

Отзыв

на автореферат диссертации **Оберемок 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 (биологические науки); 06.01.07 – защита растений**

Исследования Оберемок Владимира Владимировича посвящены разработке постгеномного подхода, который основывается на применении фрагментов природных полимеров – нуклеиновых кислот. В рамках этого направления соискателем выполнена работа по обоснованию использования контактных ДНК-инсектицидов на основе коротких антисмысловых фрагментов генов и препаратов на основе двухцепочечных РНК-фрагментов в отношении листогрызущих насекомых.

Актуальность темы определяется целью поиска путей избирательной регуляции численности видов листогрызущих насекомых на основе природных полимеров, снижающих токсикологическую нагрузку на экосистемы.

Научная новизна заключается в том, что впервые продемонстрирована эффективность контактных ДНК-инсектицидов в регуляции численности непарного шелкопряда и показана их избирательность для ряда нецелевых организмов. Впервые обнаружен эффект повышения смертности непарного шелкопряда и шелкопряда-монашенки, зараженных вирусом ядерного полиэдроза непарного шелкопряда, что открывает перспективы совместного применения бакуловирусных препаратов и ДНК-инсектицидов для повышения эффективности действия.

Достоверность полученных материалов основывается на применении научно-обоснованных методик исследования и значительном экспериментальном материале. Для статистической обработки материалов были использованы большие массивы данных полевых и лабораторных исследований и современные статистические методы анализа. Все поставленные перед соискателем задачи решены.

В то же время возникают вопросы:

1. Проведена ли экономическая оценка применения ДНК-инсектицидов?
2. Какова перспектива появления ДНК-инсектицидов в «Списке пестицидов и агрохимикатов, разрешенных к применению на территории Российской Федерации»?

Достаточный объем выполненной и проанализированной работы, представленный в автореферате диссертации соискателя, по актуальности, научной новизне, практической значимости соответствует предъявляемым требованиям ВАКа, а Оберемок Владимир Владимирович заслуживает

присвоения искомой учёной степени доктора биологических наук по специальностям 03.02.08 – экология (биологические науки); 06.01.07 – защита растений.

Отзыв подготовила: Барайщук Галина Васильевна, доктор биологических наук (научная специальность по которой защищена диссертация: 06.01.11 «Защита растений»), профессор, ФГБОУ ВО «Омский ГАУ», профессор кафедры садоводства, лесного хозяйства и защиты растений; почтовый адрес – 644008, Россия, г. Омск, ул. Институтская площадь, д.2; телефон: (3812) 65-17-45; адрес электронной почты – gv.barayschuk@omgau.org

«30» октября 2019 г.
дата


подпись

Г.В. Барайщук
расшифровка

Собственноручную подпись
Г.В. Барайщук удостоверяю:
начальник отдела по труду и
управлению персоналом

должность


подпись

И.А. Черноусова
расшифровка



ОТЗЫВ

на автореферат диссертации **ОБЕРЕМКА Владимира Владимировича** на тему: **«ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ КОНТРОЛЯ ЧИСЛЕННОСТИ ЛИСТОГРЫЗУЩИХ НАСЕКОМЫХ С ПРИМЕНЕНИЕМ ДНК-ИНСЕКТИЦИДОВ»**, представленной к защите на соискание учёной степени доктора биологических наук по специальностям 03.02.08 – экология (биологические науки) и 06.01.07 – защита растений.

Актуальность темы. Устойчивое развитие человечества возможно лишь при обеспечении сохранения биоразнообразия и стабильного состояния природной среды. Поэтому важен поиск инструментов избирательного контроля численности листогрызущих насекомых. Избирательная регуляция численности различных видов листогрызущих насекомых на основе природных полимеров позволяет снизить токсикологическую нагрузку на экосистемы, которая постоянно возрастает по причине интенсификации сельского хозяйства и в результате использования неизбирательных инсектицидов в сельском и лесном хозяйстве. В связи с этим, изучение и научное обоснование экологических основ контроля численности листогрызущих насекомых с применением ДНК-инсектицидов является актуальным и имеет большое практическое значение.

Научная новизна. Автор впервые показал эффективность контактных ДНК-инсектицидов в регуляции численности непарного шелкопряда на основе коротких антисмысловых фрагментов антиапоптозного IAP-3-гена вируса ядерного полиэдроза этого насекомого (oligoRING-фрагмент) и гена, кодирующего 5,8S рРНК (oligoRIBO-11-фрагмент). Показана избирательность действия ДНК-инсектицидов для ряда нецелевых организмов. У непарного шелкопряда впервые обнаружен антиапоптозный IAP-Z-ген, обладающий высокой степенью схожести с антиапоптозным IAP-3-геном вируса ядерного полиэдроза непарного шелкопряда (ВЯП НШ), и пригодный для создания ДНК-инсектицидов. На примере фрагмента oligoRIBO-11 автор показал, что достоверным инсектицидным эффектом могут обладать и очень короткие антисмысловые фрагменты длиной 11 нуклеотидов. Автор установил, что контактная обработка листьев мяты перечной антисмысловым ДНК-фрагментом oligoMEP-11, комплементарного к мРНК ментонредуктазы, приводит к снижению содержания ментола и увеличению содержания ментона. Автор впервые обнаружил эффект повышения смертности непарного шелкопряда и шелкопряда-монашенки, заражённых ВЯП НШ и обработанных коротким антисмысловым фрагментом его антиапоптозного IAP-3-гена (oligoRING-фрагмент), что открывает перспективы в плане повышения эффективности действия бакуловирусных препаратов при помощи антисмысловых ДНК-олигонуклеотидов.

Теоретическая и практическая значимость работы заключается в том, что на основании лабораторных и полевых экспериментов были получены новые представления, результаты и выводы, позволяющие расширить спектр безопасных подходов к контролю численности листогрызущих насекомых. ДНК-инсектициды (oligoRING-инсектицид и oligoRIBO-11-инсектицид) могут найти своё применение в контроле численности непарного шелкопряда. OligoRING-инсектицид может быть использован для повышения эффективности действия вируса ядерного полиэдроза непарного шелкопряда. В целом, разработанные ДНК-инсектициды показали возможность управления экосистемами при помощи антисмысловых олигонуклеотидов для целей народного хозяйства и заложили основу создания препаратов с высоким уровнем экологичности. Полученные результаты о влиянии антисмысловых олигонуклеотидов на соотношение полов непарного шелкопряда и дрозодилы и накопление вторичных метаболитов мятой перечной может найти широкое применение в защите растений и культивировании лекарственных и эфиромасличных растений. Результаты диссертационного исследования используются в курсах лекций и на практических занятиях по экотоксикологии, экологической генетике и биохимии, физиологии и биохимии пестицидов, геномике и протеомике, технологии производства овощной продукции в Таврической академии и Академии биоресурсов и природопользования в ФГАОУ ВО "Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского".

Объем и достоверность исследований. Материалы, изложенные в автореферате, указывают на огромную работу, проделанную соискателем. Исследования выполнялись согласно общепринятым методикам. Основные результаты исследований подвергнуты математической обработке. Выводы и практические рекомендации сделаны на основе результатов проведенных исследований и достаточно аргументированы.

Заключение и практические рекомендации содержат основную информацию и практические предложения по результатам проведенных экспериментов. Выполненные исследования представляют законченную, системно изложенную работу. Автореферат и опубликованные научные работы со всей полнотой отражают основные положения диссертационных исследований и их результаты, которые отражены в 50 печатных работах, из них 21 статья в журналах, включенных в Перечень рецензируемых ВАК РФ научных изданий, из которых 17 публикаций входят также и в международную базу данных Scopus. Автореферат соответствует содержанию и выводам диссертации и дает полное представление об актуальности работы, целях и задачах исследований, научной новизне и практической значимости работы.

Замечание. Автору желательно было бы привести в автореферате краткую информацию о вредоносности непарного шелкопряда в сельском и лесном хозяйстве.

Заключение. Несмотря на вышеуказанное замечание, данная диссертация представляет собой законченную работу, выполненную на высоком уровне, и по актуальности, научной новизне и практической значимости полученных результатов исследований и обоснованности научных положений, выводов и рекомендаций полностью отвечает требованиям «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013г. № 842, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени доктора биологических наук, а сам автор – **ОБЕРЕМОК Владимир Владимирович**, заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальностям 03.02.08 – экология (биологические науки) и 06.01.07 – защита растений.

