

На правах рукописи



Гальчинский Никита Витальевич

**БИОЛОГИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ РАЗРАБОТКИ И ПРИМЕНЕНИЯ
ИННОВАЦИОННЫХ ОЛИГОНУКЛЕОТИДНЫХ ИНСЕКТИЦИДОВ
ДЛЯ БОРЬБЫ С НАСЕКОМЫМИ-ВРЕДИТЕЛЯМИ ИЗ ПОДОТРЯДА
ГРУДОХОБОТНЫХ (HEMIPTERA: STERNORRHYNCHA)**

Специальность 4.1.3. Агрехимия, агропчоведение,
защита и карантин растений (сельскохозяйственные науки)

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата сельскохозяйственных наук

Симферополь – 2026

Диссертационная работа выполнена на кафедре общей биологии и генетики Института биохимических технологий, экологии и фармации ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского».

Научный руководитель: **Оберемок Владимир Владимирович**, доктор биологических наук, доцент, заведующий кафедрой общей биологии и генетики, ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», Институт биохимических технологий, экологии и фармации

Официальные оппоненты: **Карпун Наталья Николаевна**, доктор биологических наук, доцент, главный научный сотрудник отдела защиты растений, федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Федеральный исследовательский центр “Субтропический научный центр Российской академии наук”»

Долгих Вячеслав Васильевич, доктор биологических наук, руководитель лаборатории молекулярной защиты растений, федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений»

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный научный центр биологической защиты растений»

Защита диссертации состоится «23» апреля 2026 года в «12:00» часов на заседании диссертационного совета 35.2.008.03, созданного на базе федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Воронежский государственный аграрный университет имени императора Петра I» по адресу: 394087, г. Воронеж, ул. Мичурина, 1, ауд. 149.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО «Воронежский государственный аграрный университет имени императора Петра I», на сайте: <https://ds.vsau.ru/>, с авторефератом – на сайте ВАК Министерства образования и науки РФ www.vak.minobrnauki.gov.ru и ВГАУ www.ds.vsau.ru.

Автореферат разослан «17» февраля 2026 года.

Отзывы на автореферат в двух экземплярах, заверенные и скрепленные гербовой печатью организации, просим направить ученому секретарю диссертационного совета.

Ученый секретарь
диссертационного совета



Высоцкая Е. А.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Лавр благородный (*Laurus nobilis* L.) – это вечнозелёное дерево или кустарник, которое широко используется в сельском хозяйстве во многих странах мира (Paparella et al., 2022). На территории России лавр произрастает и возделывается в юго-западных районах Краснодарского края, в Крыму (Насухова и др., 2017). Данное растение выращивают как пряно-ароматическую и эфиромасличную культуру (Насухова и др., 2017; Paparella et al., 2022). Однако выращивание лавра может быть осложнено вредителями, такими как представители подотряда грудохоботных (Sternorrhyncha) отряда полужесткокрылых (Hemiptera), что снижает товарный вид и качество продукции. Данные насекомые-вредители являются фитофагами мелких размеров (Drohojowska et al., 2020) и переносчиками фитопатогенов, таких как вирусы растений (Payton et al., 2018; Gadhave et al., 2020; Misaka et al., 2020; Saurabh et al., 2021), имеющими большое экономическое и экологическое значение для сельского и лесного хозяйства. Основными вредителями лавра благородного являются такие виды как лавровая щитовка *Aonidia lauri* Bouche, британская щитовка *Dynaspidiotus britannicus* Newstead, мягкая ложнощитовка *Coccus hesperidum* L., японская восковая ложнощитовка *Ceroplastes japonicus* Green, лавровая белокрылка *Trialeurodes lauri* Sign. и лавровая листоблошка *Trioza alacris* Flor. (Трикоз, 2017), которые относятся к надсемействам кокцидовые (Coccoidea), белокрылковые (Aleyrodoidea) и псиллидам (Psylloidea) (Szwedo et al., 2016; Hardy et al., 2018; Drohojowska et al., 2020). Склонность к инвазии наряду с их узкоспециализированными морфологическими и физиологическими адаптациями делает данные виды грудохоботных проблематичными для сельскохозяйственных и лесных систем (Drohojowska et al., 2020). Вредоносность некоторых представителей грудохоботных обходится дорого, поскольку приводит к потере урожая от 50 до 100% (Navas-Castillo et al., 2011; Villanueva et al., 2014; Bowling et al., 2016; Saurabh et al., 2021; del Pino et al., 2021; Mwanauta et al., 2022).

В настоящее время для ограничения популяций на лавре благородном данных видов вредных фитофагов широко используются химические инсектициды (Трикоз, 2017; Sharma et al., 2019; Jaffar et al., 2022). К сожалению, использование большинства инсектицидов представляет угрозу для окружающей среды и здоровья человека (Grewal et al., 2017; Gagic et al., 2017; Klich et al., 2020; Kalyabina et al., 2021; Alengebawu et al. 2021; Pathak et al., 2022). Следует отметить, что эволюция химических инсектицидов от хлорорганических и фосфорорганических инсектицидов к неоникотиноидам и диамидам сопровождается появлением более высокой селективности действия инсектицидов (Umetsu et al., 2020). Однако современный уровень обеспечения продовольственной безопасности современными инсектицидами для сельскохозяйственных культур пока недостаточен, что побуждает к поиску новых классов инсектицидов.

Сегодня в качестве альтернативы химическим инсектицидам (Tien et al., 2018; Casida et al., 2018; Camacho-Pérez et al., 2022; Hodoşan et al., 2023; Du and Fu, 2023) и препаратам, разрабатываемым западными и отечественными учёными на основе

двухцепочечной РНК – РНК-инсектицидам (Журавлев и др., 2022; Конарев, 2023; Долгих и др., 2025; Grizanova et al., 2021; Zhang et al., 2022; Pallis et al., 2023; Cedden et al., 2024; Narva et al., 2025), создаются препараты следующего поколения, действующим веществом которых являются немодифицированные антисмысловые ДНК-олигонуклеотиды – олигонуклеотидные инсектициды (олинциды) (Патент..., 2008; Oberemok et al., 2017; Oberemok et al., 2019a; Ниадар и Разо, 2019; Плугатарь и др., 2021; Новиков и др., 2022; Андреева и др., 2024; Useinov et al., 2020; Puzanova et al., 2023; Gavrilova et al., 2025). Позднее некоторые зарубежные учёные также подхватили данную идею и начали использовать как немодифицированные, так и модифицированные антисмысловые ДНК-олигонуклеотиды в практике защиты растений, а также для фундаментальных исследований на вредителях (Hunter et al., 2021; Sandoval-Mojica et al., 2021; Priti, Mukherjee et al., 2022). Данные инновационные препараты являются высокоэффективными, экологичными, проявляют гибкость к устойчивости со стороны сайта-мишени вредителя, а их структура быстро биоразлагается (Oberemok et al., 2019a; Puzanova et al., 2023). Разработка и применение таких препаратов на основе нуклеиновых кислот позволит повысить продовольственную безопасность, в частности, нашей страны, а также вести органическое сельское хозяйство и получать органическую продукцию (Распоряжение Правительства РФ от 04.07.2023 N 1788-р (ред. от 08.05.2025)).

Степень разработанности темы исследования. Самые ранние научные работы посвящены олигонуклеотидным инсектицидам на основе антиапоптозных генов, нацеленным на мРНК. Такие инсектициды имеют длину 18–20 нуклеотидов (нт) и показали свою эффективность на личинках непарного шелкопряда *Lymantria dispar* L. (Lepidoptera: Erebidae) как зараженных, так и незараженных бакуловирусом (Патент..., 2008; Mutah and Adesoji, 2017; Oberemok et al., 2017). Начиная с 2019 года, было обнаружено, что подотряд грудохоботных отряда полужесткокрылых очень восприимчив к олигонуклеотидным инсектицидам длиной 11 нт. Мишенью для данных инсектицидов является рРНК вредителей (Useinov et al., 2020). Пре-рРНК и рРНК составляют 80% всех РНК в клетке (Warner, 1999), что делает их удобной мишенью для действия препаратов на основе антисмысловых олигонуклеотидов и позволяет существенно увеличить соотношение сигнал/шум до примерно $10^5:1$ по сравнению с использованием какой-либо рандомной мРНК, которые суммарно составляют лишь 5% всех РНК. На сегодняшний день олигонуклеотидные инсектициды хорошо себя проявили, воздействуя на 18S рРНК мучнистого червеца *Pseudococcus viburni* Signoret (Новиков и др. 2022), митохондриальную 16S рРНК кровяной тли *Eriosoma lanigerum* Hausmann (Андреева и др., 2024) и внутренний транскрибируемый спейсер (ITS2) пре-рРНК хризантемовой тли *Macrosiphoniella sanborni* Gillette (Puzanova et al., 2023), вызывая гибель от 80 до 100% насекомых в течение 3-14 суток.

