

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА
на диссертацию **Цыгичко Александры Александровны**
«Биологические особенности штаммов вируса гранулёза
***Cydia pomonella* (L., 1758) (Lepidoptera: Tortricidae),**
перспективных для защиты растений»,

представляемую на соискание ученой степени
кандидата биологических наук по специальности

4.1.3. Агрохимия, агропочвоведение, защита и карантин растений

Яблоня – ведущая плодовая культура в России, площади под которой постоянно растут. При этом возделывание яблони ведется в интенсивных садах, где защита растений от вредных организмов основана в основном на химических средствах защиты растений. Ключевым вредителем яблони является яблонная плодожорка *Cydia pomonella* (L., 1758) (Lepidoptera: Tortricidae). Она может повреждать свыше 70% плодов культуры и быть резистентной к ряду действующих веществ инсектицидов. В связи с этим возникает довольно острый вопрос поиска альтернативных приемов, которые могли бы стать элементами систем защиты яблони, например, биологических, а из них – вирусных, пестицидов. В настоящий момент в Государственном каталоге пестицидов и агрохимикатов, разрешенных к применению на территории Российской Федерации, зарегистрировано три препарата на основе энтомопатогенных вирусов – все они предназначены для борьбы с яблонной плодожоркой и производятся за рубежом. В связи с этим необходимость разработки отечественных биоинсектицидов на основе штаммов вируса гранулёза яблонной плодожорки (CpGV) **обуславливает актуальность проводимых А.А. Цыгичко исследований** по поиску и комплексному исследованию аборигенных штаммов бакуловирусов.

Цель диссертационного исследования – выделение, отбор и изучение биологических особенностей штаммов CpGV, перспективных для разработки инсектицидов для защиты яблони от *C. pomonella*.

Новизна исследований состоит в том, что диссертантом впервые дана оценка инсектицидной активности 22х новых штаммов CpGV в отношении *C. pomonella*, в том числе 11-ти – аборигенных для юга России. Впервые проанализирован геном этих штаммов на наличие генов, кодирующих белки, обладающие инсектицидным потенциалом, и проведен сравнительный анализ на сходство с геномами 14 коммерческих штаммов. В ходе исследования модифицирован метод для работы со штаммами вируса гранулёза яблонной плодожорки с использованием *Cydia pomonella* и *Galleria mellonella* в условиях *in vitro*. Усовершенствован способ пробоподготовки биоматериала штаммов CpGV для процедуры молекулярно-генетической идентификации, который позволяет провести полногеномное секвенирование. Доказана энтомоцидная активность четырех штаммов из Биоресурсной коллекции Федерального научного центра биологической защиты

растений (далее – ФНЦ БЗР) на яблоне в условиях полевого мелкоделяночного опыта в отношении *C. pomonella*.

Теоретическая значимость результатов диссертационных исследований А.А. Цыгичко состоит в том, что они дополняют теоретические представления о возможности разработки новых биологических средств защиты растений на основе энтомопатогенных вирусов. Получены новые знания о генетическом разнообразии штаммов грануловирусов в агроценозах яблони. Получены сведения об инсектицидном потенциале 22 штаммов CrGV из Биоресурсной коллекции ФНЦ БЗР в отношении *C. pomonella* и *G. mellonella* в условиях *in vitro*.

Практическая значимость исследований очевидна: установлена перспективность использования штаммов BZR GV 9, BZR GV 10, BZR GV L-6, BZR GV L-8 в качестве основы для разработки новых биологических инсектицидов для контроля численности *C. pomonella* на яблоне. По результатам исследований диссертантом создана и внедрена база данных.

Диссертационная работа изложена на 167 страницах, состоит из введения, 3 глав, заключения, практических рекомендаций, раздела «Сокращения и обозначения», списка литературы (включающего 389 источников, в том числе 254 – на иностранных языках) и 5 приложений.

Во введении обоснована актуальность исследований, описана степень разработанности темы, сформулированы цель и задачи, резюмирована научная новизна полученных результатов, их теоретическая и практическая значимость, сформулирована методология исследований, основные положения, выносимые на защиту, личный вклад автора, информация о степени достоверности и объеме апробации полученных результатов.