Профессор кафедры земледелия, растениеводства и селекции
ФГБОУ ВО Костромская ГСХА,
доктор сельскохозяйственных наук, профессор
156530, Костромская область, Костромской район,
п. Караваево, Учебный городок д. 34
Контактный телефон: +7 (4942) 46-65-29
E-mail: pk@ksaa.edu.ru

Бородий
Сергей Алексеевич

Доцент кафедры земледелия, растениеводства и селекции
ФГБОУ ВО Костромская ГСХА,
кандидат сельскохозяйственных наук, доцент
156530, Костромская область, Костромской район,
п. Караваево, Учебный городок д. 34
Контактный телефон: +7 (4942) 46-65-29
E-mail: nikolaev7344@gmail.com

Николаев
Александр Валерьевич

Подписи д.с-х.н, профессора Бородия С.А. и
к.с-х.н, доцента Николаева А.В. заверяю:
Ректор ФГБОУ ВО Костромская ГСХА



Зудин С.Ю.

31 октября 2019 года

ОТЗЫВ

на автореферат и диссертационную работу Оберемка Владимира Владимировича на тему «Экологические основы контроля численности листогрызущих насекомых с применением ДНК-инсектицидов», представленную на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальностям 03.02.08 – экология (биологические науки), 06.01.07 – защита растений

Диссертационная работа Оберемка Владимира Владимировича выполнена на актуальную тему исследований в области экологии и защиты растений поскольку посвящена созданию нового поколения средств защиты растений, основанных на последних достижениях в области молекулярной биологии и применении подходов таргетного воздействия на вредителей с соблюдением принципов экологической безопасности.

Работа выполнена с применением современных методов молекулярной биологии, удачно выбранных и успешно примененных для доказательств основных положений, выносимых на защиту диссертации. В ней скрупулезно обоснован потенциал применения новых инсектицидных препаратов на основе ДНК-олигонуклеотидов, доказана эффективность действия специфических коротких антисмысловых ДНК-фрагментов, в том числе их сочетанный эффект, с инактивацией экспрессии антиапоптозных генов при заражении насекомых бакуловирусами, также имеющими антиапоптозные гены, что позволит получить и внедрить в практику более эффективные средства защиты. В работе продемонстрированы и обсуждены преимущества ДНК-олигонуклеотидов как средств защиты растений, в том числе по сравнению с технологиями на основе РНК-интерференции, продемонстрирован их таргетный эффект и отсутствие негативного воздействия на нецелевые объекты, что обосновывает и доказывает соответствие разрабатываемых препаратов принципам и международным требованиям экологической безопасности.

Работа написана хорошим языком в логически выстроенном академическом стиле, все разделы ее полно отражают тематику, методологию и результативность исследования, демонстрируют академическую зрелость автора, его пионерский взгляд и приоритетность исследований в развиваемой области экологии и защиты растений. При общем чрезвычайно положительном впечатлении, которое производит диссертационное исследование Оберемка В.В., текст автореферата не избежал некоторых незначительных недостатков, которые безусловно не портят, и не искажают смысл и научную значимость проведенного исследования. Так в работе можно встретить незначительные неточности и языковые казусы. Не вполне понятным из автореферата является вариант масс-спектрометрии, использованный для анализа проникновения олигонуклеотидов, поскольку указан лишь способ ионизации без указания способа детектирования ионов (тип или принцип работы ловушки), что вероятно требует пояснений для понимания обоснованности выбранного варианта анализа. Хотелось бы обратить внимание автора о возможно его ошибочном употреблении мужского рода в отношении МАЛДИ, как на пример на странице 27 автореферата («МАЛДИ зарегистрировал...»), с учетом того, что речь идет о масс-спектрометрии, а в самой аббревиатуре названия говорится о десорбции/ионизации, которые являются существительными женского рода.

В целом работа Оберемка Владимира Владимировича представляет собой законченное исследование, выполненное на актуальную тему экологии и защиты растений, обосновывает новое направление в науке, связанное с разработкой и внедрением ДНК-инсектицидов как эффективных и безопасных средств, ее результаты не вызывают сомнения и устанавливают приоритетность проведенных исследований в

данной области науки, работа соответствует в полной мере требованиям, предъявляемым к диссертациям данного уровня, а сам автор безусловно заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук.

Главный научный сотрудник
Федерального государственного
бюджетного учреждения науки
«Федеральный научный центр
биоразнообразия наземной биоты
Восточной Азии» Дальневосточного
отделения Российской академии наук,
д.б.н., член-корреспондент РАН

Булгаков Виктор Павлович



29 октября 2019 года
г. Владивосток



Подпись В.И. Булгаков заверяю
Ученый секретарь
ФНЦ Биоразнообразия ДВО РАН
О.Г. Корень к.б.н. О.Г. Корень

О Т З Ы В
на автореферат диссертации Оберемок В.В.
«Экологические основы контроля численности листогрызущих насекомых с применением ДНК-инсектицидов»
на соискании ученой степени доктора биологических наук

В автореферате диссертации Оберемок Владимир Владимировича «Экологические основы контроля численности листогрызущих насекомых с применением ДНК-инсектицидов» на соискание ученой степени доктора наук по специальности 03.02.08 –(экология) и 06.01.07 (защита растений) осуществлен комплексный подход к выявлению особенностей влияния контактных ДНК-инсектицидов на основе коротких антисмысловых фрагментов антиапоптозных генов и гена, кодирующего 5.85 рРНК, на насекомых, в частности на непарного шелкопряда и других целевых объектов.

Диссертация состоит из введения, 7 разделов, заключения, практических рекомендаций, проиллюстрирована 83 рисунками, 18 таблицами. Список собственных публикаций автора по теме диссертации состоит из 50 наименований.

Автореферат диссертации соискателя Оберемок В.В. выполнен и представлен как фундаментальная научная работа, в которой изложены основные выполненные автором исследования. Цель работы – создание и исследование ДНК-инсектицидов с высоким уровнем экологичности. Задача исследования –установить специфичность, избирательность ответа клеток, на примере непарного шелкопряда, на действие ДНК-инсектицидов

В диссертации разработаны как общетеоретические положения, так и новаторские, методологически взвешенные решения научной проблемы, имеющие важное практическое значение, внедрение которых в современную практику защиты растений может внести значительный вклад в дальнейшее применение контактных ДНК-инсектицидов как эффективных, доступных и избирательных химических агентов.

Автореферат диссертанта обладает внутренним единством, содержит новые научные результаты и положения о том, что ДНК-инсектициды обладают возможностью управления экосистемами при помощи антисмысловых олигонуклеотидов, влияющих на соотношение полов насекомых. Интересен эффект влияния ДНК-инсектицидов на накопление вторичных метаболитов в растениях, что также может найти применение в защите и культивировании растений в мировой и российской практике.

Отражение в автореферате обширного списка собственных публикаций автора и апробации результатов диссертационного исследования на 25 научных конференциях явственно свидетельствует о весомом личном практическом вкладе диссертанта в мировую науку и достоверности результатов. Предложенные автором научные теоретические и практические решения проблемы контроля численности листогрызущих насекомых с

применением ДНК-инсектицидов строго и тщательно аргументированы и оценены по сравнению с другими научно-практическими решениями данной проблемы.

Оформление автореферата Оберемок В.В. соответствует требованиям, устанавливаемым Высшей аттестационной комиссией Министерства образования и науки Российской Федерации. Автореферат отвечает всем требованиям пунктов 7 и 8 «Положения о порядке присуждения ученых степеней» от 30 января 2002 г. N 74 (с изменениями, утвержденными постановлением Правительства Российской Федерации от 20 июня 2011 г. N 475), а его автор заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук.

Отзыв подготовил: Дбар Роман Саидович,
директор Института экологии Академии наук Абхазии,
кандидат биологических наук по специальности: 03.02.05 Энтомология.

Институт экологии Академии наук Абхазии, 384900, Республика Абхазия,
г.Сухум, ул. Красномаякская, 67.

Собственноручную подпись

Дбар Р.С. удостоверяю:

зав. канцелярией Института экологии АНА
02.10.2019 г.

Павлулад Е.М.



ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Оберемок 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 (биологические науки), 06.01.07 – защита растений

Население планеты ежегодно возрастает, что ведет к росту спроса на сельскохозяйственную и лесную продукцию. Вопросы повышения урожайности сельскохозяйственных культур и лесных угодий с одновременным сохранением природного биоразнообразия с минимальным негативным антропогенным воздействием на окружающую среду остаются актуальными. В научной среде идет постоянный поиск эффективных средств защиты растений для избирательного контроля вредных фитофагов. В этой связи перспективным представляется направление регуляции численности листогрызущих насекомых на основе природных полимеров, обладающих довольно высокой эффективностью и одновременно способных снизить токсикологическую нагрузку на экосистемы на фоне избирательных инсектицидов. В этом контексте интересна разработка постгеномного подхода, основанного на применении природных фрагментов полимеров – нуклеиновых кислот, в частности, контактных ДНК – инсектицидов на основе коротких антисмысловых фрагментов генов. В связи с этим рецензируемая диссертационная работа В.В. Оберемок представляется весьма важной и актуальной.

Теоретическая ценность и новизна работы не вызывают сомнений. Впервые показана эффективность применения контактных ДНК – инсектицидов для регуляции численности непарного шелкопряда на основе коротких антисмысловых фрагментов антиапоптозного IAP-3-гена вируса ядерного полиэдроза (oligoRING-фрагмент) и гена, кодирующего 5,8S рРНК (oligoRIBO-11-фрагмент). Обосновано избирательное действие ДНК-инсектицидов для ряда нецелевых организмов. В частности, у непарного шелкопряда впервые обнаружен антиапоптозный IAP-Z-ген, обладающий высокой схожестью с антиапоптозным IAP-3-геном ВЯП НШ и, соответственно, пригодный для создания ДНК – инсектицидов. Инсектицидным эффектом могут обладать и короткие антисмысловые фрагменты генов, длиной 11 нуклеотидов. Также впервые обнаружено повышение смертности непарного шелкопряда и шелкопряда-монашенки, зараженных ВЯП НШ и обработанными короткими антисмысловыми фрагментами его антиапоптозного IAP-3-гена (oligoRING-фрагмент), что повышает эффективность действия бакуловирусных препаратов при помощи антисмысловых ДНК-олигонуклеотидов.

Очевидной представляется также и практическая значимость работы. Автором в результате лабораторных и полевых исследований были получены новые представления, позволяющие расширить спектр безопасных подходов в контроле численности листогрызущих насекомых. ДНК-инсектициды помогут в контроле численности непарного шелкопряда, oligoRING-инсектицид может применяться для повышения эффективности вируса ядерного полиэдроза непарного шелкопряда в агроэкосистемах. Данные о влиянии антисмысловых олигонуклеотидов на соотношение полов непарного шелкопряда и дрозодилы и накопление вторичных метаболитов мяты перечной применимы в защите растений. Исследования В.В. Оберемок легли в основу практических рекомендаций по применению ДНК-инсектицидов для контроля численности непарного шелкопряда в лиственных лесах, разработаны сроки и технология применения, определена дозировка препаратов, даны рекомендации по правилам их хранения.

Работа содержит оригинальные подходы к исследуемой проблеме. В ней использованы как традиционные, так и новые методы исследования, проведен обстоя-

тельный анализ наученной литературы по соответствующей проблематике. Собранный материал обработан с применением актуальных методов вариационной статистики и подвергнут глубокому и всестороннему анализу. Выводы по диссертации представляются нам вполне убедительными, логичными и естественно вытекающими из поставленных задач исследования. Следует отметить широкую апробацию материалов диссертации, они докладывались соискателем на многочисленных научных конференциях разного уровня. Основные результаты исследований, проведенных по теме диссертации, отражены в 50 публикациях, в том числе 17 – в журналах МБД Scopus, 4 – в изданиях, рекомендованных ВАК РФ, 23 являются материалами конференций, опубликованы также главы в 2 книгах (в соавторстве), имеется 4 патента на изобретения. Эти материалы в полной мере отражают результаты исследований, изложенных в диссертационной работе.

В целом на основании автореферата и доступных публикаций, работа В.В. Оберемок оставляет хорошее впечатление, она является самостоятельным, новаторским научным исследованием, имеющим большую перспективу и представляющим несомненный теоретический и практический интерес. Представленное исследование является завершенной научно-квалификационной работой, которая соответствует критериям, установленным Положением о порядке присуждения ученых степеней, утвержденным постановлением Правительства Российской Федерации от 24 сентября 2013 г. № 842 (в редакции Постановления Правительства РФ № 335 от 21 апреля 2016 г.), а ее автор – В.В. Оберемок – заслуживает присуждения искомой ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.02.08 – экология (биологические науки) и 06.01.07 Защита растений.

Заведующий кафедрой фитопатологии,
энтомологии и защиты растений
ФГБОУ ВО Кубанский ГАУ,
д-р биол. наук (03.02.05 – энтомология),
профессор

Александр Сергеевич
ЗАМОТАЙЛОВ

Доцент кафедры фитопатологии,
энтомологии и защиты растений,
ФГБОУ ВО Кубанский ГАУ,
кандидат с.-х. наук (06.01.07 –
защита растений),
доцент

Александр Иванович
БЕЛЫЙ

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Кубанский государственный аграрный университет имени И. Т. Трубилина»: 350044, Российская Федерация, Краснодарский край, город Краснодар, улица Калинина 13; телефон +7(861)2215942, факс: +7(861)2215885; адрес электронной почты: mail@kubsau.ru; официальный сайт: <https://kubsau.ru/>.

01 октября 2019 г.

Личную подпись тов.

Начальник отдела кадров



Отзыв

на диссертационную работу **Оберемок Владимира Владимировича «Экологические основы контроля численности листогрызущих насекомых с применением ДНК – инсектицидов»** представленной на соискание учёной степени доктора биологических наук по специальностям 03.02.08 – экология (биологические науки); 06.01.07 – защита растений.

Сохранение биоразнообразия и стабильное состояние природной среды, обеспечивающие устойчивое развитие человеческого общества, значительно зависит от мер, направленных на охрану живой природы с помощью регуляции численности вредных и полезных видов в агробиоценозе.

С точки зрения защиты растений от вредных организмов все большее значение в последнее время приобретает химический метод, подвергающий людей и окружающую среду определенной опасности. В связи с этим, поиск путей избирательной регуляции численности вредных насекомых, сохранение их численности на экологически безопасном уровне на основе применения природных полимеров и биопрепаратов является актуальным направлением современных научно – исследовательских программ.

Диссертационная работа В.В. Оберемок посвящена решению вопросов связанных с возможностью использования природных олигонуклеотидов в регуляции численности вредных насекомых, их влияние на нецелевые организмы и создание ДНК – инсектицидов с высоким уровнем экологичности.

Впервые в России продемонстрирована эффективность контактных (oligo RING и oligo RIBO – 11) инсектицидов на основе коротких антисмысловых фрагментов антиапоптозного LAP - 3 - гена его вируса ядерного полиэдроса и гена, кодирующего 5,8S рРНК в регуляции численности непарного шелкопряда. Показана избирательность действия ДНК – инсектицидов для ряда нецелевых организмов, что особенно важно с точки зрения экологии, а обнаружение эффекта повышения смертности зараженных вирусом (ВЯП НШ) насекомых открывает возможность

использования изучаемых инсектицидов с бакуловирусными препаратами и повышение эффективности последних.

Теоретическая и практическая значимость исследований заключается в получении новых знаний в области биологии, позволяющие расширить спектр безопасных подходов к контролю численности листогрызущих насекомых, а предложенные ДНК – инсектициды могут найти широкое применение в биологической защите растений.

Автором проделана глубокая фундаментальная работа по изучению коротких одноцепочечных фрагментов антиапоптозных генов и их влиянию на биологические показатели (накопление биомассы, повышение в тканях яиц кальция и магния, снижение скорости развития эмбрионов) вредителя и его смертность. Доказано отсутствие негативного влияния ДНК – инсектицидов на жизнеспособность мезенхимальных стволовых клеток костного мозга *Bos Taurus* и смертность нецелевых насекомых, что говорит о высоком уровне экологичности препаратов и перспективе их применения в лиственных лесах.

Полученные В. В. Оберемок данные используются в курсах лекций и на практических занятиях по экотоксикологии, экологической генетике и биохимии, физиологии и биохимии пестицидов, геномике и протеомике, технологии производства овощной продукции в Таврической академии и Академии биоресурсов и природопользования в ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского».

Автором лично проведены основные комплексные лабораторные и полевые опыты, сбор и статистическая обработка материалов исследований, достоверность которых неоспорима. Разработаны и внедрены методы эколого – биологической оценки действия антисмысловых олигонуклеотидов на целевые и нецелевые организмы и предложены практические рекомендации по применению ДНК – инсектицидов в лесном хозяйстве.