Несмотря на обширный экспериментальный материал и исследования, касающиеся проявления инсектицидных свойств контактных олинцидов, мишенью для которых является рРНК гусениц непарного шелкопряда (Oberemok et al., 2019a), мучнистого червеца (Новиков и др., 2022) и тлей (Андреева и др., 2024;

Puzanova et al., 2023), сведения относительно эффективности контактных олинцидов, нацеленных на 28S рРНК лавровой щитовки, британской щитовки, мягкой ложнощитовки, японской восковой ложнощитовки, австралийского желобчатого червеца и лавровой листоблошки, а также ITS2 *T. alacris*, отсутствуют. Особенно актуальным при использовании 28S рРНК в качестве мишени является то, что она наиболее длинная рРНК (~3900 нт) из всех рРНК в клетке и на ее основе можно создавать практически бесконечный репертуар олинцидов против вредителей из подотряда грудохоботных. Поэтому разработка эффективных и безопасных контактных олинцидов для снижения плотности популяций данных полифагов и снижения их вредоносности сельскохозяйственным культурам, таким как лавр благородный, является актуальной для повышения продовольственной безопасности в Российских регионах, в частности, Республике Крым.

Цель исследования – биологическое и экотоксикологическое обоснование разработки и применения новых контактных олигонуклеотидных инсектицидов для защиты растений в сельском и лесном хозяйствах с продвинутыми экологическими характеристиками (быстрая биоразлагаемость и избирательность в действии) против щитовок, ложнощитовок, гигантских червецов и псиллид.

Задачи исследования:

- установить биологическую эффективность применения олигонуклеотидных инсектицидов с учетом генетической изменчивости 28S рРНК отдельных популяций насекомых-вредителей;
- изучить избирательность действия олигонуклеотидных инсектицидов с применением нуклеотидных замен;
- определить особенности и специфичность действия олигонуклеотидных инсектицидов и контрольных ДНК-олигонуклеотидов на молекулярно-генетическом уровне на целевые организмы;
- оценить скорость биоразлагаемости олигонуклеотидных инсектицидов.

Научная новизна. Результаты диссертационной работы впервые продемонстрировали высокую биологическую эффективность и экологическую безопасность контактных олигонуклеотидных инсектицидов ЛАУРИ-11, БРИТ-11, КОККУС-11, ЯВОЛ-11, АВЖЕЧ-11 и АЛАКРИС-11, мишенью для которых являются 28S рРНК. Для ЛАУРА-11 мишенью является ITS2 пре-рРНК, на насекомых-вредителях из подотряда грудохоботных. На представителях подотряда грудохоботных впервые обнаружены некоторые паттерны механизма ДНК-сдерживания (ДНКс), состоящего из двух этапов: на первом этапе происходит остановка функции рРНК при помощи олигонуклеотидных инсектицидов, приводящая к гиперкомпенсации; на втором этапе происходит ферментативное расщепление рРНК с помощью РНКазы Н. На примере олигонуклеотидного инсектицида БРИТ-11 показано, что замена одного нуклеотида в 1-й (5'-конец), 6-й и 11-й (3'-конец) позициях приводит к снижению его биологической эффективности. Получены новые знания, свидетельствующие о том, что для щитовок комплементарность 3'-концевого нуклеотида к целевой 28S рРНК наиболее важна для выраженного инсектицидного эффекта. Показано, что между олигонуклеотидными

инсектицидами и несовершененно комплементарными участками 28S рРНК нецелевых насекомых-вредителей могут происходить неканонические спаривания оснований (известные и для других биологических систем), которые в итоге приводят к гибели насекомого, что должно учитываться при разработке избирательно действующих препаратов.

Теоретическая и практическая значимость работы. Полученные в ходе выполнения лабораторных и полевых экспериментов результаты и выводы, заложили основу создания экологически оптимизированных препаратов и дают основания рекомендовать применение олигонуклеотидных инсектицидов против щитовок, ложнощитовок, гигантских червецов и псиллид для защиты сельскохозяйственных, лесных и декоративных растений (после их регистрации).

Методология и методы исследований. Выполнение поставленных задач стало возможным благодаря общепринятым методам молекулярной биологии, генетики, экологии, аналитической и органической химии. Основой методологии данного исследования стали фосфорамидитный метод синтеза ДНК, ДНК-секвенирование и ПЦР-анализ в реальном времени.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Избирательный контроль с нанесением минимального вреда нецелевым организмам и снижением жизнеспособности целевых насекомых-вредителей (лавровая щитовка, британская щитовка, мягкая ложнощитовка, японская восковая ложнощитовка, австралийский желобчатый червец и лавровая листовлошка) происходит посредством контактного применения 1 мг/м² олигонуклеотидных инсектицидов на листья растений, содержащих вредителей.

2. В последовательности олигонуклеотидного инсектицида БРИТ-11 замена одного нуклеотида в 1-й (5'-конец), 6-й и 11-й (3'-конец) позициях приводит к снижению биологической эффективности олигонуклеотидного инсектицида БРИТ-11. Комплементарность 3'-концевого нуклеотида к целевой 28S рРНК наиболее важна для выраженного инсектицидного эффекта (значимость замен нуклеотидов для инсектицидного эффекта: 5' < (6) < 3').

3. Основным специфическим механизмом действия, приводящим к гибели клеток насекомых (личинки лавровой щитовки, британской щитовки, мягкой ложнощитовки, японской восковой ложнощитовки, австралийского желобчатого червеца и лавровой листовлошки), является механизм ДНК-сдерживания. Механизм состоит из двух этапов: первый этап – гиперкомпенсация рРНК; второй этап – деградация рРНК при участии РНКазы H и запускается олигонуклеотидными инсектицидами ЛАУРИ-11, БРИТ-11, КОККУС-11, ЯВОЛ-11, АВЖЕЧ-11 и АЛАКРИС-11.

4. Разработанные олигонуклеотидные инсектициды против лавровой щитовки (ЛАУРИ-11), британской щитовки (БРИТ-11), японской восковой ложнощитовки (ЯВОЛ-11), австралийского желобчатого червеца (АВЖЕЧ-11), обладают высокой скоростью биоразлагаемости.

Достоверности результатов исследований. Проведен большой объём полевых и лабораторных исследований. В работе применены стандартные

статистические методы обработки и анализа полученных данных в программах Microsoft Excel и Statistica, которые обеспечивают достоверность результатов и обоснованность выводов. Средние значения и их погрешности указаны в графиках и таблицах.

Публикации результатов исследований. Все представленные полученные результаты в диссертационной работе были описаны и опубликованы в 23 научных работах: 4 – в изданиях из рекомендуемого перечня ВАК РФ, 9 – в изданиях, входящих в международную базу данных Scopus и Web of Science, 1 патент, а также 9 работ по материалам научных конференций – в международных и отечественных журналах и сборниках.

Апробация результатов исследований. Основные положения диссертационного исследования обобщены и очно доложены, а также обсуждены на конференциях различного уровня: научно-практической конференции профессорско-преподавательского состава, аспирантов, студентов и молодых ученых «Дни науки Крымского федерального университета имени В.И. Вернадского» (г. Симферополь, 2017 и 2018 гг.); XX Международном конгрессе по защите растений (г. Афины, 2024 г.); X Всероссийской научно-практической конференции «Инновационные направления и методы исследований в области генетики, биотехнологии, селекции, семеноводства, размножения и защиты сельскохозяйственных, садовых и лесных древесных растений» (г. Ялта, пгт. Никита, 2024 г.); XII Международной научно-практической конференции «Биологическая защита растений – основа стабилизации агроэкосистем» (г. Краснодар, 2024 г.); XI Всероссийской научно-практической конференции «Инновационные методы исследования в области генетики, биотехнологии, селекции, семеноводства, лесоагротелиорации и защиты растений» (г. Ялта, пгт. Никита, 2025 г.); Международной научно-практической конференции молодых ученых и специалистов «Инновационные технологии и технические средства для АПК» (г. Воронеж, 2025 г.).