В первой главе диссертантом приведено описание биологии яблонной плодовой гнили и мер борьбы с ней. Описаны биологические агенты, проявляющие инсектицидную активность в отношении *C. pomonella*. Более подробное внимание уделено информации о вирусе гранулёза яблонной плодовой гнили. В главе рассмотрен опыт получения и технология применения бакуловирусных инсектицидов, а также проанализирован ассортимент коммерческих инсектицидов на основе энтомопатогенных вирусов.

Глава 2 посвящена описанию объектов исследования, методик выделения штаммов энтомопатогенных вирусов из природных источников, их идентификации и биоинформатического анализа, оценки защитного действия штаммов энтомопатогенных вирусов в отношении *C. pomonella* и лабораторной популяции *G. mellonella* в условиях *in vitro* и в отношении *C. pomonella* в условиях полевого мелкоделяночного опыта.

Глава 3 включает в себя представление результатов проведенного исследования.

Произведена инвентаризация (11 штаммов) и пополнение (11 штаммов) Биоресурсной коллекции ФНЦ БЗР новыми вирусными агентами. Нарботана

биомасса штаммов CrGV с использованием гусениц природной популяции *C. pomonella* и лабораторной популяции *G. mellonella*. Проведен анализ внешних и внутренних патологических изменений гусениц. Определен титр водных вирусных суспензий 22 штаммов CrGV. Установлено, что для дальнейших исследований необходимо использовать вирусные суспензии, наработанные на гусеницах *C. pomonella*.

Секвенированы 22 генома вируса гранулеза *C. pomonella* и геном штамма-продуцента инсектицида Мадекс Твин, СК. Сборки исследуемых геномов оказались схожи по длине с референсным геномом, что подтверждает их принадлежность к группе CrGV. На основе данных биоинформатического анализа сделано предположение не только об инсектицидном потенциале исследуемых штаммов CrGV в отношении популяций *C. pomonella*, но и об их экологической пластичности при изменяющихся условиях среды благодаря наличию различной комбинации вариабельных генов, а также присутствию четырёх генов, кодирующих обладающих инсектицидным потенциалом белки, в их геноме. Генетическая информация о 22 штаммах CrGV депонирована в международную базу NCBI с присвоением индивидуальных номеров.

Оценка активности штаммов CrGV проведена по критерию биологической эффективности на гусеницах *C. pomonella* и *G. mellonella* в лабораторных условиях. При этом уровень достоверной разницы полученных данных по отношению к контролю был выше в эксперименте с использованием целевого насекомого *C. pomonella*, чем при использовании тест-объекта *G. mellonella*. Сделан вывод, что это связано с высокой специализацией штаммов вируса CrGV. Выявлены наиболее перспективные штаммы CrGV по критерию темпов смертности гусениц *C. pomonella*. Наиболее эффективными в отношении гусениц яблонной плодовой гусеницы являются водные вирусные суспензии штаммов CrGV с титром не менее $1,0 \times 10^6$ гранул/мл. При этом они наиболее эффективны в отношении гусениц 2-3 возраста. Для исследований в условиях полевого мелкоделяночного эксперимента отобраны штаммы BZR GV 9, BZR GV 10, BZR GV L-6, BZR GV L-8, которые показали наиболее высокую эффективность в лабораторных условиях.

Диссертантом установлено, что в условиях полевого мелкоделяночного опыта обработка деревьев яблони сорта Брина водными вирусными суспензиями отобранных штаммов CrGV способна обеспечивать защиту от *C. pomonella* на уровне 4,5-85,1% при получении сохранённого урожая от 3,0 до 19,6 т/га. Биологическая эффективность в варианте эталона – 41,2-86,4 % и урожайность 12,2-28,2 т/га.

В *Заключении* резюмированы результаты исследований.

Практические рекомендации основаны на полученных выводах.

В *приложениях* приведены:

– метеорологические условия за период проведения полевых мелкоделяночных опытов;

- результаты лёта яблонной плодовой и титры водных вирусных суспензий, используемых в полевом опыте;
- титры водных вирусных суспензий, полученных на основе гусениц насекомых в лабораторных условиях;
- характеристики полученных геномных библиотек, качества сборок для геномов разных штаммов вируса CpGV и генома штамма-продуцента инсектицида Мадекс Твин, перечень генов и их продуктов, наличие которых различалось между исследуемыми штаммами вирусов, перечень штаммов вируса гранулёза *C. pomonella*, депонированных в NCBI;
- свидетельство о государственной регистрации базы данных и акты ее внедрения.

