

## ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА

на диссертацию Гальчинского Никиты Витальевича

**«Биологическое обоснование разработки и применения инновационных олигонуклеотидных инсектицидов для борьбы с насекомыми-вредителями из подотряда грудохоботных (Hemiptera: Sternorrhyncha)»**,

представляемую на соискание ученой степени

кандидата сельскохозяйственных наук по специальности

4.1.3. Агрохимия, агропочвоведение, защита и карантин растений

**Актуальность темы.** В южных регионах России сельское хозяйство и декоративной садоводство сталкиваются с проблемой повреждений представителями подотряда Грудохоботные (Sternorrhyncha) отряда Полужесткокрылые (Hemiptera) (кокциды, листоблошки, белокрылки), что приводит к снижению прироста, количества и качества урожая, потере декоративности. Помимо этого, представители подотряда Грудохоботные являются переносчиками фитопатогенных вирусов и микоплазм. Видовое разнообразие этих фитофагов на юге России довольно велико, а наносимый ими ущерб экономически значим. Основным способом защиты растений от представителей данной группы является использование химических пестицидов, при этом обработки многократные, эффективны только препараты на основе системных действующих веществ, что приводит к довольно быстрому возникновению резистентности у вредителей. В связи с этим ведется поиск экологически безопасных приемов защиты сельскохозяйственных, лесных и декоративных культур от кокцид, листоблошек и белокрылок. Одним из перспективных направлений защиты растений в этом плане видится создание препаратов, действующим веществом которых являются немодифицированные антисмысловые ДНК-олигонуклеотиды, – олигонуклеотидных инсектицидов (олинцидов). Такие инсектициды являются средствами борьбы с различными вредителями, могут дополнять инсектицидный потенциал друг друга в борьбе с насекомыми-вредителями из разных отрядов и могут присутствовать вместе в комплексных двухкомпонентных препаратах. Олинциды являются высокоэффективными, экологичными, проявляют гибкость к устойчивости со стороны сайта-мишени вредителя, а их структура быстро биоразлагается. Физиология насекомых показывает, что контактный способ доставки таких контролирующих агентов весьма перспективен, позволяя избежать встречи с нуклеазами в пищеварительном тракте. Будущее контактно вводимой антисмысловой ДНК-биотехнологии и технологии двухцепочечной РНК перспективно: два природных молекулярно-генетических механизма борьбы с насекомыми-вредителями на защите растений с минимальным вредом для нецелевых организмов. Разработка и применение таких пестицидов позволит

повысить продовольственную безопасность России, а также вести органическое сельское хозяйство и получать органическую продукцию. В связи с вышеизложенным считаю, что тема диссертационного исследования Н.В. Гальчинского актуальна и перспективна.

**Цель диссертационного 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.

**Научная новизна.** Диссертантом впервые продемонстрирована высокая биологическая эффективность и экологическая безопасность контактных олигонуклеотидов 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 Грудохоботные. Помимо этого, на представителях изучаемой группы впервые обнаружен ряд паттернов механизма ДНК-сдерживания (ДНКс), состоящего из двух этапов: на первом этапе происходит остановка функции рРНК при помощи олигонуклеотидов, 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. Установлено, что между олигонуклеотидами и несовершенными 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 значимость.** Полученные Н.В. Гальчинским результаты диссертационного исследования являются вкладом в теорию разработки ДНК-инсектицидов.

**Практическая значимость.** Результаты, полученные диссертантом, могут лечь в основу разработки экологизированных систем защиты культурных растений от кокцид и псиллид путем включения в них олигонуклеотидных инсектицидов (после процедуры государственной регистрации).

**Методология и методы исследования.** Исследования проведены согласно общепринятых методов 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.

**Степень обоснованности и достоверности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации,** определяется большим объёмом 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.

**Личный вклад автора.** Диссертантом разработаны схемы проводимых исследований, проведён аналитический литературный обзор, 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.

**Оценка содержания диссертационной работы.** Диссертационная работа изложена на 179 страницах, хорошо структурирована, состоит из введения, 5 разделов, заключения, практических рекомендаций, перспектив дальнейшего изучения темы исследования, списка литературы и 9 приложений. Список литературы включает 323 источника, из них 304 - на иностранном языке. Диссертация изложена на 179 страницах компьютерного текста.