Личный вклад автора. Соискателем разработаны схемы проводимых исследований. Автором проведён аналитический обзор данных международных и отечественных литературных источников, выполнены лабораторные и полевые исследования, проведена статистическая обработка данных, обобщение и анализ полученных данных, сформированы выводы, опубликованы основные положения работы, а также подготовлены диссертация и автореферат.

Объём и структура диссертации. Диссертационная работа изложена на 179 страницах, проиллюстрирована 25 рисунками, содержит 9 таблиц, 9 приложений. Работа состоит из введения, 5 разделов, заключения, включающего выводы и практические рекомендации. Список литературы составляет 323 источника.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

РАЗДЕЛ 1 ИНСЕКТИЦИДЫ НА ОСНОВЕ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ В СЕЛЬСКОМ И ЛЕСНОМ ХОЗЯЙСТВАХ (АНАЛИТИЧЕСКИЙ ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

В обзоре литературы раскрывается и обосновывается необходимость создания препаратов природного происхождения с высокой степенью экологичности для сельского и лесного хозяйства. Показаны преимущества олигонуклеотидных инсектицидов, основанных на ДНК-программируемой защите растений.

РАЗДЕЛ 2 УСЛОВИЯ, ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Проводились исследования в период с 2017 по 2024 гг., в лаборатории молекулярной генетики и биотехнологий, которая расположена на кафедре общей биологии и генетики в Институте биохимических технологий, экологии и фармации (ИБТЭФ) «КФУ имени В.И. Вернадского», на опытных участках насаждений лавра благородного *Laurus nobilis* L., падуба остролистного *Ilex aquifolium* L., и смолосемянника обыкновенного *Pittosporum tobira* (Thunb.) W.T. Aiton Никитского ботанического сада.

Объектами исследования являлись популяции насекомых-вредителей: лавровой щитовки *Aonidia lauri* Bouche (Hemiptera: Diaspididae), британской щитовки *Dynaspidotus britannicus* Newstead (Hemiptera: Diaspididae), мягкой ложнощитовки *Coccus hesperidum* L. (Hemiptera: Coccidae), японской восковой ложнощитовки *Ceroplastes japonicus* Green (Hemiptera: Coccidae), австралийского желобчатого червеца *Icerya purchasi* Maskell (Hemiptera: Margarodidae) и лавровой листоблошки *Trioza alacris* Flor (Hemiptera: Triozidae). Также исследовались одноцепочечные фрагменты генов, кодирующих 28S рРНК и внутренний транскрибируемый спейсер (ITS2) пре-рРНК.

Для создания уникальных видоспецифичных олигонуклеотидных инсектицидов и праймеров были самостоятельно разработаны нуклеотидные последовательности. В качестве основы использовались геномные последовательности насекомых, доступные в базе данных GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank>). Синтез олигонуклеотидных инсектицидов и контрольных олигонуклеотидов осуществлялся на синтезаторе ДНК/РНК ASM800ЕТ (БИОССЕТ, Новосибирск, Россия).

Подсчет насекомых производился с помощью микроскопа Nikon SMZ745 и камеры Tourcam cmos 5100 кра для фотографирования насекомых. Выделение РНК из тканей насекомых (30–40 мг) проводили в соответствии с рекомендуемыми инструкциями производителя, при помощи набора "ExtractRNA" (Евроген, Москва, Россия).

Количественную ПЦР в реальном времени проводили с флуоресцентным красителем SYBR Green I. Анализ изменения экспрессии генов с использованием красителя SYBR Green I проводили по методике Бустин, Мюллер (Bustin and Muller, 2005). ПЦР-продукты (ампликоны) очищали с использованием коммерческого набора

Cleanup S-Cap (Евроген, Москва, Россия). Ампликоны секвенировали в обоих направлениях на капиллярном ДНК-секвенаторе НАНОФОР-05 (Синтол, Москва, Россия). ДНК была проанализирована при помощи программы BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>; Zhang et al., 2000) и ClustalW 2.0.3 (Thompson et al., 1994). Эксперименты были проведены в 3-х повторностях.

РАЗДЕЛ 3 БИОЛОГИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ОЛИГОНУКЛЕОТИДНЫХ ИНСЕКТИЦИДОВ НА ОСНОВЕ АНТИСМЫСЛОВЫХ ФРАГМЕНТОВ, КОМПЛЕМЕНТАРНЫХ 28S РИБОСОМАЛЬНОЙ РНК И ITS2-УЧАСТКАМ ПРЕ-РРНК

3.1 Биологическая эффективность олигонуклеотидного инсектицида КОККУС-11 в отношении личинок мягкой ложнощитовки. В данном исследовании контактный олигонуклеотидный инсектицид КОККУС-11 (5'-ССА-ТСТ-ТТС-GG-3') в концентрации 100 нг/мл продемонстрировал высокую эффективность против личинок *C. hesperidum* уже на вторые сутки, вызывая значительную смертность ($53,53 \pm 9,99\%$; $p < 0,01$). (Рисунок 1, а).

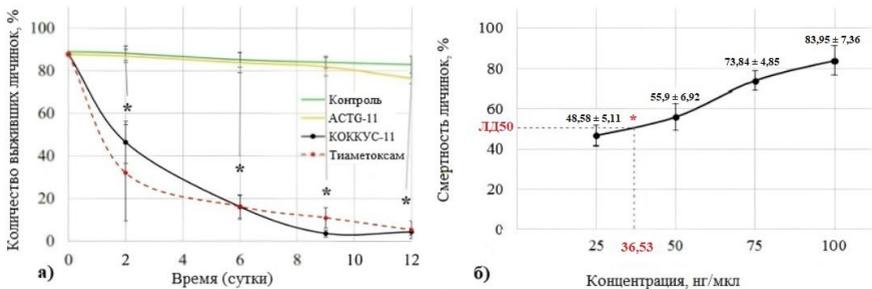


Рисунок 1 – Влияние одноцепочечного олигонуклеотидного инсектицида КОККУС-11 на личинки *C. hesperidum*. Личинки были обработаны контактно олинцидом (КОККУС-11), коммерческим неоникотиноидным инсектицидом Тиаметоксамом, контрольным ДНК-олигонуклеотидом АСТГ-11 (АСТГ-11) и водой (Контроль): а) динамика смертности вредителя; б) кривая зависимости доза-эффект для КОККУС-11 (6-е сутки эксперимента); ЛД₅₀ обозначена красной звездочкой. Средние значения и стандартные ошибки средних значений представлены на панелях (а, б); * отмечено при $p < 0,01$. Эксперимент был проведен в 3-х повторностях по 30-35 особей для одной повторности каждого варианта эксперимента

Аналогичные результаты были получены на 2-е сутки с использованием неоникотиноидного инсектицида тиаметоксама в концентрации 0,8 г/л ($68,94 \pm 22,63\%$; $p < 0,01$) (Рисунок 1, а). К концу эксперимента на 12-е сутки смертность от КОККУС-11 достигла $95,59 \pm 1,63\%$ ($p < 0,01$), в группе с тиаметоксамом смертность составила $94,7 \pm 4,11\%$ ($p < 0,01$), что подтверждает то,

что инсектицид КОККУС-11 по эффективности сопоставим с тиаметоксамом. Контрольный олигонуклеотид АСТГ-11 (5'-АСТ-ГАС-ТГА-СТ-3') не показал существенного инсектицидного эффекта по сравнению с контрольной группой (обработанной водой). Уровень смертности в группе АСТГ-11 составил $23,53 \pm 2,51\%$ ($p = 0,14$) на 12-е сутки (Рисунок 1, а). Также была построена кривая зависимости эффекта от дозы, и установлено, что ЛД₅₀ для личинок *C. hesperidum* составила 36,53 нг/мкл (Рисунок 1, б).