По материалам диссертации опубликованы 25 научных работ, из них 3 – статьи в журналах, рекомендуемых ВАК РФ, 3 – издания, входящих в международные реферативные базы данных и системы цитирования Scopus и Web of Science и одно свидетельство о государственной регистрации базы данных. Следует отметить, что две статьи опубликованы в журналах второго квартиля. Положения диссертации полностью отражены в опубликованных работах и доложены на научных конференциях.

Степень обоснованности и достоверности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации, определяется экспериментальными данными, полученными с применением современных методов исследований в лабораторных условиях и в условиях полевого мелкоделяночного опыта, и их статистической обработкой.

По диссертационной работе имеется ряд вопросов и замечаний:

1. Из текста диссертации и таблицы 3 остается непонятным, какие штаммы уже были в Биоресурсной коллекции ФНЦ БЗР, а какие были добавлены в нее диссертантом.
2. В лабораторном опыте эффективность штаммов вируса CpGV оценивалась при разных титрах водных суспензий. Насколько корректно такое сравнение? Не было ли так, что более высокая биологическая эффективность штамма соответствовала более высокому титру его суспензии?
3. Необходимо уточнить, какие сроки обработок вирусными суспензиями были в полевом опыте и сколько повторностей было в вариантах опыта?
4. В выводе 2 лучше было бы не констатировать, что метод для работы со штаммами вируса был модифицирован, а прописать, в чем именно заключается эта модификация.
5. Следует отметить неудачный выбор формата оформления библиографических описаний и ссылок на них в тексте. В большинстве случаев, когда в статье более двух соавторов, нет возможности найти статью в списке литературы, пользуясь ссылкой по тексту, что существенно затрудняет оценку работы и не дает возможности сопоставить ссылки со списком литературы. Также

довольно много ссылок на информационные и новостные сайты в сети интернет. В научных работах предпочтительнее ссылаться на более серьезные рецензируемые источники.

6. На рисунках 4-6 отсутствуют масштабные линейки; на какой день после заражения проявляются симптомы, проиллюстрированные рисунком 5; в таблице 9 остается только догадываться, какие данные приведены в столбцах 10-16 и 22-25.

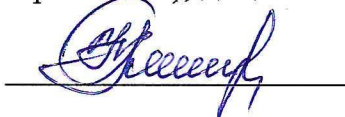
7. В работе присутствуют в минимальном количестве опечатки и стилистические неточности, существенно не влияющие на восприятие работы.

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

Соответствие диссертации требованиям Положения ВАК РФ о порядке присуждения ученых степеней. В целом, диссертационная работа А.А. Цыгичко соответствует критериям и отвечает требованиям ВАК (пп. 9-14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013 г. № 842), предъявляемым к кандидатским диссертациям, а ее автор, Цыгичко Александра Александровна, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 4.1.3. Агрохимия, агропочвоведение, защита и карантин растений.

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

10 ноября 2025 г.

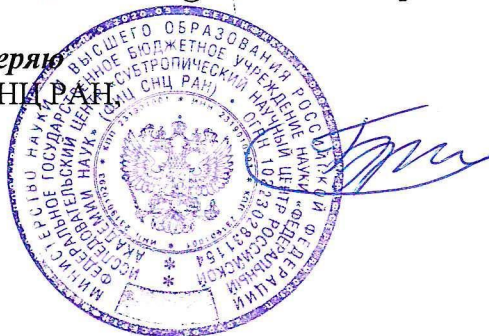
Адрес: 354002, Краснодарский край, г. Сочи, ул. Яна Фабрициуса, д. 2/28. Тел.: +7(862)200-18-22, +7-988-288-02-48; e-mail: nkolem@mail.ru; сайт организации: <https://www.subtropas.ru/>

Подпись Н.Н. Карпун заверяю

Ученый секретарь ФИЦ СНЦ РАН

канд. техн. наук

10 ноября 2025 г.



В.С. Бригида