отрицательного воздействия обработок на растения-хозяева не обнаружено. Установлено снижение на четверть количества самок в варианте опыта (с учётом контроля) для целевого и нецелевых насекомых, а также увеличение содержания кальция и магния в тканях и снижение скорости развития эмбрионов.

В четвертом разделе показано, что обработка гусениц непарного шелкопряда ДНК-олигонуклеотидами на фоне заражения их вирусом ядерного полиэдроза повышает смертность фитофагов по сравнению с контролем. Исходя из этого, автор считает перспективным применение ДНК-инсектицидов вслед за бакуловирусным препаратом для защиты леса.

В пятом разделе речь идёт о возможности клеточного ответа на действие ДНК-инсектицида как безвирусных, так и заражённых вирусом ядерного полиэдроза непарного шелкопряда гусениц вредителя. Автором установлено, что короткий антисмысловый oligoRING-фрагмент повышает смертность как безвирусных, так и заражённых вирусом гусениц непарного шелкопряда, запуская выраженные апоптотические процессы в клетках вредителя, и это может быть использовано на практике для контроля численности насекомых-вредителей.

Должна отметить, что в этом разделе очень часто названия рисунков сопровождаются пояснениями методик и трактовкой полученных результатов (рис.5.12 – 5.17 и т.д.), а ссылки на работы других исследователей тесно переплетаются в одном предложении с результатами, полученными диссертантом, и порой трудно определить, кому, что принадлежит (например, с.173).

В шестом разделе показано, что короткие антисмысловые ДНК-олигонуклеотиды способны проникать через хитиновый покров в клетки

насекомого, запуская в них активный ответ. Среди протестированных на непарном шелкопряде шести ДНК-фрагментов, только целевые антисмысловые олигонуклеотиды (oligoRING-фрагмент и oligoRIBO-11-фрагмент) смогли вызвать глубокие специфические изменения в клетках насекомого, которые в конечном итоге привели его к гибели.

В седьмом разделе представлены результаты исследований о биоразлагаемости ДНК-инсектицидов. А также автором установлено, что ДНК-инсектициды против непарного шелкопряда в подавляющем большинстве проведённых экспериментов были избирательными в действии и не проявляли инсектицидного действия на нецелевых насекомых и фитотоксического – на нецелевые растения. Так, например, применённые ДНК-олигонуклеотиды не оказали влияние на накопление эфирного масла, а только на его состав: было продемонстрировано успешное управление синтезом вторичных метаболитов растений на примере снижения уровня образования ментола в мяте перечной *Mentha piperita* L.

С целью оценки цитотоксичности oligoRING-фрагмента для позвоночных животных автором были проведены исследования на мезенхимальных стволовых клетках костного мозга быка домашнего *Bos taurus taurus* L. Полученные результаты указывают на безопасность антисмыслового oligoRING-инсектицида для клеток позвоночных.

На мой взгляд, было бы также интересно в качестве нецелевых насекомых изучить не просто представителей отрядов Lepidoptera, Coleoptera, Diptera, а энтомофагов, находящихся в непосредственном контакте с непарным шелкопрядом (особенно паразитов).

Выводы (заключение) по диссертационной работе обладают новизной и практической значимостью, обоснованы и подтверждены экспериментальным материалом. Заключение и результаты соответствуют цели и задачам работы.

Завершая анализ представленной диссертационной работы, хотелось бы отметить, что разработка ДНК-инсектицидов, на мой взгляд, является очень перспективной идеей, требующей дальнейшей теоретической и практической

разработки, поскольку пока сложно говорить о применении рекомендованных ДНК-инсектицидов (раздел «Практические рекомендации»). Они не имеют пока той препаративной формы и статуса препарата, которые предусмотрены требованиями, позволяющими зарегистрировать, а потом и использовать инсектицид. При этом мне очень понравилась идея использования их для усиления действия вирусных препаратов.

Основные замечания, вопросы и предложения по диссертационной работе сделаны мною в ходе её анализа и представлены в тексте.

Высказанные замечания не затрагивают сути и не умаляют достоинства выполненной диссертационной работы. По материалам диссертации опубликовано 50 печатных работ, 4 из них в изданиях, рекомендованных ВАК РФ, 17 – в изданиях из базы данных Scopus, получено 4 патента. Основные положения диссертации отражены в этих работах. Полученные диссертантом результаты прошли апробацию на 23 международных научных и научно-практических конференциях. Содержание автореферата соответствует содержанию диссертации.

Рассматриваемая диссертация представляет собой целостную научно-квалификационную работу. По своей новизне, научной и практической значимости она соответствует всем требованиям п. 9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утверждённого Постановлением Правительства РФ (24.09.2013 г., № 842), предъявляемым к докторским диссертациям, а её автор Владимир Владимирович Оберемок заслуживает присвоения ученой степени доктора биологических наук по специальностям 06.01.07 – защита растений, 03.02.08 – экология.

Профессор кафедры защиты и карантина растений ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный аграрный университет» (196601, СПб.- Пушкин, Петербургское ш., 2, [dolzhenkotv@mail.ru](mailto:dolzhenkotv@mail.ru), т. 89219891398), доктор биологических наук (06.01.07 – защита растений, 2017 г.), доцент

*Долженко*

Долженко

Татьяна Васильевна

01 ноября 2019 года

Подпись

*Долженко Т.В.*

заверяю

Специалист отд. кадров

*01 ноября*

2019 г.

*Арачаев*



*Т.В. Долженко*