3.2 Биологическая эффективность олигонуклеотидного инсектицида ЯВОЛ-11 в отношении личинок японской восковой ложнощитовки.

Сконструированный олигонуклеотидный инсектицид ЯВОЛ-11 (5'-СГА-ССГ-АСГ-АА-3') продемонстрировал высокую биологическую эффективность, вызывая экспоненциальный рост смертности личинок при обработке в концентрации 0,1 г/л воды, достигая максимального эффекта к 10-м суткам (Рисунок 2).

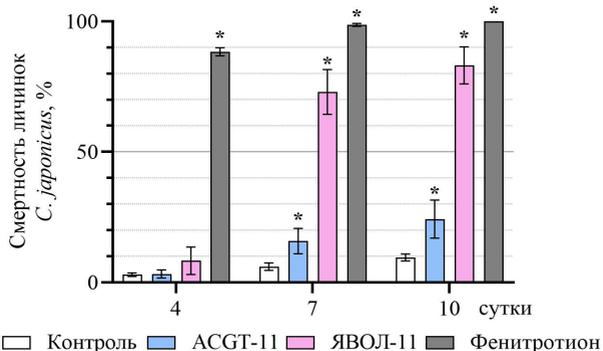


Рисунок 2 – Динамика смертности личинок японской восковой ложнощитовки после их контактной обработки водой, ЯВОЛ-11-фрагментом, АСГТ-11-фрагментом (контрольный фрагмент; 5'-АСГ-ТАС-ГТА-СГ-3') и фосфорорганическим инсектицидом фенитротрионом, в концентрации 2 г/л воды. Достоверность смертности насекомых в группах "АСГТ-11", "ЯВОЛ-11" и "Фенитротрион" против контроля обозначена * при $p < 0,01$. Эксперимент был проведён в 3-х повторностях по 80-90 особей для одной повторности каждого варианта эксперимента

На седьмые и десятые сутки после обработки личинок ДНК-олигонуклеотидами достоверное увеличение смертности насекомых по сравнению с контролем было обнаружено в группах "АСГТ-11" ($\chi^2 = 9,099$, $p < 0,05$, $N = 431$, $df = 1$; $\chi^2 = 27,548$, $p < 0,01$, $N = 591$, $df = 1$), "ЯВОЛ-11" ($\chi^2 = 217,023$, $p < 0,01$, $N = 697$, $df = 1$; $\chi^2 = 362,481$, $p < 0,01$, $N = 736$, $df = 1$) и "Фенитротрион" ($\chi^2 = 435,974$, $p < 0,01$, $N = 504$, $df = 1$; $\chi^2 = 203,550$, $p < 0,01$, $N = 266$, $df = 1$). В среднем погибло на седьмые сутки $6,06 \pm 1,40\%$, $15,83 \pm 4,85\%$, $72,95 \pm 8,56\%$ и $98,66 \pm 0,57\%$ личинок из

групп контроля, "АСГТ-11", "ЯВОЛ-11" и "Фенитроцион," соответственно. На десятые сутки эксперимента число погибших насекомых повысилось и достигло $10,28 \pm 2,25\%$, $24,24 \pm 7,28\%$, $83,11 \pm 7,06\%$ и 100% в контрольной группе, "АСГТ-11", "ЯВОЛ-11" и "Фенитроцион", соответственно. Таким образом, олигонуклеотидный инсектицид "ЯВОЛ-11" показал существенную эффективность по сравнению с фосфорорганическим инсектицидом фенитроцион.

3.3 Биологическая эффективность олигонуклеотидного инсектицида АВЖЕЧ-11 в отношении личинок австралийского желобчатого червеца. Деревья вместе с находящимися на них личинками австралийского желобчатого червеца были контактно обработаны олинцидом в концентрации 1 мг/м^2 листы растения. Уже на 3-и сутки в экспериментальной группе, обработанной АВЖЕЧ-11 (5'-АСА-ССГ-АСГ-АС-3'), было обнаружено, что смертность личинок значительно возросла по сравнению со смертностью личинок в контрольной группе, обработанной водой ($\chi^2 = 53,567$, $p < 0,01$, $N = 724$, $df = 1$). В группах, обработанных водой, тиаметоксамом и АВЖЕЧ-11, была зафиксирована гибель личинок $14,02\%$, $28,67\%$ и $42,92\%$, соответственно (Таблица 1).

Таблица 1 – Динамика смертности личинок австралийского желобчатого червеца после контактной обработки водой, АВЖЕЧ-11-фрагментом и неоникотиноидным инсектицидом тиаметоксамом ($0,8 \text{ г/л}$ воды)

Сутки	Смертность, %		
	Контроль	Тиаметоксам	АВЖЕЧ-11
3-и	$14,02 \pm 2,79$	$28,67 \pm 3,51^*$	$42,92 \pm 2,25^*$
7-е	$20,08 \pm 6,25$	$33,67 \pm 2,52^*$	$45,05 \pm 4,74^*$
10-е	$23,71 \pm 8,87$	$35,33 \pm 2,08$	$70,55 \pm 0,77^*$

Примечание: достоверность различий смертности личинок в группах "АВЖЕЧ-11" и "Тиаметоксам" против контроля обозначена * при $p < 0,01$

На 10-е сутки после обработки было отмечено статистически значимое увеличение смертности насекомых, вызванное АВЖЕЧ-11-фрагментом, по сравнению с контрольной группой ($\chi^2 = 96,464$, $p < 0,01$, $N = 545$, $df = 1$). После обработки погибшие насекомые были обнаружены в следующем процентном соотношении: $23,71\%$ (Контроль), $35,33\%$ (Тиаметоксам) и $70,55\%$ (АВЖЕЧ-11). В то же самое время, в группе с тиаметоксамом по сравнению с контрольной группой был обнаружен умеренный инсектицидный эффект на третьи ($\chi^2 = 19,785$, $p < 0,01$, $N = 631$, $df = 1$) и десятые ($\chi^2 = 3,151$, $p > 0,05$, $N = 634$, $df = 1$) сутки.

3.4 Биологическая эффективность олигонуклеотидных инсектицидов в отношении смешанной популяции насекомых-вредителей *D. britannicus* и *A. lauri* в полевых условиях. В смешанных популяциях насекомых-вредителей *D. britannicus* и *A. lauri* результаты секвенирования показали, что особи *A. lauri* с

последовательностью 5'-АТС-ГТТ-ГГС-АТ-3' в участке 28S рРНК составляли 80% особей смешанных популяций, а 20% популяции составляли особи *D. britannicus* с последовательностью 5'-АТС-ГТС-ГГТ-АТ-3'. На основе данных знаний были созданы олинциды ЛАУРИ-11 (5'-АТГ-ССА-АСГ-АТ-3', против *A. lauri*) и БРИТ-11 (5'-АТА-ССГ-АСГ-АТ-3', против *D. britannicus*) с совершенной комплементарностью к каждой из последовательностей. Также были сделаны замены отдельных нуклеотидов в олинциде БРИТ-11, чтобы понять, какой нуклеотид будет играть наиболее важную роль в инсектицидном эффекте. В этой связи были созданы три последовательности с заменами отдельных нуклеотидов, трансверсии на 5'-конце – БРИТ(5')-11 (А на Т), на 3'-конце – БРИТ(3')-11 (Т на А) и в середине последовательности – БРИТ(6)-11 (6-е азотистое основание последовательности; G на С) соответственно.