Во *введении* доказана актуальность выбранной темы, степень ее разработанности, сформулированы цель и задачи исследования, резюмирована научная новизна полученных результатов, их теоретическая и практическая значимость, сформулированы основные положения, выносимые на защиту, описана организация исследования и личный вклад автора, информация о степени достоверности и объеме апробации полученных результатов.

*Раздел 1* представляет собой аналитический обзор литературы, посвящённый инсектицидам на основе нуклеиновых кислот и их контактному применению против насекомых-вредителей в сельском и лесном хозяйствах. Анализ литературных источников свидетельствует о том, что Диссертант с самого начала строил свои исследования с учетом степени изученности проблемы с вычлениением нерешенных и перспективных вопросов, то есть на базе обширной отечественной и зарубежной научной литературы.

В *разделе 2* «Условия, объекты и методы исследований» дана характеристика места выполнения работы и задействованных в экспериментах насекомых. Подробно описаны методики дизайна и синтеза олигонуклеотидов, метод масс-спектрометрии, методики по экстракции, обратной транскрипции, амплификации, секвенированию и анализу нуклеиновых кислот. Описаны способ применения олигонуклеотидных инсектицидов и оценки их эффективности, статистические методы. В целом уровень методического обеспечения

исследований позволил сделать обоснованный анализ полученных материалов и построить достоверные выводы.

*Раздел 3* посвящен изучению биологической эффективности олигонуклеотидных инсектицидов на основе антисмысловых фрагментов, комплементарных 28S рибосомальной РНК и ITS2-участкам пре-рРНК. Материал хорошо иллюстрирован таблицами, рисунками и графиками. Изучена биологическая эффективность следующих олионцидов: КОККУС-11 в отношении личинок мягкой ложнощитовки, ЯВОЛ-11 в отношении личинок японской восковой ложнощитовки, АВЖЕЧ-11 в отношении личинок австралийского желобчатого червеца, БРИТ-11 в отношении смешанной популяций насекомых-вредителей семейства Diaspididae и в отношении личинок британской щитовки, ЛАУРА-11 и АЛАКРИС-11 в отношении лавровой листоблошки, а также влияние олигонуклеотидных инсектицидов на концентрацию 28S рРНК в клетках вредителей: ЯВОЛ-11 в клетках личинок японской восковой ложнощитовки, АВЖЕЧ-11 в клетках австралийского желобчатого червеца, БРИТ-11 в клетках личинок британской щитовки.

Важнейшим результатом стало открытие инсектицидной активности РНКазы Н-зависимых антисмысловых 11-мерных фрагментов генов, кодирующих 28S рРНК лавровой щитовки, британской щитовки, мягкой ложнощитовки, японской восковой ложнощитовки, австралийского желобчатого червеца и лавровой листоблошки, а также антисмыслового фрагмента гена, кодирующего внутренней транскрибируемый спейсер (ITS2) пре-рРНК лавровой листоблошки. Помимо высокой биологической эффективности олионцидов (выше 80% на 10-14 сутки после обработки) в отношении насекомых-вредителей, также было обнаружено достоверное изменение концентрации 28S рРНК в клетках насекомых. Был отработан алгоритм создания олигонуклеотидных инсектицидов для контроля смешанных популяций насекомых-вредителей семейства Diaspididae.

В *разделе 4* «Сравнительная оценка эффективности применения олигонуклеотидных инсектицидов» диссертантом был рассчитан средний показатель биологической эффективности олигонуклеотидных инсектицидов, выраженный в процентах средней смертности насекомых, а также сделаны расчеты сравнительной стоимости синтеза ДНК/РНК-олигонуклеотидов на примере олигонуклеотида длиной 11 нуклеотидов.

В *разделе 5* «Биоразлагаемость олигонуклеотидных инсектицидов, разработанных к 28S рибосомальным РНК вредителей» Н.В. Гальчинским была оценена активность внутриклеточных дезоксирибонуклеаз в гомогенатах тканей британской щитовки, лаврой щитовки, японской восковой ложнощитовки и австралийского желобчатого червеца, а также лавра благородного, падуба остролистного и смолосемянника обыкновенного – основных растений-хозяев

для исследованных насекомых-вредителей в Крыму. Установлено, что разработанные 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.

В *Заключении* и *выводах* резюмированы результаты исследований.