Результаты исследований апробированы докладами на 23 международных и научно - практических конференциях, на XII Европейском биотехнологическом конгрессе и на Всемирном съезде по биологии *in vitro*,

опубликованы в изданиях, входящих в международную базу данных Scopus и ВАК РФ.

По актуальности темы, научной новизне, объёму и практической значимости результатов исследований, диссертационная работа В.В. Оберемок соответствует требованиям, предъявляемым к докторским диссертациям (пп. 9-11,13,14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением правительства РФ № 842 от 24 сентября 2013 г.), а её автор заслуживает присуждения учёной степени доктора биологических наук по специальностям 03.02.08 – экология (биологические науки); 06.01.07 – Защита растений.

Зотиков Владимир Иванович,
научный руководитель
ФГБНУ «Федеральный научный центр
зернобобовых и крупяных культур»,
доктор сельскохозяйственных наук
(по специальности 06.01.09 – Растениеводство),
профессор, член - корреспондент РАН

В.И. Зотиков

Бударина Галина Алексеевна,
ведущий научный сотрудник,
заведующая лаборатории агротехнологий
и защиты растений ФГБНУ «Федеральный
научный центр зернобобовых и крупяных культур»,
кандидат сельскохозяйственных наук
(по специальности 06.01.11 – Защита растений)

Г.А. Бударина

ФГБНУ «Федеральный научный центр зернобобовых и крупяных культур»,
302502, Орловская обл., Орловский р-н, п. Стрелецкий, ул. Молодёжная, 10,
корп. 1. Телефон: +7(4862) 40-32-24; факс: +7(4862) 40-31-30,
E-mail: office@vniizbk.orel.ru

Подписи В.И. Зотикова и Г.А. Бударинной заверяю:

Ученый секретарь ФГБНУ ФНЦ ЗБК,
кандидат сельскохозяйственных наук



А.А. Молошонок

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации **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 (биологические науки), 06.01.07 – защита растений**

Актуальность исследований в области использования инсектицидов на основе природных полимеров с целью регуляции численности фитофагов не вызывает сомнений. Современная концепция защиты растений предусматривает отказ от тотального истребления вредных организмов и поэтапный переход к созданию стабильных в фитосанитарном отношении агролесоландшафтов, в которых будет действовать механизм саморегуляции и управления численностью вредных организмов. Избирательная регуляция численности листогрызущих насекомых на основе ДНК-инсектицидов будет способствовать сохранению биоразнообразия и снижению токсической нагрузки на экосистемы.

Научная новизна диссертационной работы заключается в том, что впервые продемонстрирована эффективность контактных ДНК-инсектицидов в регуляции численности непарного шелкопряда на основе коротких антисмысловых фрагментов антиаптозного IAP-3 гена его вируса ядерного полиэндроза и гена, кодирующего 5,8S рРНК. Показана избирательность действия ДНК-инсектицидов для ряда нецелевых организмов, обнаружен эффект повышения смертности непарного шелкопряда и шелкопряда-монашенки, зараженных ВЯП НШ и обработанных коротким антисмысловым фрагментом его антиаптозного IAP-3 гена, что открывает перспективы в плане повышения эффективности действия бакуловирусных препаратов при помощи антисмысловых ДНК-олигонуклеотидов.

На основании лабораторных и полевых экспериментов получены новые представления, результаты и выводы, позволяющие расширить спектр безопасных подходов к контролю численности листогрызущих насекомых, что может иметь большое практическое использование в защите растений от вредителей.

Достоверность результатов и обоснованность научных положений подтверждены большим массивом проанализированных данных, репрезентативностью выборки, применением современных статистических методов анализа, программного обеспечения и критериев оценки.

По теме диссертации опубликовано 50 печатных работ, в том числе 2 главы книг, 4 патента и 21 статья в рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК РФ, из них 17 входящих в международную базу данных Scopus.

Замечаний нет.

На основании вышеизложенного считаю, что диссертационная работа Оберемка Владимира Владимировича «Экологические основы контроля численности листогрызущих насекомых с применением ДНК-инсектицидов» является самостоятельной научно-квалификационной работой, содержащей решение актуальных проблем и задач в области экологизации защиты растений, соответствует требованиям, предъявляемым ВАК РФ к докторским диссертациям, а ее автор, заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальностям 03.02.08 – экология (биологические науки), 06.01.07 – защита растений.

Зав. кафедрой экологии и природопользования
ФГАОУ ВО «Волгоградский
государственный университет»
д.с.-х. н., доцент



Иванцова Елена Анатольевна

400062, г. Волгоград, просп. Университетский, 100
ФГАОУ ВО «Волгоградский государственный университет»,
кафедра экологии и природопользования,
тел. (8442) 40-55-53, +79608776550
e-mail: ivantsova.volgu@mail.ru



Отзыв на автореферат Оберемок В.В. на тему: « Экологические основы контроля численности листогрызущих насекомых с применением ДНК-инсектицидов», представленный к защите на соискание учёной степени доктора биологических наук по специальностям: 03.02.08 - экология 06.01.07 – защита растений

Интенсивное производство продовольствия требует увеличения применения пестицидов, что подвергает людей и окружающую среду опасности и экологическим рискам. В связи с этим, актуальной проблемой является разработка препаратов для контроля численности вредителей, которые будут безопасными и эффективными в долгосрочной перспективе.

Научная новизна исследований. Впервые продемонстрирована эффективность контактных ДНК-инсектицидов в регуляции численности непарного шелкопряда на основе коротких антисмысловых фрагментов антиапоптозного IAP-3-гена его вируса ядерного полиэдроза (oligoRING-фрагмент) и гена, кодирующего 5,8S рРНК (oligoRIBO-11-фрагмент). Впервые обнаружен эффект повышения смертности непарного шелкопряда и шелкопряда-монашенки, заражённых ВЯП НШ и обработанных коротким антисмысловым фрагментом его антиапоптозного IAP-3 – гена (oligoRING-фрагмент), что открывает перспективы в плане повышения эффективности действия бакуловирусных препаратов при помощи антисмысловых ДНК-олигонуклеотидов.

В задачи исследований входило: изучение влияния ДНК-инсектицидов и контрольных ДНК-фрагментов на биологические показатели целевых насекомых-вредителей; исследование влияния ДНК-инсектицидов и контрольных ДНК-фрагментов на биологические показатели зараженных вирусом ядерного полиэдроза особей непарного шелкопряда; установление особенности и специфичности ответа клеток непарного шелкопряда на действие ДНК-инсектицидов и контрольных ДНК-фрагментов; оценка избирательности и экологичности действия ДНК-инсектицидов и контрольных ДНК-фрагментов на нецелевых организмов. С поставленными задачами Оберемок В.В. справился.

Практическая значимость работы. Полученные результаты о влиянии антисмысловых олигонуклеотидов на соотношение полов непарного шелкопряда и дрозофилы и накопление вторичных метаболитов мятой перечной может найти широкое применение в защите растений и культивировании лекарственных и эфиромасличных растений.

Автором опубликовано 50 научных работ, в том числе 21 статья в журналах рекомендуемых ВАК РФ, из них 17 входящих в международную базу данных Scopus.

Научная работа «Экологические основы контроля численности листогрызущих насекомых с применением ДНК-инсектицидов» соответствует требованиям п.9 Положения «О порядке присуждения ученых

степеней», предъявляемым к докторским диссертациям, а её автор Оберемок Владимир Владимирович заслуживает присуждения степени доктора биологических наук по специальностям: 03.02.08 – экология, 06.01.07 – защита растений.

Ведущий научный сотрудник,
зав. лабораторией защита растений,
доктор с.-х. наук

ФГБНУ «ФНЦ им. И.В. Мичурина»



Каширская
Наталья Яковлевна

393774 Тамбовская обл., г. Мичуринск, ул. Мичурина, д. 30
Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Федеральный научный центр имени И.В. Мичурина»
Тел./факс: 8 (47545) 2 07 61
E-mail^ kashirskaya@fnc-mich.ru

О Т З Ы В

на автореферат диссертации 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 (биологические науки) и 03.01.07 – защита растений

Разработка эффективных мер противодействия филлофагам, прежде всего в сельскохозяйственном аспекте, остаётся одной из актуальнейших современных проблем мировой науки. С одной стороны, это обстоятельство связано с необходимостью повышения объёмов производства продовольствия для растущего населения планеты, с другой – с необходимостью максимально щадящего воздействия на экосистемы планеты, ныне испытывающие крайне жёсткий пресс в условиях применения растущего ассортимента биологически агрессивных препаратов неизбирательного действия. В этом контексте представленная работа выглядит не только актуальной, но и действительно лежащей на стыке направлений защиты растений и экологического.