На 7-е сутки после обработки личинок олигонуклеотидными инсектицидами достоверное увеличение смертности насекомых по сравнению с контролем (вода) было обнаружено в следующих группах опыта: ЛАУРИ-11 ($\chi^2 = 166,495$, $p < 0,001$, $N = 444$, $df = 1$), БРИТ-11 ($\chi^2 = 175,209$, $p < 0,001$, $N = 727$, $df = 1$), БРИТ(5')-11 ($\chi^2 = 111,713$, $p < 0,001$, $N = 648$, $df = 1$), БРИТ(6)-11 ($\chi^2 = 55,421$, $p < 0,001$, $N = 668$, $df = 1$), БРИТ(3')-11 ($\chi^2 = 53,181$, $p < 0,001$, $N = 695$, $df = 1$) и с тиаметоксамом ($\chi^2 = 390,174$, $p < 0,001$, $N = 641$, $df = 1$). В среднем на 7-е сутки погибло $3,38 \pm 0,22\%$, $64,64 \pm 1,75\%$, $51,59 \pm 13,87\%$, $30,76 \pm 2,91\%$, $25,86 \pm 5,83\%$, $23,47 \pm 0,29\%$ и $81,90 \pm 4,30\%$ личинок в группах, обработанных водой (контроль), ЛАУРИ-11, БРИТ-11, БРИТ(5')-11, БРИТ(6)-11, БРИТ(3')-11 и тиаметоксамом, соответственно (Рисунок 3).

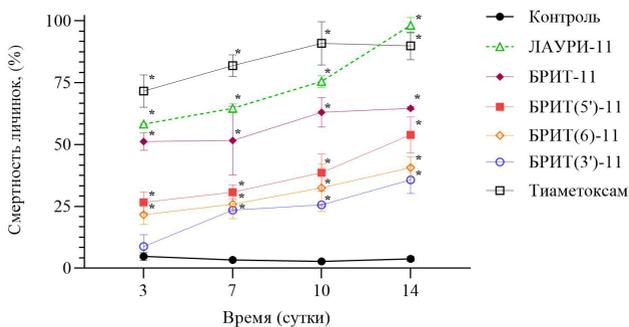


Рисунок 3 – Динамика смертности смешанной популяции (80%:20%) *A. lauri* и *D. britannicus* после контактной обработки водой, ЛАУРИ-11, БРИТ-11, БРИТ(5')-11, БРИТ(6)-11, БРИТ(3')-11 и тиаметоксамом. Значимость различий в группах по сравнению с контролем обозначена * при $p < 0,05$. Эксперимент был проведен в 3-х повторностях по 120-130 особей для одной повторности каждого варианта эксперимента

На 14-е сутки эксперимента смертность в группах опыта увеличилась и достигла в контроле $3,77 \pm 0,94\%$, в ЛАУРИ-11 – $98,19 \pm 3,12\%$ ($\chi^2 = 317,645$, $p < 0,001$, $N = 420$, $df = 1$), в БРИТ-11 – $64,66 \pm 0,67\%$ ($\chi^2 = 216,170$, $p < 0,001$, $N = 623$, $df = 1$), в БРИТ(5')-11 – $53,89 \pm 7,25\%$ ($\chi^2 = 146,703$, $p < 0,001$, $N = 661$, $df = 1$), в БРИТ(6)-11 – $40,68 \pm 4,33\%$ ($\chi^2 = 132,319$, $p < 0,001$, $N = 606$, $df = 1$), в БРИТ(3')-11 – $35,74 \pm 5,51\%$ ($\chi^2 = 80,965$, $p < 0,001$, $N = 683$, $df = 1$) и $89,85 \pm 5,57\%$ в группе с тиаметоксамом ($\chi^2 = 424,328$, $p < 0,001$, $N = 611$, $df = 1$).

Обнаружено, что замена азотистого основания в последовательности олигонуклеотидного инсектицида БРИТ-11 на 5'-конце приводит к снижению его эффективности на 17%, а на 3'-конце – на 45%. Замена азотистого основания в 6-й позиции снизила эффективность на 37%. Таким образом, щитовки показали, что их чувствительность к используемым олигонуклеотидным инсектицидам зависит, прежде всего, от идеальной комплементарности их 3'-концов.

3.5 Влияние олигонуклеотидных инсектицидов на концентрацию 28S рРНК в личинках представителей семейства Diaspididae. Поскольку снижение экспрессии целевого гена является золотым стандартом для доказательства специфичности действия (Dias and Stein, 2002) антисмысловых олигонуклеотидов, была проведена оценка относительной концентрации 28S рРНК в смешанных популяциях личинок (*D. britannicus* и *A. lauri*) после обработки, что очень близко отражало результаты по смертности. На 5-е сутки во всех группах наблюдалось значительное увеличение концентрации целевой 28S рРНК (1-й шаг механизма ДНКс), а затем снижение концентрации 28S рРНК (2-й шаг механизма ДНКс), характерное для антисмысловых олигонуклеотидов (Dias and Stein, 2002), наблюдалось на 10-е сутки по сравнению с 5-ми сутками (Рисунок 4).

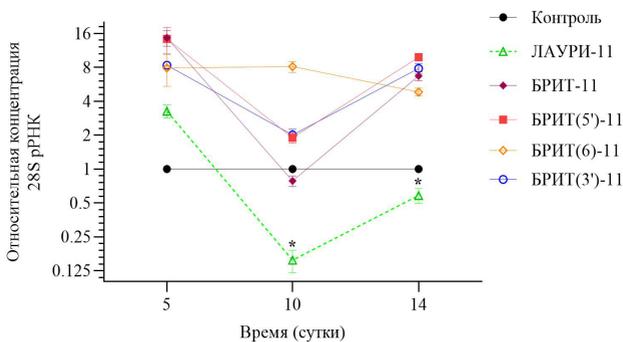


Рисунок 4 – Динамика относительной концентрации 28S рРНК (средняя концентрация) в смешанных популяциях насекомых-вредителей (*D. britannicus* и *A. lauri*) на 5-е, 10-е и 14-е сутки после обработки олигонуклеотидами ЛАУРИ-11, БРИТ-11, БРИТ(5')-11, БРИТ(6)-11 и БРИТ(3')-11

На рисунке 4 представлены средние значения и стандартные ошибки средних для 3-х повторностей по сравнению с контрольной группой, обработанной водой. Контроль принят за 1 (100%). Значимость различий в группе ЛАУРИ-11 по сравнению с контрольной группой обозначена * при $p < 0,05$; средняя относительная концентрация означает, что в исследуемой массе насекомых есть особи с более низкой и более высокой концентрацией целевой рРНК по сравнению со средним значением.

Существенное снижение концентрации 28S рРНК между 5-ми и 10-ми сутками, выстроилось в почти тот же ряд, что и для смертности: ЛАУРИ-11 > БРИТ-11 > БРИТ(5')-11 > БРИТ(3')-11 > БРИТ(6)-11. Наиболее значительное снижение концентрации 28S рРНК у насекомых было обнаружено для наиболее эффективного олинцида ЛАУРИ-11 и было в $8,44 \pm 0,14$ и $1,72 \pm 0,36$ раза ниже по сравнению с контролем, обработанным водой, на 10-е и 14-е сутки (2-й шаг механизма ДНКс), соответственно ($p < 0,05$, Рисунок 4).

3.6 Биологическая эффективность олигонуклеотидных инсектицидов ЛАУРА-11 и АЛАКРИС-11 в отношении лавровой листоблошки. На 3-и сутки эксперимента значительная смертность насекомых-вредителей, $67,61 \pm 3,09\%$ и $14,28 \pm 1,61\%$, наблюдалась после обработки растений лавра благородного олинцидами ЛАУРА-11 (5'-GAC-ACG-CGC-GC-3) и АЛАКРИС-11 (5'-ССА-ССG-GGT-AG-3'), соответственно ($p < 0,05$). Также наблюдалась значительная смертность насекомых-вредителей, $46,86 \pm 0,74\%$, на 3-и сутки при использовании смеси олинцидов (АЛАКРИС-11 и ЛАУРА-11) 1:1 ($p < 0,05$). Максимальная смертность личинок лавровой листоблошки наблюдалась на 14-е сутки эксперимента. Смертность составила $95,01 \pm 4,42\%$ для группы с олинцидом АЛАКРИС-11, $97,16 \pm 2,49\%$ для группы с олинцидом ЛАУРА-11 и $98,72 \pm 1,14\%$ для группы с их смесью 1:1 ($p < 0,05$) (Таблица 2).

