

УДК 578.52 + 577.216.9 + 632.951.1 + 632.951.2

**СОВРЕМЕННЫЕ ИНСЕКТИЦИДЫ: ИХ ПРЕИМУЩЕСТВА,
НЕДОСТАТКИ И ПРЕДПОСЫЛКИ К СОЗДАНИЮ ДНК-ИНСЕКТИЦИДОВ
(ОБЗОРНАЯ СТАТЬЯ)**

Оберемок В.В., Зайцев А.С.

*Таврический национальный университет имени В.И. Вернадского, Симферополь, Украина
E-mail: genepcr@mail.ru*

Данный обзор посвящен современным инсектицидам и предпосылкам создания нового препарата на основе коротких фрагментов антиапоптозных генов вирусов ядерного полиэдрома – ДНК-инсектицидов. Показаны преимущества и недостатки химических инсектицидов и биологических препаратов. Сделан вывод, что ДНК-инсектициды способны объединить в себе наилучшие качества современных инсектицидов: доступность с быстроедействием от химических инсектицидов и избирательность в действии от биологических препаратов.

Ключевые слова: химические инсектициды, биологические препараты, ДНК-инсектициды.

Несмотря на то, что каждый день появляются новые инсектициды для защиты растений, затраты на защиту все же повышаются, часть потерь от вредных насекомых находится почти на одном и том же уровне – около 30% предурожайной части и 10% послепрожайной части продукции [1]. В основном сложившаяся ситуация объясняется возникновением у насекомых устойчивости к инсектицидам. Принимая во внимание быстрый рост населения на фоне ежегодного сокращения посевных площадей и существенные потери от вредных организмов, большинство специалистов считают, что серьезной альтернативы инсектицидам на сегодня нет [2], так как они помогают сохранить 20% всего урожая [3]. Также невозможно переоценить роль инсектицидов в предупреждении вирусных и протозойных заболеваний [4]. Чего стоит тот факт, что переносимые комарами заболевания, среди которых малярия, желтая лихорадка, энцефалит, филяриатоз и другие, распространены в более чем 100 странах мира. При этом, например, только от малярии каждый год погибает 781 000 человек, и лишь при помощи инсектицидов можно реально снизить уровень смертности от болезней, передающихся насекомыми [5].

**1. КЛАССИФИКАЦИЯ СОВРЕМЕННЫХ ИНСЕКТИЦИДОВ, ИХ
ПРЕИМУЩЕСТВА И НЕДОСТАТКИ**

Инсектициды можно разделить на две большие группы: химические инсектициды и биологические препараты. Химические инсектициды включают в себя неорганические инсектициды (сера, соединения мышьяка, криолит) и

органические инсектициды (ДДТ, дихлофос, карбарил, дельтаметрин, имидаклоприд). Химические инсектициды действуют быстро [6] и являются доступными [4, 7]. Преимущество химических инсектицидов заключается в возможности их быстрого применения в тех случаях, когда возникает необходимость незамедлительного уничтожения размножившихся в большом количестве насекомых-вредителей. Недостатками химических инсектицидов являются отсутствие избирательности в действии [4] и длительный период полураспада, который может длиться годами в зависимости от условий среды (температуры, рН, освещённости, микробного состава почвы) [8-10].

Химические инсектициды действуют быстро, потому что это небольшие молекулы, которые, обладая сродством к определённому компоненту клетки, отключают его функциональную активность. По сути, проникновением химического инсектицида в клетку управляют законы физики и химии [11]: диффузия и чаще всего слабое химическое взаимодействие. Таким образом, если имеется небольшой участок билипидного слоя мембраны без других компонентов углеводной и белковой природы, то, например, гидрофобная молекула ДДТ легко проникнет через него в клетку как насекомого, так и млекопитающего, не проявляя избирательности. Крупные по размерам бактерии и вирусы попадают в клетки через сложные механизмы взаимодействия с рецепторами цитоплазматической мембраны, которые обычно являются видоспецифичными для каждого отдельного микропатогена [12]. Дальнейший эффект химического инсектицида зависит от его встречи с целевой молекулой в клетке. То есть, если химический инсектицид способен проникнуть в клетку насекомого, а создают именно такие инсектициды, то скорость и амплитуда действия инсектицида будет зависеть от его концентрации. Например, для карбаматов и фосфорорганических инсектицидов целевой молекулой является ацетилхолинэстераза [13, 14], способствующая нормальной передаче нервных импульсов на мышечные волокна насекомого. Если доза инсектицида высока, то ацетилхолинэстераза быстро выходит из строя и насекомое погибает от последствий паралича мышц, если доза мала – последствия воздействия наступают медленно. У биологических препаратов, например бакуловирусных, совсем другая «философия». Их вирулентность (способность заражать) и патогенность полностью зависят от генетики микропатогена. Например, из-за мутаций (преимущественно делеций и инсерций) гена 25К вируса ядерного полиэдроза (ВЯП) непарного шелкопряда (НШ), вирус формирует небольшое количество полиэдров [15] и хуже передаёт инфекцию внутри популяции насекомого-вредителя. Различные мутации гена *plcR*, плейотропного регулятора транскрипции многих других генов *Bacillus thuringiensis*, резко снижает цитотоксические свойства этой бактерии [16]. Но для вирусов и бактерий генетика может оказаться как их слабостью, так и их силой.