Рассмотренная автором проблематика лежит в плоскости весьма молодого и столь же перспективного направления, разрабатывающего применение в качестве эффективных способов защиты растений принципиально новых специфических инсектицидов на основе фрагментов природных полимеров – нуклеиновых кислот, для которых предполагается минимальный (что, впрочем, требует специального изучения) патогенный эффект в отношении не вредящих культурным насаждениям компонентов сопредельных экосистем.

Уровень научной новизны, а также теоретическое и практическое значение диссертации выглядят более чем убедительно и вполне соответствуют докторским притязаниям соискателя. Несомненно, диссертационный труд вносит существенный вклад в мировую научную базу и высвечивает многообещающие перспективы в практике защиты растений.

Апробация работы и опубликованные труды в столь же очевидной мере заслуживают уважительного отношения и соответствуют уровню докторского исследования. Методы и технологии исследования удачно сочетают стандартные и общепринятые для подобных работ подходы с самыми современными, способствующими, наряду с удачно подобранным математическим аппаратом, несомненной верификации исходных авторских данных.

Знакомство с авторефератом не оставляет сомнений в высоком научном качестве и обоснованности экспериментальных схем, наглядно подтверждающих теоретические положения, вынесенные на защиту и иные соображения диссертанта. Эти обстоятельства и удачно сформированная структура диссертации во многом могут быть признаны образцовыми для подобных исследований. Места для существенных замечаний с учётом естественной лаконичности автореферата, на наш взгляд, знакомство с ним не оставляет. Нельзя не отметить весьма грамотный и академичный стиль изложения, практически не требующий возможного редакционного вмешательства в текст в смысле его улучшения.

Остаётся только пожелать автору удачной защиты и убедительных ответов на вопросы специалистов, в большей степени погружённых в проблематику работы. Выражаем надежду на то, что материалы диссертации найдут своё достойное место в научном сообществе и будут воплощены в практиках современной защиты растений.

Единственный вопрос, остающийся у авторов этого отзыва, заключается в возможности скорого широкомасштабного внедрения изучавшихся инсектицидов с учётом сложности их производства и возможных в этой связи экономических преград.

Принимая во внимание все вышесказанное, считаем, что диссертация Оберемка Владимира Владимировича «Экологические основы контроля численности листогрызущих насекомых с применением ДНК-инсектицидов») полностью соответствует требованиям ВАК РФ и заслуживает присуждения

учёной степени доктора биологических наук по специальностям 03.02.08 – экология (биологические науки) и 03.01.07 – защита растений.

Зав. кафедрой экологии,
ботаники и охраны природы
Самарского национального
исследовательского университета
имени академика С.П. Королева,
профессор, д.б.н.

Л.М. Кавеленова

Профессор кафедры экологии,
ботаники и охраны природы
Самарского национального
исследовательского университета
имени академика С.П. Королева,
д.б.н.

С.А. Сачков



Кавеленова Людмила Михайловна.

Заведующая кафедрой экологии, ботаники и охраны природы Самарского национального исследовательского университета имени академика С.П. Королева.

Доктор биологических наук, профессор.

Докторская диссертация защищена по специальности 03.02.08 – Экология. 443086, г. Самара, ул. Московское шоссе, 34.

Тел.: 8(846) 334-54-43, E-mail: lkavelenova@mail.ru

Сачков Сергей Анатольевич.

Профессор кафедры экологии, ботаники и охраны природы Самарского национального исследовательского университета имени академика С.П. Королева.

Доктор биологических наук, профессор.

Докторская диссертация защищена по специальности 03.02.08 – Экология. 443086, г. Самара, ул. Московское шоссе, 34.

Самарский национальный исследовательский университет имени академика С.П. Королева.

Тел.: 8(846) 334-54-43, E-mail: anapostibes@yandex.ru

Отзыв

на автореферат диссертации Оберемка В.В. на соискание ученой степени доктора биологических наук на тему «**ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ КОНТРОЛЯ ЧИСЛЕННОСТИ ЛИСТОГРЫЗУЩИХ НАСЕКОМЫХ С ПРИМЕНЕНИЕМ ДНК-ИНСЕКТИЦИДОВ**», представленной для защиты по специальностям 03.02.08 – экология (биологические науки) и 06.01.07 – защита растений

Работа В.В. Оберемка на тему «*Экологические основы контроля численности листогрызущих насекомых с применением ДНК-пестицидов*» является важным вкладом в развитие всей системы защиты растений. Актуальность работы состоит в том, что впервые не только разработаны основные принципы получения продуктов амплификации ДНК вирусов ряда листогрызущих насекомых, но и получены первые весьма обнадеживающие практические результаты, полученные также и в полевых условиях.

При проведении исследований автор исходил из новой научной концепции, основанной на том, что в постгеномный период развитие средств и технологий защиты растений сделает возможным получать по сути своей биологические препараты вирусной природы не в живых организмах, а фактически *in vitro*. Работа В.В. Оберемка имеет хорошо проработанный инновационный характер. В ней автором впервые продемонстрирована эффективность контактных ДНК-инсектицидов в регуляции численности непарного шелкопряда на основе коротких антисмысловых фрагментов антиапоптозного IAP-3-гена его вируса ядерного полиэдроза (oligoRING-фрагмент) и гена, кодирующего 5,8S рРНК (oligoRIBO-11-фрагмент).

Впервые обнаружен эффект повышения смертности непарного шелкопряда и шелкопряда-монашенки, заражённых ВЯП НШ и обработанных коротким антисмысловым фрагментом его антиапоптозного IAP-3-гена (oligoRING-фрагмент), что открывает перспективы в плане повышения эффективности действия бакуловирусных препаратов при помощи антисмысловых ДНК-олигонуклеотидов.

Исследования, проведенные автором в рамках достижения цели и задач, поставленных перед диссертационной работой, позволили получить новые для науки результаты, которые очень важны и для практической защиты растений.

Автором установлено, что экспериментальное применение ДНК-пестицидов приводит не только не только к смертности особей, но и более глубоко влияет на особей в популяциях, вызывая изменение соотношения полов и массу самок.

Практическое значение работы станет ясным после системного изучения результатов испытаний предлагаемой технологии применения ДНК-пестицидов, а применение может начаться только после проведения регистрационных испытаний и включения нового препарата в

Государственный каталог пестицидов и агрохимикатов, разрешенных к применению на территории Российской Федерации.

Хочется выразить пожелание автору продолжить исследования и довести его до получения такого препарата, который будет разрешен к практическому применению.

Считаем, что диссертационная работа Владимира Владимировича Оберемка отвечает требованиям, предъявляемым ВАК Российской Федерации к докторским диссертациям, является законченным современным исследованием и ее автор достоин присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальностям 03.02.08 – экология (биологические науки) и 06.01.07 – защита растений.

Директор ФБУ Всероссийский
научно-исследовательский институт
лесоводства и механизации
лесного хозяйства, доктор с.-х. наук

А.А. Мартынюк

Заведующая лабораторией биологических
методов защиты леса ФБУ ВНИИЛМ,
канд. биол. наук

Ю.А. Сергеева

Мартынюк Александр Александрович, директор ФБУ Всероссийский научно-исследовательский институт лесоводства и механизации лесного хозяйства, доктор с.-х. наук по специальности 06.03.03. – Лесоведение и лесоводство, лесные пожары и борьба с ними.

Адрес: 141200, г. Пушкино Московской области, ул. Институтская 15, телефон (985) 270-85-50, e-mail: vniilm_martinuk@mail.ru

Сергеева Юлия Анатольевна, заведующая лабораторией биологических методов защиты леса ФБУ ВНИИЛМ, канд. биол. наук по специальности 03.00.09 – Энтомология.

Адрес: 141200, г. Пушкино Московской области, ул. Институтская 15, телефон: (903) 777-01-73, e-mail: sergeeva@vniilm.ru



О Т З Ы В

На автореферат диссертации Оберемок Владимира Владимировича
«Экологические основы контроля численности листогрызущих насекомых
с применением ДНК-инсектицидов»
на соискание ученой степени доктора биологических наук по
специальностям 03.02.08 – экология (биологические науки) и 06.01.07 –
защита растений

Актуальность темы диссертации обусловлена поиском и разработкой новых средств биологической защиты растений.