Таблица 2 – Динамика смертности лавровой листоблошки после контактной обработки водой и олигонуклеотидными инсектицидами

Сутки	Смертность, %				
	Контроль	СТГА-11	АЛАКРИС-11	ЛАУРА-11	ЛАУРА-11 + АЛАКРИС-11 (1:1)
3-и	$3,38 \pm 0,28$	$4,94 \pm 0,63$	$14,28 \pm 1,61^*$	$67,61 \pm 3,09^*$	$46,86 \pm 0,74^*$
8-е	$5,81 \pm 0,88$	$5,73 \pm 0,55$	$46,91 \pm 12,03^*$	$75,12 \pm 2,44^*$	$50,49 \pm 1,83^*$
10-е	$7,11 \pm 0,78$	$7,26 \pm 0,41$	$68,05 \pm 1,61^*$	$85,02 \pm 3,49^*$	$68,79 \pm 4,73^*$
14-е	$9,45 \pm 0,41$	$9,38 \pm 0,57$	$95,01 \pm 4,42^*$	$97,16 \pm 2,48^*$	$98,72 \pm 1,14^*$

Примечание: достоверность различий смертности насекомых в опытных группах против контроля обозначена * при $p < 0,01$

Следует отметить, что олинцид ЛАУРА-11 показал более выраженный инсектицидный эффект, чем АЛАКРИС-11. Как и ожидалось, случайный

олигонуклеотид СТГА-11 (5'-СТГ-АСТ-ГАС-ТГ-3') не показал какого-либо значительного инсектицидного эффекта на протяжении всего эксперимента.

РАЗДЕЛ 4 СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ОЛИГОНУКЛЕОТИДНЫХ ИНСЕКТИЦИДОВ

4.1 Сравнительный анализ результатов применения олигонуклеотидных инсектицидов. Одной из главных задач исследования являлось сопоставление показателей инсектицидного потенциала 11-мерных олигонуклеотидных инсектицидов КОККУС-11, ЯВОЛ-11, АВЖЕЧ-11, ЛАУРИ-11, БРИТ-11, ЛАУРА-11 и АЛАКРИС-11, на основе их влияния на жизнеспособность насекомых-вредителей *C. hesperidum*, *C. japonicus*, *I. purchasi*, *A. lauri*, *D. britannicus* и *T. alacris*. В результате проведенных исследований на данных насекомых-вредителях в период с 2020 по 2022 годы был рассчитан средний показатель биологической эффективности олигонуклеотидных инсектицидов, выраженный в процентах средней смертности насекомых. Это связано с тем, что для олигонуклеотидных инсектицидов действующим веществом является дезоксирибонуклеиновая кислота.

В результате выполнения расчетов было установлено, что со 2-х по 4-е сутки в группе опыта после обработки олигонуклеотидными инсектицидами наблюдается увеличение смертности насекомых в среднем $43,35 \pm 21,11\%$ по сравнению со смертностью $8,99 \pm 8,62\%$ в контрольной группе, обработанной водой ($p < 0,01$) (Рисунок 5).

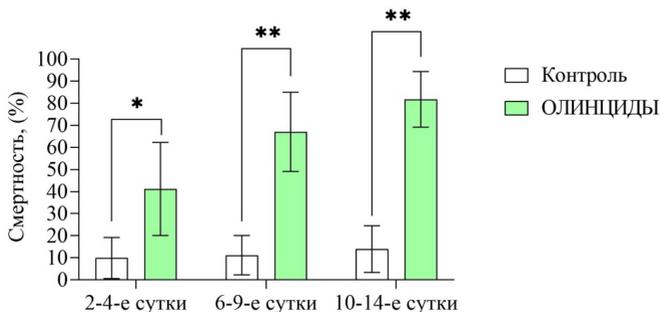


Рисунок 5 – Сопоставление показателей биологической эффективности олигонуклеотидных инсектицидов в период с 2020 по 2022 годы, выраженные в процентах средней смертности насекомых-вредителей *C. hesperidum*, *C. japonicus*, *I. purchasi*, *A. lauri*, *D. britannicus* и *T. alacris*. Достоверность смертности насекомых против контроля обозначена * при $p < 0,05$ и ** при $p < 0,01$

К середине эксперимента происходит значительное увеличение смертности вредителей, наблюдаемое между шестыми и девятыми сутками. В среднем $67,54 \pm 17,78\%$ и $11,19 \pm 8,91\%$ погибших насекомых в группах, обработанных

олинцидами и водой соответственно ($p < 0,01$). В конце эксперимента с 10-х по 14-е сутки, как правило, смертность насекомых, обработанных олигонуклеотидными инсектицидами, достигает своего плато, в среднем $81,81 \pm 12,57\%$ по сравнению со смертностью $13,96 \pm 10,61\%$ в контрольной группе, обработанной водой ($p < 0,01$).

Таким образом, в данных исследованиях на насекомых-вредителях из подотряда грудохоботных, в частности *C. hesperidum*, *C. japonicus*, *I. purchasi*, *A. lauri*, *D. britannicus* и *T. alacris*, впервые была показана возможность контроля численности данных насекомых с помощью применения олигонуклеотидных инсектицидов, которые вызывают существенную гибель насекомых.

4.2 Экономические перспективы внедрения олигонуклеотидных инсектицидов в защиту растений. В современной биотехнологической практике для разработки инновационных инсектицидных препаратов активно применяются фосфорамидитные методы твердофазного и жидкофазного синтеза олигонуклеотидов, что демонстрирует значительный потенциал в контексте создания новых средств защиты растений (Oberemok et al., 2024b). По данным открытых источников, цена на заказное производство ДНК-конструкций для исследований колеблется в диапазоне 500–800 рублей за 1 мг.

Интересно отметить, что в текущих отечественных рыночных условиях цена на заказной синтез 1 мг РНК-конструкций длиной 11 нт значительно превышает цену на аналогичные ДНК-конструкции (Таблица 3).

Таблица 3 – Сравнительная стоимость синтеза ДНК/РНК-олигонуклеотидов, на примере олигонуклеотида длиной 11 нуклеотидов, при покупке у научно-производственной компании «СИНТОЛ» (<https://www.syntol.ru/>)

Нуклеиновая кислота	Длина, нт	Количество очищенного нуклеотида, ОЕ*							
		5	10	20	50	100	200	500	1000
РНК/цена, руб.	11	3509	5808	8701	17281	28829	47542	102938	185438
ДНК/цена, руб.		528	770	1144	2134	3487	5808	12551	22616

Примечание: *ОЕ – оптические единицы

Данный факт делает перспективной идеей разработку инновационных олигонуклеотидных инсектицидов на основе коротких антисмысловых ДНК-фрагментов генов насекомых-вредителей (Oberemok et al., 2016; Oberemok et al., 2017; Oberemok et al., 2018a; Oberemok et al., 2022; Oberemok et al., 2024b).

РАЗДЕЛ 5 БИОРАЗЛАГАЕМОСТЬ ОЛИГОНУКЛЕОТИДНЫХ ИНСЕКТИЦИДОВ, РАЗРАБОТАННЫХ К 28S РИБОСОМАЛЬНЫМ РНК ВРЕДИТЕЛЕЙ

5.1 Биоразлагаемость олигонуклеотидных инсектицидов с участием тканевых дезоксирибонуклеаз. Также в ходе работы важно было оценить активность внутриклеточных дезоксирибонуклеаз в гомогенатах тканей лавра благородного – основного растения-хозяина для исследованных насекомых-вредителей в Крыму. Исследования показали высокое снижение концентрации олигонуклеотидных инсектицидов под действием дезоксирибонуклеаз в гомогенатах тканей лавра благородного (Рисунок 6). ДНК-фрагменты полностью деградировали за 24 часа, что свидетельствует о возможности быстрой биодеградации олигонуклеотидных инсектицидов в экосистеме.