*Практические рекомендации* основаны на полученных выводах.

В диссертации также есть раздел «Перспективы дальнейшей разработки темы исследования», где развитием темы видится разработка способов расширения арсенала олинцидов и снижения их себестоимости с целью получения высокоизбирательных препаратов нового поколения для защиты сельскохозяйственных культур от насекомых-вредителей.

По материалам диссертации опубликованы 23 научные работы, из них 4 – в журналах, рекомендуемых ВАК РФ, 9 – в изданиях, входящих в международные базы данных Scopus и Web of Science, 1 патент. Положения диссертации полностью отражены в опубликованных работах и доложены на научных конференциях.

Диссертация оформлена в соответствии с ГОСТ РФ. **Содержание автореферата** полностью соответствует содержанию диссертации.

Несмотря на высокую научно-практическую значимость диссертационной работы, и положительное ее оценивая в целом, хотелось бы отметить замечания и пожелания:

1. Во введении следовало акцентировать внимание не на лавре как сельскохозяйственной культуре, а на особенностях изучаемой группы вредителей, которые вызывают сложности борьбы с ними.

2. Приводя результаты биологической эффективности олинцидов на разных целевых объектах (раздел 3), для их сопоставления было бы нагляднее использовать однотипное представление результатов в подглавах.

3. При высокой избирательности действия олинцидов (один пестицид – один целевой объект) для чего рассчитывается среднее значение биологической эффективности в отношении группы изученных вредителей?

4. Учитывая то, что в текущих отечественных рыночных условиях цена на заказной синтез 1 мг РНК-конструкций длиной 11 нт значительно (в 7-8 раз) превышает цену на аналогичные ДНК-конструкции, будут ли разработанные олинциды востребованы на практике?

5. Стоит отметить формулировки в рекомендациях производству: считаю некорректным рекомендовать сельскому хозяйству правила использования олинцидов, не прошедших процедуру регистрации.

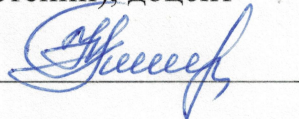
6. В тексте диссертации присутствуют опечатки технического характера.

Высказанные замечания не затрагивают сути и не умаляют достоинств выполненной диссертационной работы. Диссертационная работа Гальчинского Никиты Витальевича является законченным научным трудом. Результаты, полученные лично автором, оригинальны, достоверны, обладают научной новизной и имеют практическую значимость. Автореферат и научные статьи автора по теме исследования отражают основные положения диссертации.

**Заключение о соответствии диссертации и автореферата критериям, установленным «Положением о порядке присуждения ученых степеней».** В целом, диссертационная работа Гальчинского Никиты Витальевича на тему: «Биологическое обоснование разработки и применения инновационных олигонуклеотидных инсектицидов для борьбы с насекомыми-вредителями из подотряда грудохоботных (Hemiptera: Sternorrhyncha)» является завершенным и целостным научно-исследовательским трудом, самостоятельно выполненным автором на высоком научном и методическом уровне. Представленная диссертационная работа может быть отнесена к инновационным, она вносит серьезный вклад в теорию разработки ДНК-инсектицидов и развитие эколого-безопасных методов защиты растений. Диссертационная работа соответствует требованиям пунктов 9-11, 13, 14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением правительства РФ № 842 от 24.09.2013 (в действующей редакции), а ее автор, Гальчинский Никита Витальевич, заслуживает присуждения ученой степени кандидата сельскохозяйственных наук по специальности 4.1.3. Агрохимия, агропочвоведение, защита и карантин.

**Официальный оппонент,**

главный научный сотрудник отдела защиты растений Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр «Субтропический научный центр Российской академии наук» (ФИЦ СНЦ РАН), доктор биологических наук (специальность 06.01.07 – Защита растений), доцент



Карпун Наталья Николаевна

24 марта 2026 г.

Адрес: 354002, Краснодарский край, г. Сочи, ул. Яна Фабрициуса, д. 2/28. Тел.: +7(862)200-18-22, +7-988-288-02-48; e-mail: nkolem@mail.ru; сайт организации: <https://www.subtropas.ru/>

**Подпись Н.Н. Карпун заверяю,**  
Заместитель директора ФИЦ СНЦ РАН по науке,  
канд. геогр. наук.



Н.А. Яицкая

24 марта 2026 г.