Диссертация содержит несомненные научную новизну и практическую значимость. В частности, впервые продемонстрирована эффективность контактных ДНК-инсектицидов в регуляции численности непарного шелкопряда на основе антисмысловых фрагментов антипоптозного IAP-3-гена вируса ядерного полиэдроза. Показана избирательность действия ДНК-инсектицидов для ряда целевых видов.

По теме диссертации опубликовано 50 работ, в том числе 2 главы монографий, 4 патента и 21 статья в изданиях, рекомендованных ВАК РФ, из них 17 статей входят в международную базу Scopus.

В целом, судя по автореферату, диссертация полностью отвечает предъявляемым к ней требованиям, а ее автор, Оберемок Владимир Владимирович заслуживает присвоения ученой степени доктора биологических наук по специальностям 03.02.08 – экология (биологические науки) и 06.01.07 – защита растений

Зам. директора по науке,
зав. лаборатории лесовосстановления,
защиты растений и природопользования
Ботанического сада, д. б. н.

В.И. Пономарев

Подпись В.И. Пономарева подтверждаю
Ученый секретарь Ботанического сада УрО РАН

Е.Н. Флягин

18 сентября 2019 г

Отзыв подготовил: Пономарев Василий Иванович, доктор биологических наук (научная специальность, по которой защищена диссертация: 06.01.11. «Защита растений»), зам. директора по науке, зав. лаборатории лесовосстановления, защиты леса и лесопользования. Россия, 620144 г. Екатеринбург ФГУН Ботанический сад Уральского отделения Российской Академии Наук, ул. 8 Марта, 202а, т. (343) 322 56 27 Email: vi.ponomarev@mail.ru,

ОТЗЫВ

на автореферат диссертации Оберемка В.В. на соискание ученой степени доктора биологических наук на тему «ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ КОНТРОЛЯ ЧИСЛЕННОСТИ ЛИСТОГРЫЗУЩИХ НАСЕКОМЫХ С ПРИМЕНЕНИЕМ ДНК-ИНСЕКТИЦИДОВ», представленной для защиты по специальностям 03.02.08 – экология (биологические науки) и 06.01.07 – защита растений

Рассматриваемая диссертационная работа В.В. Оберемка на тему «Экологические основы контроля численности листогрызущих насекомых с применением ДНК-инсектицидов» основывается на том, что антисмысловые олигонуклеотиды способны играть важную роль регулятора функционирования экосистем и постепенно раскрывают свой потенциал эффективного и безопасного управления ими в целях народного хозяйства, в частности, в защите растений.

Актуальность диссертационной работы заключается в том, что ДНК-инсектициды на основе природных полимеров способны снизить токсикологическую нагрузку на экосистемы, которая сегодня прогрессивно нарастает в результате использования неизбирательных химических инсектицидов.

Первые эксперименты с ДНК-инсектицидами были проведены автором в 2008 году. Идея разработки и применения таких препаратов основывается на постгеномном подходе с использованием посттранскрипционной инактивации экспрессии функционально важных генов с помощью техник применения антисмысловых олигонуклеотидов. Первые эксперименты с ДНК-инсектицидами были проведены на непарном шелкопряде, и в данной работе автор сконцентрировался именно на этом насекомом, продемонстрировав комплексное воздействие ДНК-инсектицидов на клетки вредителя. В диссертационной работе В. В. Оберемка впервые показан эффект повышения смертности непарного шелкопряда и шелкопряда-монашенки, заражённых ВЯП НШ и обработанных коротким антисмысловым фрагментом его антиапоптозного IAP-3-гена (oligoRING-фрагмент), что открывает перспективы в плане повышения эффективности действия бакуловирусных препаратов при помощи антисмысловых ДНК-олигонуклеотидов.

Нужно отметить, что РНК-препараты, разрабатываемые на Западе в последние 10 лет, уступают ДНК-инсектицидам в доступности, так как проявляют инсектицидную активность в значительно более высоких концентрациях. Кроме этого, синтез одноцепочечных фрагментов ДНК на данный момент приблизительно на порядок дешевле, чем синтез РНК-

фрагментов. Нужно также отметить, что технологии синтеза и очистки ДНК-олигонуклеотидов становятся всё менее затратными, что уже сегодня позволяет говорить о перспективности ДНК-инсектицидов.

Очевидно, что автору в будущем стоит поискать более подходящую группу насекомых, на которых ДНК-инсектициды проявят более мощное инсектицидное действие, чем на непарного шелкопряда. Скорее всего ДНК-инсектициды не являются панацеей, однако могут оказаться очень эффективными против определённых групп насекомых. Автору обязательно необходимо довести дело до логического завершения и создать такой первый высокоэффективный препарат.

Считаю, что диссертационная работа Владимира Владимировича Оберемка отвечает требованиям, предъявляемым ВАК Российской Федерации к докторским диссертациям, является законченным современным исследованием и ее автор достоин присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальностям 03.02.08 экология (биологические науки) и 06.01.07 защита растений.

Доктор биологических наук, профессор
Заведующий кафедрой биоэкологии, гигиены и общественного здоровья
ФГБОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет»
Рахимов Ильгизар Ильясович

420008, г. Казань, ул.Кремлевская, д.18
Контактный телефон: 89172726239
e-mail: rakhim56@mail.ru



(подпись)



ОТЗЫВ

на автореферат диссертации
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 (биологические науки) и 06.01.07 – защита растений

Тема, рассмотренная автором, является не просто актуальной для решения современных научных и практических задач, но и инновационной в области защиты растений. Развитие технологий избирательной регуляции численности насекомых, в массе повреждающих растения, не вызывающей при этом токсикологическую гибель других видов в экосистемах, имеет сегодня огромное значение.

В работе четко выделены объект и предмет исследований, цель работы и задачи исследования. Структура работы логична. Диссертационная работа состоит из введения, 7 разделов, заключения, практических рекомендаций, списка литературы; изложена на 259 страницах, проиллюстрирована 83 рисунками, 18 таблицами. В разделе 1 обсуждается состояние изучаемой проблемы применения современных инсектицидов в борьбе против насекомых - вредителей и препаратов на основе нуклеиновых кислот, дается обзор работ по теме диссертации. Раздел 2 посвящен описанию объектов и методов исследования. Автор для анализа использует традиционные методы исследований в экологии, биохимии, гистологии, генетике и обычные статистические показатели. Основу методологии составили ПЦР-анализ и ДНК-синтез. Для создания ДНК-инсектицидов, контрольных ДНК-олигонуклеотидов и праймеров использовали базу данных GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank>). Разделы 3 – 7 выстроены по одинаковому плану и посвящены анализу влияния ДНК-инсектицидов и контрольных ДНК-фрагментов на биологические показатели насекомых-вредителей: смертность, биомассу гусениц и куколок, соотношение полов имаго, скорость развития эмбрионов и др. как для непарного шелкопряда, так и других видов насекомых, безвирусных и зараженных вирусом ядерного полиэдроа.

Судя по автореферату, диссертант самостоятельно разработал концепцию создания ДНК-инсектицидов, провел полевые исследования и лабораторные эксперименты, подготовил практические рекомендации.

В диссертационной работе Владимира Владимировича Оберемка впервые продемонстрирована эффективность контактных ДНК-инсектицидов в регуляции численности непарного шелкопряда на основе коротких антисмысловых фрагментов антиапоптозного IAP-3-гена его вируса ядерного полиэдроа (oligoRING-фрагмент) и гена, кодирующего 5,8S рРНК (oligoRIBO-11-фрагмент). Впервые обнаружен эффект повышения смертности непарного шелкопряда и шелкопряда-монашенки, заражённых ВЯП НШ и обработанных коротким антисмысловым фрагментом его антиапоптозного IAP-3-гена (oligoRING-фрагмент), что открывает перспективы в плане повышения эффективности действия бакуловирусных препаратов при помощи антисмысловых ДНК-олигонуклеотидов.

Собранные в ходе проведения исследований материалы достоверны и представлены в достаточном объеме, полностью соответствуют существующим положениям фундаментальной экологии.

В автореферате отражены все этапы проведенных исследований, присутствуют все необходимые пояснения, в том числе большое количество иллюстраций.

Наиболее важные положения диссертации в достаточной степени апробированы, и опубликованы в 50 работах, в том числе, 2 главы книг, 4 патента и 21 статья в изданиях, рекомендованных ВАК РФ, из них 17 входящих в международную базу данных Scopus.