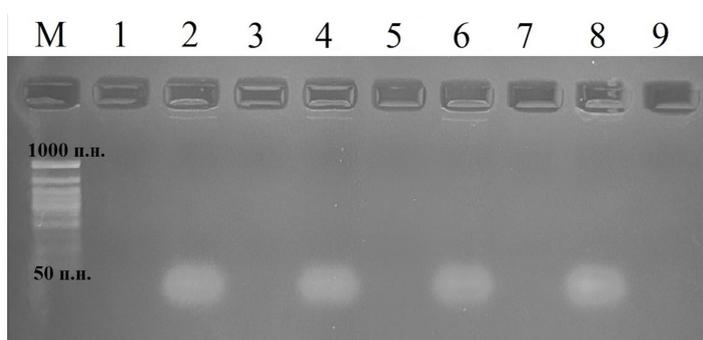


Рисунок 6 – Электрофореграмма (агарозный гель, 1,8%), представляющая активность внутриклеточных дезоксирибонуклеаз лавра благородного после 24 часов инкубации при 27°C: М – маркер молекулярных весов ДНК (с шагом в 50 п.н.); 1 – гомогенат чистой ткани листьев (1,5 мг биомассы на 10 мкл деионизированной воды); 2 – контроль (10 мкл ЛАУРИ–11 в концентрации 100 нг/мкл); 3 – гомогенат ткани листьев (1,5 мг биомассы на 10 мкл деионизированной воды) + 10 мкл ЛАУРИ–11 в концентрации 100 нг/мкл; 4 – контроль (10 мкл БРИТ–11 в концентрации 100 нг/мкл); 5 – гомогенат ткани листьев (1,5 мг биомассы на 10 мкл деионизированной воды) + 10 мкл БРИТ–11 в концентрации 100 нг/мкл; 6 – контроль (10 мкл БРИТ(5′)-11 в концентрации 100 нг/мкл); 7 – гомогенат ткани листьев (1,5 мг биомассы на 10 мкл деионизированной воды) + 10 мкл БРИТ(5′)-11 в концентрации 100 нг/мкл; 8 – контроль (10 мкл БРИТ(3′)-11 в концентрации 100 нг/мкл); 9 – гомогенат ткани листьев (1,5 мг биомассы на 10 мкл деионизированной воды) + 10 мкл БРИТ(3′)-11 в концентрации 100 нг/мкл

Также исследования показали высокую активность внутриклеточных дезоксирибонуклеаз в гомогенатах тканей лавровой щитовки и британской щитовки

для фрагментов ЛАУРИ-11 и БРИТ-11, падуба остролистного и японской восковой ложнощитовки для фрагмента ЯВОЛ-11, смолосемянника обыкновенного и австралийского желобчатого червеца для фрагмента АВЖЕЧ-11. Олигонуклеотидные инсектициды ЛАУРИ-11, БРИТ-11, ЯВОЛ-11 и АВЖЕЧ-11 полностью деградировали за 24 часа.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Олигонуклеотидные инсектициды как макромолекулы природного происхождения не будут накапливаться в природе и способны обеспечить избирательность действия за счёт уникальных комбинаций азотистых оснований. Проведенные многолетние исследования в период с 2020 по 2022 годы на насекомых-вредителях из подотряда грудохоботных показали, что олигонуклеотидные инсектициды обладают высокой биологической эффективностью, способны вызывать высокую смертность целевых насекомых-вредителей путём нарушения экспрессии пре-рРНК и рРНК, а также могут стать новым классом препаратов в защите растений после их регистрации.

1. Контактное применение олигонуклеотидных инсектицидов на листьях растений (1 мг/м^2), содержащих насекомых-вредителей (лавровая щитовка, британская щитовка, мягкая ложнощитовка, японская восковая ложнощитовка, австралийский желобчатый червец, лавровая листовлошка), обеспечивает биологическую эффективность со средним показателем $81,81 \pm 12,57\%$ в течение 10-14 суток ($p < 0,01$) и демонстрирует избирательный контроль в сложных природных экосистемах.

2. Замена азотистого основания в последовательности олигонуклеотидного инсектицида БРИТ-11 на 5'-конце приводила к снижению его эффективности на 17%, а на 3'-конце – на 45%. Замена азотистого основания в 6-й позиции снижала эффективность на 37%. На личинках лавровой щитовки и британской щитовки было показано, что комплементарность 3'-концевого нуклеотида к целевой 28S рРНК наиболее важна для выраженного инсектицидного эффекта. Обнаруженная значимость нуклеотидов для инсектицидного эффекта составила: $5' < (6) < 3'$.

3. На личинках лавровой щитовки, британской щитовки, мягкой ложнощитовки, японской восковой ложнощитовки, австралийского желобчатого червеца и лавровой листовлошки методом анализа концентрации целевых рРНК хозяина показано, что основным специфическим механизмом, обуславливающим гибель клеток насекомых, является механизм ДНК-сдерживания. Данный механизм состоит из двух этапов (первый этап – остановка функции рРНК, приводящая к гиперкомпенсации рРНК; второй этап – ферментативное расщепление рРНК с помощью ДНК-направляемой РНКазы H, происходящее благодаря действию олигонуклеотидных инсектицидов ЛАУРИ-11, БРИТ-11, КОККУС-11, ЯВОЛ-11, АВЖЕЧ-11 и АЛАКРИС-11.

4. Разработанные против *A. lauri*, *D. britannicus*, *C. japonicus*, *I. purchasi* олигонуклеотидные инсектициды (ЛАУРИ-11-фрагмент, БРИТ-11-фрагмент, ЯВОЛ-

11-фрагмент, АВЖЕЧ-11-фрагмент) обладают высокой скоростью биоразложения: в гомогенатах тканей насекомых и растений полностью деградировали за 24 часа.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

На основе проведённых исследований, представленных в диссертационной работе, был сформирован ряд практических рекомендаций по использованию олигонуклеотидных инсектицидов в сельском хозяйстве. Для эффективного применения олигонуклеотидных инсектицидов следует придерживаться определённых правил. Важно учитывать погодные условия: отсутствие осадков и температуру воздуха. Рекомендуемый диапазон температуры – от +18 до +25°C. Оптимальное время обработки – с 7 до 10 часов утра, а также с 18 до 20 часов вечера. Рекомендуемая норма расхода препарата на гектар – 10 граммов/200 литров.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Перспективным направлением продолжения исследований является разработка способов расширения арсенала олигонуклеотидных инсектицидов и снижения их себестоимости с целью получения высокоизбирательных препаратов нового поколения для защиты сельскохозяйственных культур от насекомых-вредителей. На основе анализа полученных данных можно предположить, что олигонуклеотидные инсектициды будут наиболее эффективны против серьезного сельскохозяйственного насекомого-вредителя кормовой свёклы *Beta vulgaris* L. subsp. *vulgaris* var. *Crassa* (Caryophyllales: Amaranthaceae) – тутовой щитовки (*Pseudaulacaspis pentagona* Targioni-Tozzetti (Hemiptera: Sternorrhyncha).

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

В изданиях из рекомендованного перечня ВАК

1. Гальчинский Н. В. Контроль австралийского желобчатого червеца (*Icerya purchasi* Maskell) при помощи инновационного олигонуклеотидного инсектицида Авжеч-11 / Н. В. Гальчинский, Р. Ж. Усеинов, И. А. Новиков, В. В. Оберемок // Экосистемы. – 2023. – № 33. – С. 32-37.
2. Плугатарь Ю. В. Применение олигонуклеотидных инсектицидов для контроля смешанных популяций насекомых-вредителей семейства Diaspididae / Ю. В. Плугатарь, Н. В. Гальчинский, Е. В. Яцкова, А. К. Шармагий, В. В. Оберемок // Бюллетень Государственного Никитского ботанического сада. – 2025. – № 154. – С. 95-104.
3. Плугатарь Ю. В. Разработка и применение инновационного олигонуклеотидного инсектицида ЯВОЛ-11 для контроля *Ceroplastes japonicus* Green (подотряд Sternorrhyncha) / Ю. В. Плугатарь, Н. В. Гальчинский, Е. В. Яцкова, А. К. Шармагий, В. В. Оберемок // Бюллетень Государственного Никитского ботанического сада. – 2025. – № 156. – С. 7-17.

4. **Гальчинский Н. В.** Эффективность применения инновационного олигонуклеотидного инсектицида КОККУС-11 в борьбе с *Coccus hesperidum* L. в условиях ФГБУН «НБС-ННЦ» РАН / **Н. В. Гальчинский** // Бюллетень Государственного Никитского ботанического сада. – 2025. – № 157. – С. 132-141.