К биологическим препаратам преимущественно относятся инсектициды на основе вирусов, бактерий и грибов. Биологические препараты избирательны, но действуют медленно [1, 6, 17] и их дорого [18] или относительно дорого [19] производить. В основе избирательности биологических препаратов лежит специализация патогена на определённом виде насекомого-вредителя или на узком круге близкородственных видов [1, 20]. Это связано с тем, что микропатоген для

размножения в клетках насекомого-хозяина вынужден преодолеть барьеры в виде перитрофической мембраны эпителиальных клеток кишечника, цитоплазматической мембраны клетки, иммунной системы насекомого [21] и подчинить себе основные системы жизнеобеспечения клетки-хозяина, такие как биосинтез белка, апоптоз-антиапоптозную систему, энергетический обмен [12, 22, 23]. Все эти барьеры видоспецифичны, так как их реализация закодирована в уникальном геноме каждого отдельного вида насекомого, который постоянно и изолированно от других видов изменяется. Например, в геноме вирусов ядерного полиэдрома насекомых, имеются антиапоптозные гены (IAP-гены) [24, 25]. Антиапоптозные гены вирусов обладают своей уникальной последовательностью азотистых оснований, в которых закодирована уникальная последовательность аминокислот в антиапоптозных белках. Антиапоптозные белки, в свою очередь, будут максимально эффективными только для одной пары системы взаимоотношений вирус-хозяин. Это связано с тем, что в ходе коэволюции в каждой отдельной паре взаимоотношений вирус-хозяин, у вируса остаются антиапоптозные белки, которые наиболее эффективно задерживают развитие апоптоза клеток насекомого-хозяина, создавая возможность вирионам размножиться в них [26, 27]. Легко представить, что, например, антиапоптозные белки ВЯП НШ будут менее эффективны против апоптозных белков клеток совки-ипсилон, чем непарного шелкопряда. В связи с этим, перспективным направлением исследований сегодня является разработка ДНК-инсектицидов на основе коротких фрагментов антиапоптозных генов вирусов ядерного полиэдрома насекомых [28-30], которые будут действовать путём блокировки экспрессии этих генов с помощью механизмов схожими с РНК-интерференцией [31, 33] и ДНК-интерференцией [32], а также технологиями применения антисмысловых олигонуклеотидов [34, 35]. Филогенетический анализ показал, что в ходе эволюции антиапоптозные гены, как и многие другие гены, были заимствованы вирусами ядерного полиэдрома у их хозяев и являются гомологичными им [20, 26]. Это может пригодиться на практике. Например, в настоящее время нет полной геномной последовательности непарного шелкопряда, но секвенирована последовательность генома ВЯП НШ [36]. В такой ситуации вирусная ДНК может дать ценную информацию о некоторых жизненно важных генах вируса, которые имеют клеточное происхождение, например антиапоптозных генах. Последовательность этих генов может быть использована для борьбы с насекомым. Перспектива такого подхода четко видна на практике, поскольку она обеспечивает инсектицидный эффект с меньшими усилиями. Например, вместо дорогого бакуловирусного препарата можно использовать небольшие участки вирусного генома и получить тот же результат. Такие препараты будут избирательными в действии, так как последовательность генома разных видов насекомых уникальна. Таким образом, можно подбирать фрагменты нуклеиновых кислот, которые будут обладать эффективным инсектицидным действием только против одного вида насекомого-вредителя и безвредны для других членов экосистемы. Предпосылки и перспективы создания ДНК-инсектицидов будут рассмотрены во второй части статьи.

Микробиопрепараты на основе *Bacillus thuringiensis* также обладают высокой специфичностью и эффективно действуют преимущественно на личинок насекомых из отрядов чешуекрылых, двукрылых, жёсткокрылых и перепончатокрылых. Препараты на основе *Bacillus thuringiensis* являются безвредными для энтомофагов и нецелевых насекомых. Они также безопасны для растений, рыб, теплокровных животных [1, 37].