В диссертации предложены подходы к разработке методики применения контактных ДНК-инсектицидов для контроля численности непарного шелкопряда в лиственных лесах. Безусловно, для практического применения предлагаемой методики необходимо оценить вероятность проникновения раствора ДНК-инсектицидов в организм вредителя, определить необходимые дозы воздействия, выявить устойчивость предлагаемых ДНК-препаратов к факторам окружающей среды: температуре, наличию осадков, освещенности, УФ-излучения и т.п. Тем не менее, работа Владимира Владимировича Оберемка позволяет определить пути дальнейшего исследования предлагаемой методики.

Анализ автореферата Оберемка Владимира Владимировича «Экологические основы контроля численности листогрызущих насекомых с применением ДНК-инсектицидов» позволяет сделать вывод о том, что данная работа является серьезным исследованием, самостоятельным и полноценным научным трудом; диссертационная работа Владимира Владимировича Оберемка отвечает требованиям, предъявляемым ВАК Российской Федерации к докторским диссертациям и ее автор достоин присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальностям 03.02.08 экология (биологические науки) и 06.01.07 защита растений.

Профессор кафедры экологии и природопользования
ФГАОУ ВО «Сибирский федеральный университет», СФУ
доктор сельскохозяйственных наук (03.00.16 - экология)

О.В. Тарасова

Тарасова Ольга Викторовна,
Адрес: Российская Федерация, 660041, г. Красноярск, пр.Свободный, 79
Тел. 8-923-283-20-28
Эл.почта: olvitarasova2010@yandex.ru

Подпись подтверждаю
23.10.2019 г.



ФГАОУ ВО СФУ
Подпись *Тарасова* заверяю
Начальник общего отдела
23 20 19 г.

О Т З Ы В

на автореферат Оберемок В.В. «Экологические основы контроля численности листогрызущих насекомых с применением ДНК-инсектицидов» на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальности 03.02.08 «экология» (биологические науки), 06.01.07 «защита растений»

Одним из важных направлений популяционной экологии является разработка принципов и механизмов, способных обеспечить сохранение биоразнообразия и стабильного состояния природной среды. Одним из актуальных векторов изучения является, поиск избирательных путей контроля численности листогрызущих насекомых, направленные на охрану живой природы, включая как видовой, так и экосистемный уровни. Избирательная регуляция численности видов листогрызущих насекомых на основе природных полимеров способна снизить токсикологическую нагрузку на экосистемы, которая сегодня прогрессивно нарастает в результате использования неизбирательных инсектицидов.

Использование современных химических инсектицидов подвергает людей и окружающую среду большой опасности и экологическим рискам. Таким образом, важным вопросом является разработка препаратов для контроля численности насекомых-вредителей, которые будут безопасными, доступными и одновременно эффективными в долгосрочной перспективе. В данном направлении ведется разработка постгеномного подхода, который основывается на применении фрагментов природных полимеров - нуклеиновых кислот. В частности, разрабатываются контактные ДНК-инсектициды на основе коротких антисмысловых фрагментов генов.

Целью исследований являлось выявление на основе комплексного подхода особенностей влияния коротких антисмысловых фрагментов антиапоптозных генов и гена, кодирующего 5,8S рРНК, на насекомых и нецелевые организмы для разработки фундаментальных основ действия антисмысловых олигонуклеотидов на насекомых и создания ДНК-инсектицидов с высоким уровнем экологичности.

Научная новизна работы состояла в том, что впервые продемонстрирована эффективность контактных ДНК-инсектицидов в регуляции численности непарного шелкопряда на основе коротких антисмысловых фрагментов антиапоптозного IAP-3-гена его вируса ядерного полиэдроза (oligoRING-фрагмент) и гена, кодирующего 5,8S рРНК (oligoRIBO-11-фрагмент). Показана избирательность действия ДНК-инсектицидов для ряда нецелевых организмов. Впервые обнаружен эффект повышения смертности непарного шелкопряда и шелкопряда-монашенки, заражённых ВЯП НШ и обработанных коротким антисмысловым фрагментом его антиапоптозного IAP-3-гена (oligoRING-фрагмент), что открывает перспективы в плане повышения эффективности действия бакуловирусных препаратов при помощи антисмысловых ДНК-олигонуклеотидов.

Результаты исследований имеют большую теоретическая и практическую значимость. На основании лабораторных и полевых экспериментов были получены новые представления, результаты и выводы, позволяющие расширить спектр безопасных подходов к контролю численности листогрызущих насекомых.

В целом, разработанные ДНК-инсектициды показали возможность управления экосистемами при помощи антисмысловых олигонуклеотидов в целях народного хозяйства и заложили основу создания препаратов с высоким уровнем экологичности.

Полученные результаты о влиянии антисмысловых олигонуклеотидов на соотношение полов непарного шелкопряда и дрозодилы и накопление вторичных метаболитов мятой перечной может найти самое широкое применение в защите растений

ОТЗЫВ

на автореферат Оберемка Владимира Владимировича
«Экологические основы контроля численности
листогрызущих насекомых с применением ДНК-инсектицидов»,
представленный на соискание ученой степени
доктора биологических наук по специальностям
03.02.08 – экология (биологические науки),
06.01.07 – защита растений

Разработка препаратов на основе природных полимеров, таких, например, как нуклеиновые кислоты, чрезвычайно актуальна особенно в контексте экологической безопасности.

Оберемок В.В. исследовал влияние ДНК-инсектицидов на биологические показатели зараженных вирусом ядерного полиэдроза особей непарного шелкопряда (ВЯП НШ). Он впервые научно обосновал и экспериментально подтвердил эффективность контактных ДНК-инсектицидов в регуляции численности непарного шелкопряда на основе коротких антисмысловых фрагментов антиапоптозного IAP-3-гена вируса ядерного полиэдроза и гена, кодирующего 5,8s РНК (oligoRIBO-1-фрагмент).

Автор впервые обнаружил IAP-Z-ген, обладающий высокой степенью схожести с антиапоптозным IAP-3-геном ВЯП НШ, пригодный для создания ДНК-инсектицидов и показал на примере oligoRIBO-11-фрагмента, что достоверным инсектицидным эффектом могут обладать и очень короткие антисмысловые фрагменты длиной 11 нуклеотидов.

Автором впервые продемонстрировано повышение смертности непарного шелкопряда и шелкопряда-монашенки, заражённых ВЯП НШ и обработанных коротким антисмысловым фрагментом его антиапоптозного IAP-3-гена (oligoRIBO-11-фрагмент), что представляется перспективным в повышении эффективности бакуловирусных препаратов путём использования антисмысловых ДНК-олигонуклеотидов, что в свою очередь позволяет говорить о безопасных, экологически выверенных, способах контроля численности листогрызущих насекомых, поскольку такие ДНК-инсектициды, как oligoRING-инсектицид и oligoRIBO-инсектицид могут найти своё широкое применение в контроле численности непарного шелкопряда.

Оберемок В.В. впервые показал избирательность действия ДНК-инсектицидов для ряда нецелевых организмов. Автором дан анализ действия антисмысловых олигонуклеотидов на целевые и нецелевые организмы с целью эколого-биологической оценки их действия, при этом им осуществлено использование ДНК-инсектицидов в комплексных лабораторных и полевых условиях.

Таким образом, в диссертационной работе Оберемка В.В. получила развитие оригинальная идея создания ДНК-инсектицидов в качестве нового конструктивного биотехнологического подхода в решении важных народнохозяйственных задач, предполагающего высокую экологическую безопасность.

Основные положения диссертационной работы апробированы на 23 международных, научных и научно-практических конференциях. По теме диссертации опубликовано 50 работ, 21 из которых в изданиях, рекомендованных ВАК РФ и 17, входящих в международную базу данных Scopus. Автором получено 4 патента.

Диссертационная работа Оберемка В.В. является объёмным самостоятельным исследованием актуальной научной проблемы, имеющей высокое теоретическое и прикладное значение. Автореферат и публикации полностью отражают содержание диссертации.