В изданиях из базы данных Scopus и Web of Science

1. **Gal'chinsky N.** A breakthrough in the efficiency of contact DNA insecticides: rapid high mortality rates in the sap-sucking insects *Dynaspidotus britannicus* Comstock and *Unaspis euonymi* Newstead / **N. Gal'chinsky**, R. Useinov, E. Yatskova, K. Laikova, I. Novikov, M. Gorlov, N. Trikoz, A. Sharmagiy, Yu. Plugatar, V. Oberemok // Journal of Plant Protection Research. – 2020. – Vol. 60, № 2. – P. 220-223.

2. Oberemok V. V. Four Most Pathogenic Superfamilies of Insect Pests of Suborder Sternorrhyncha: Invisible Superplunderers of Plant Vitality / V. V. Oberemok, **N. V. Gal'chinsky**, R. Z. Useinov, I. A. Novikov, Y. V. Puzanova, R. I. Filatov, N. J. Kouakou, K. F. Kouame, K. D. Kra, K. V. Laikova // Insects. – 2023. – Vol. 14 – P. 462.

3. **Gal'chinsky N. V.** *Icerya purchasi* Maskell (Hemiptera: Monophlebidae) Control Using Low Carbon Footprint Oligonucleotide Insecticides / **N. V. Gal'chinsky**, E. V. Yatskova, I. A. Novikov, R. Z. Useinov, N. J. Kouakou, K. F. Kouame, K. D. Kra, A. K. Sharmagiy, Y. V. Plugatar, K. V. Laikova, V. V. Oberemok // International Journal of Molecular Sciences. – 2023. – Vol. 24, № 14. – P. 11650.

4. **Gal'chinsky N. V.** Mixed insect pest populations of Diaspididae species under control of oligonucleotide insecticides: 3'-end nucleotide matters / **N. V. Gal'chinsky**, E. V. Yatskova, I. A. Novikov, A. K. Sharmagiy, Y. V. Plugatar, V. V. Oberemok // Pesticide Biochemistry and Physiology. – 2024. – Vol. 200. – P. 105838.

5. Oberemok V. V. Oligonucleotide insecticides and RNA-based insecticides: 16 years of experience in contact using of the next generation pest control agents / V. V. Oberemok, K. V. Laikova, O. A. Andreeva, **N. V. Gal'chinsky** // Journal of Plant Diseases and Protection. – 2024. – Vol. 131. – P. 1837-1852.

6. Oberemok V. V. Biodegradation of insecticides: oligonucleotide insecticides and double-stranded RNA biocontrols paving the way for eco-innovation / V.V. Oberemok, K. V. Laikova, O. A. Andreeva, **N. V. Gal'chinsky** // Frontiers in Environmental Science. – 2024 – Vol. 12. – P. 1430170.

7. Oberemok V. V. Potent and selective 'genetic zipper' method for DNA-programmable plant protection: innovative oligonucleotide insecticides against *Trioza alacris* Flor. / V. V. Oberemok, I. A. Novikov, E. V. Yatskova, A. I. Bilyk, A. K. Sharmagiy, **N. V. Gal'chinsky** // Chemical and Biological Technologies in Agriculture. – 2024. – Vol. 11, № 144 – P. 144.

8. Oberemok V. V. Toward Global Pesticide Market: Notes on Using of Innovative 'Genetic Zipper' Method / V. V. Oberemok, K. V. Laikova, **N. V. Gal'chinsky** // Indian Journal of Entomology. – 2025. – P. 1-4.

9. Oberemok V. Ribosomal RNA-Specific Antisense DNA and Double-Stranded DNA Trigger rRNA Biogenesis and Insecticidal Effects on the Insect Pest

Coccus hesperidum / V. Oberemok, N. Gal'chinsky, I. Novikov, A. Sharmagiy, E. Yatskova, K. Laikova, Y. Plugatar // International Journal of Molecular Sciences. – 2025. – Vol. 26, № 15. – P. 7530.

Патенты на изобретения

1. Патент № 2743394 С1 Российская Федерация, МПК С12N 7/00 (2006.01). Способ борьбы с насекомыми-вредителями из надсемейства кокцидовых (Coccoidea): № 2020113394: заявл. 30.03.2020: опубл. 18.02.2021 / Оберемок В. В., Лайкова Е. В., Гальчинский Н. В., Новиков И. А., Усеинов Р. Ж.; заявители Оберемок В. В., Лайкова Е. В., Гальчинский Н. В., Новиков И. А., Усеинов Р. Ж. – 8 с.

Публикации в других изданиях

1. Oberemok V. V. High Mortality of Sap-sucking Insects One Week After Topical Application of DNA Insecticides / V. V. Oberemok, K. V. Laikova, R. Z. Useinov, N. V. Gal'chinsky, I. A. Novikov, M. V. Gorlov, E. B. Balykina, N. N. Trikoz, E. V. Yatskova, A. K. Sharmagiy, Yu. V. Plugatar // World Congress on In Vitro Biology, Virtual Pre-Recorded Meeting (6–10 June 2020). – San Diego, 2020. – Plant. – Vol. 56. – P. S39.

2. Gal'chinsky N. V. First Record of High Mortality of the Cottony Cushion Scale After Application of the Contact DNA Insecticide / N. V. Gal'chinsky, R. Z. Useinov, I. A. Novikov, E. V. Yatskova, A. K. Sharmagiy, Yu. V. Plugatar, V. V. Oberemok // In Vitro Biology Meeting (5-9 June 2021). – Norfolk, 2021. – Animal. – Vol. 57. – P. S47.

3. Gal'chinsky N. V. Environmentally friendly protection: use of a selective contact olinscide against holly scale (*Dynaspidotus britannicus*) / N. V. Gal'chinsky, I. A. Novikov, E. V. Yatskova, A. K. Sharmagiy, Yu. V. Plugatar, V. V. Oberemok // In Vitro Biology Meeting (10-14 June 2023). – Norfolk, 2023. – Animal. – Vol. 59. – P. S96-S97.

4. Gal'chinsky N. Mode of action of oligonucleotide insecticides (DNA containment mechanism) / N. Gal'chinsky, V. Oberemok // XX International Plant Protection Congress (1-5 July 2024). – Athens, 2024. – P. 67.

5. Oberemok V. Oligonucleotide insecticides: low-cost innovation for eco-friendly aphid control and an asymptote for current chemical insecticides / V. Oberemok, N. Gal'chinsky, Y. Puzanova, Y. Laikova // XX International Plant Protection Congress (1-5 July 2024). – Athens, 2024. – P. 113.

6. Oberemok V. Contact unmodified antisense DNA (CUAD) biotechnology: oligonucleotide insecticides as the next-generation plant protection product for green agriculture / V. Oberemok, N. Gal'chinsky, I. Novikov, Y. Laikova // XX International Plant Protection Congress (1-5 July 2024). – Athens, 2024. – P. 200.

7. Gal'chinsky N. Mixed insect pest populations of Diaspididae species under control of oligonucleotide insecticides / N. Gal'chinsky, E. Yatskova, I. Novikov, R. Useinov, A. Sharmagiy, Y. Laikova, Y. Plugatar, V. Oberemok // XX International Plant Protection Congress (1-5 July 2024). – Athens, 2024. – P. 244

8. **Gal'chinsky N.** Oligonucleotide insecticides with low carbon footprint for green plant protection / **N. Gal'chinsky**, E. Yatskova, I. Novikov, A. Sharmagi, Y. Plugatar, V. Oberemok // XX International Plant Protection Congress (1-5 July 2024). – Athens, 2024. – P. 282.

9. **Гальчинский Н. В.** Оценка эффективности и безопасности применения олигонуклеотидных инсектицидов / **Н. В. Гальчинский** // Инновационные технологии и технические средства для АПК: материалы международной научно-практической конференции молодых ученых и специалистов (07-08 октября 2025 г.). – Воронеж: ФГБОУ ВО Воронежский ГАУ, 2025. – С. 215-220.

Подписано к печати 12.02.2026 г.

Формат 60×84 1/16. Бумага офсетная. Печать цифровая.

Усл. печ. л. – 1.0. Тираж 100 экз. Заказ № НИ/57.

Отпечатано в Издательском доме
ФГАОУ ВО «КФУ им. В. И. Вернадского»
295007, г. Симферополь, бул. Ленина, 5/7