Диссертационная работа Оберемка В.В. соответствует всем требованиям, предъявляемым к докторским диссертациям, а ее автор – Оберемок Владимир Владимирович заслуживает присуждения искомой ученой степени доктора биологических наук по специальностям: 03.02.08 – экология (биологические науки) и 06.01.07 – защита растений

Хасанова Зилара Муллаяновна

Доктор биологических наук, профессор кафедры биоэкологии и биологического образования, руководитель магистратуры «Менеджмент в биотехнологии» БГПУ им. М.Акмуллы, член-корреспондент Академии наук Республики Башкортостан, Академик Международной академии аграрного образования



Zilara

Подпись: *З. М. Хасановой*
Заверяю: Начальник отдела документационного обеспечения
ФГБОУ ВО «БГПУ им. М.Акмуллы» *И. В. Золотухина*

Хасанова Лилия Анасовна

Доктор биологических наук, профессор кафедры биоэкологии и биологического образования, руководитель магистратуры «Биотехнология и управление качеством биотехнологической продукции» БГПУ им. М.Акмуллы

Liliya

Подпись: *Л. А. Хасановой*
Заверяю: Начальник отдела документационного обеспечения
ФГБОУ ВО «БГПУ им. М.Акмуллы» *И. В. Золотухина*

450000 Республика Башкортостан, Уфа-центр, ул. Октябрьской революции, 3а,
Башкирский государственный педагогический университет им. М.Акмуллы,
естественно-географический факультет, кафедра биоэкологии и биологического образования, тел: +7 347 246 65 11; +7 917 747 70 09
e-mail: lisa2177@yandex.ru

Отзыв

на автореферат **Оберемок Владимира Владимировича** на тему «Экологические основы контроля численности листогрызущих насекомых с применением ДНК-инсектицидов», представленную на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальностям:

03.02.08- Экология (биологические науки)

06.01.07 –Защита растений

На современном этапе развития защиты растений биоэкологический подход является все более актуальным в построениях систем защитных мероприятий.

Одним из экологических направлений в настоящее время является разработка и создание препаратов для снижения численности популяций насекомых-вредителей сельскохозяйственных культур на основе применения фрагментов природных полимеров – нуклеиновых кислот.

В связи с этим, большая исследовательская работа Оберемок В.В., цель которой состояла в выявлении влияния антисмысловых фрагментов генов и гена, кодирующего РНК, на насекомых для создания ДНК-инсектицидов, характеризующихся высокой экологичностью, является актуальной.

Для решения этого многогранного вопроса, автором поставлены и решены задачи с использованием, как общепринятых методов генетики, экологии и других направлений, так и новейшие разработки в данном направлении. Основные методологические разработки выполнены с использованием информативных на клеточном уровне ПЦР-анализе и ДНК-синтезе, часть из которых разработаны автором диссертации и используются другими исследователями в России и за рубежом.

Оберемок В.В. впервые установил положительное действие ДНК-инсектицидов на повышение не только смертности гусениц непарного шелкопряда, но и уменьшение биомассы насекомого, количество самок в потомстве и закрепление этого влияния на следующую генерацию насекомых.

Методом ПЦР анализов со специфическими праймерами показана более высокая эффективность ДНК-инсектицидов против личинок вредителя

по сравнению с РНК-препаратами. Автором также установлено отрицательное действие на личинок близкородственных чешуекрылых, но не обнаружено такого эффекта на личинок из отрядов жесткокрылых и двукрылых.

В процессе исследований выявлено, что обработка многими фрагментами ДНК – лестницы выявила только два из них, вызывающих основные механизмы гибели клеток насекомого: апоптоз (oligoRING-фрагмент) и снижение уровня биосинтеза белка (oligoRIBO-фрагмент). Автором получены данные, которые позволят контролировать численности вредителей по-новому, а также использовать данный подход в вопросах решения резистентности насекомых к препаратам.

Диссертантом приведены подробные практические рекомендации по синтезу и использованию ДНК-инсектицидов против популяций непарного шелкопряда в лиственных лесах.

Представленное исследование является вполне завершенным научным трудом, выполненным автором на высоком научно-методическом уровне, имеющим высокую степень актуальности, научной новизны, практической значимости, достоверности и обоснованности полученных результатов и выводов.

Основные положения работы опубликованы в 50 научных работах и 2 монографиях, содержания которых показывает, что исследования проводились лично автором на протяжении более 9 лет. Автором получено 4 патента на изобретения по теме диссертации.

Результаты данной работы докладывались на многочисленных форумах, съездах, конференциях как в России, так и за рубежом. Работа выполнена на высоком научно-методическом уровне, автором исследовались методы и методики, применяемые в генетике, экологии, биохимии, энтомологии, гистологии что характеризует диссертанта, как разностороннего и подготовленного специалиста, в том числе и для совместных работ в международных исследованиях.

В автореферате имеются некоторые опечатки, неточности, которые не снижают ценности представленной работы:

Считаем, что представленная работа соответствует требованиям, предъявляемым к докторским диссертациям (п.п. 9-11, 13, 14 «Положение о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства России №842 от 24.09.2013 г.), а ее автор, **Оберемок Владимир Владимирович**, заслуживает присуждения учёной степени доктора биологических наук по специальностям: 03.02.08 – Экология (биологические науки) и 06.01.07 Защита растений.

Заведующий лабораторией иммунитета и защиты растений, канд. с.-х. наук по специальности 06.01.09 – растениеводство (1994), ФГБНУ «Аграрный научный центр «Донской»

Шишкин

Николай Васильевич

Ведущий научный сотрудник лаборатории иммунитета и защиты растений, ФГБНУ «Аграрный научный центр «Донской»

Дерова

Татьяна Григорьевна

Подписи Шишкина Н.В. и Деровой Т.Г. заверяю: ученый секретарь, канд. с.-х. наук, ФГБНУ «Аграрный научный центр «Донской»



Гуреева

Алла Владимировна

Почтовый адрес: 347740, Ростовская область, г. Зерноград, Научный городок, д. 3. Тел./факс: (86359) 43-3-82, 43-0-63, 42-5-96, 41-4-68.

E-mail: vniizk30@mail.ru

Отзыв

на автореферат диссертации «Экологические основы контроля численности листогрызущих насекомых с применением ДНК-инсектицидов», представленной Оберемок Владимиром Владимировичем на соискание ученой степени доктора биологических наук по специальностям
03.02.08 Экология (биологические науки)
06.01.07 Защита растений

Начиная с середины XX века в значительной степени возросло антропогенное воздействие на биосферу в связи с интенсивным использованием средств химизации и защиты растений в сельскохозяйственном производстве. В последние десятилетия защитные мероприятия проводятся и в лесном хозяйстве. В результате происходит повсеместное загрязнение природных сред остаточными количествами пестицидов, что представляет угрозу живому веществу всех уровней организации. В связи с этим тема исследований является актуальной, поскольку, в конечном итоге, направлена на сохранение биоразнообразия как основы стабильности экосистем и разработку экологически безопасных способов защиты растений от насекомых-вредителей на молекулярном уровне. Это глубокие фундаментальные исследования мирового значения.

С поставленными задачами диссертант справился успешно. Полностью раскрыты положения, выносимые на защиту. Выводы соответствуют поставленным задачам и обоснованы экспериментальным материалом. Исследования выполнены на высоком методическом уровне с использованием современных инструментальных методов.

По результатам исследований опубликована 21 научная статья в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК РФ, в т.ч. 17 в изданиях, входящих в международную базу данных Scopus, что еще раз подчеркивает научную, теоретическую и практическую значимость исследований. Научные по-

ложения, выносимые на защиту, полностью отражены в опубликованных работах. Автором получено 4 патента на изобретения.

В автореферате достаточно полно и логично отражены актуальность, новизна, теоретическая и практическая значимость, а также содержание диссертации. Основные положения диссертационной работы широко апробированы на многочисленных Всероссийских и международных конференциях. Актуальность работы подтверждается конкурсной поддержкой исследований.

Считаю, что представленная диссертация является завершенной научно-исследовательской работой на актуальную тему, которая по уровню проведенных исследований и полученным результатам полностью соответствует требованиям, предъявляемым к докторским диссертациям (пп. 9-11, 13, 14 «Положение о присуждении ученых степеней», утвержденное Постановлением Правительства России № 842 от 24.09.2013 г.), а её автор, Оберемок Владимир Владимирович, заслуживает присуждения ученой степени доктора биологических наук по специальностям 03.02.08 Экология (биологические науки) и 06.01.07 Защита растений.

Доктор сельскохозяйственных наук (03.02.04 Биологические ресурсы, 2016),
доцент, с.н.с., заведующая кафедрой защиты растений и экотоксикологии
ФГБОУ ВО Орловский ГАУ Резвякова Светлана Викторовна
12.09.2019

Федеральное государственное бюджетное учреждение высшего образования
«Орловский государственный аграрный университет имени Н.В. Парахина»
(ФГБОУ ВО Орловский ГАУ).

302019 г. Орел, ул. Генерала Родина, 69. Телефон 8-953-814-5489.

E-mail: lana8545@yandex.ru