Дороговизна производства биологических препаратов связано с необходимостью культивирования целевых насекомых, их дальнейшим заражением, сбором урожая микропатогена и приготовлением препарата [38]. Конечно, себестоимость такого препарата будет дороже по сравнению со среднестатистическим химическим инсектицидом [18, 19]. Хотя некоторые авторы [6] не согласны с таким мнением и считают биологические препараты экономически более выгодными. Они связывают это с тем, что создание, токсикологическое оценивание и маркетинг химических инсектицидов являются более дорогими, поэтому биологические препараты с этой точки зрения являются экономически более выгодными в применении. Тем не менее, они соглашаются с тем, что контроль с помощью химических инсектицидов является более быстрым, и в отсутствие устойчивости, гарантирован высокий и предсказуемый уровень смертности насекомых [6].

Медленное действие биологических препаратов связано с тем, что микропатогены, в отличие от химических инсектицидов, преследуют цель воспроизвестись в клетках насекомого-хозяина. В связи с этим, микропатогены не стремятся уничтожить насекомое сразу, а используют ресурс его клеток для размножения. Бактериальные препараты приводят к гибели насекомых в течение 1-6 дней [39], вирусные – 4-7 дней и более [40]. Исследователи стараются повысить скорость инфекционного процесса, вызываемого микроэнтомопатогенами. Например, повышению скорости действия бакуловирусных биопрепаратов посвящено большое количество исследований, связанных с генетическими модификациями вирусов [41].

Кроме этого, имеются специфические недостатки, присущие отдельным классам биопрепаратов. Например, недостатками биопрепаратов на основе *Bacillus thuringiensis* является то, что они не эффективны против насекомых, питающихся внутри тканей растения [1], их активное действие зависит от высокой пищевой активности целевого насекомого, что наблюдается при температуре не ниже 18°C [42]. Кроме того, такие препараты инактивируются при высокой температуре и освещенности (за исключением стабильного экзотоксина) [1]. В этой связи, вирусы ядерного полиэдроза насекомых более адаптированы к условиям «вне организма». Происходящие из вирусных полиэдров вирионы, передающие инфекцию от насекомого к насекомому, устойчивы к различным факторам окружающей среды. Это возможно благодаря устойчивому белку полиэдрину, образующему матрикс полиэдров, в который погружены вирионы [43, 44]. Но не только целые вирусные частицы можно использовать для контроля численности насекомых, а и фрагменты ДНК вирусов. Это звучит также неожиданно, как если бы стало известно, что ДДТ способен кодировать аминокислотную последовательность белков. Так возможно ли создать ДНК-инсектициды? Попробуем разобраться в данном вопросе.

2. ПРЕДПОСЫЛКИ К СОЗДАНИЮ ДНК-ИНСЕКТИЦИДОВ

Новым классом инсектицидов для борьбы с насекомыми-вредителями могут стать биопрепараты на основе коротких одноцепочечных ДНК-фрагментов вирусов ядерного полиэдроза – ДНК-инсектициды [28-30]. ДНК-инсектициды способны вызывать гибель целевых насекомых-вредителей по механизмам схожими с ДНК-интерференцией [32] и РНК-интерференцией [31, 33, 45], а также с технологиями применения антисмысловых олигонуклеотидов на основе РНК и ДНК [34, 35]. Данные явления схожи по своему механизму действия.

Рассмотрим явление РНК-интерференции, как пример посттранскрипционной блокировки экспрессии генов, подробнее. РНК-интерференцию открыли Эндрю Файр и Крейг Мелло в 1998 г. в экспериментах с круглым червем *Caenorhabditis elegans* [31]. РНК-интерференция – процесс подавления экспрессии гена на стадии транскрипции и трансляции при помощи двухцепочечной (дц) РНК-копии соответствующего гена [46]. В итоге синтез соответствующего белка блокируется. На ранних этапах РНК-интерференции происходит разрезание двухцепочечного фрагмента РНК ферментом *dicer* (РНК-аза III-го типа) на более короткие фрагменты длиной 20-30 п.н. [47, 48]. Далее эти короткие фрагменты объединяются с белками из семейства *argonaute* [49]. Формируются комплексы RISC (RNA-induced silencing complex, РНК-индуцированный блокирующий комплекс) и RITS (RNA-induced transcriptional silencing, РНК-индуцированная блокировка транскрипции), содержащие короткий фрагмент антисмысловой РНК [46]. Данные комплексы блокируют экспрессию генов на стадии транскрипции и трансляции, присоединяясь комплементарно и блокируя или деградируя пре-мРНК и мРНК (рис. 1).

Возможна и последующая системная РНК-интерференция, вызываемая клетками, в которых началась первичная РНК-интерференция [50]. Таким образом, прерывается биосинтез определённой белковой молекулы. Тонкие детали данного процесса в данный момент изучены недостаточно. Процессы РНК-интерференции обнаружены в клетках многих эукариот [51]: у животных, растений и грибов. Система РНК-интерференции играет важную роль в защите клеток от вирусов, транспозонов, а также в регуляции развития, дифференцировки и экспрессии генов организма [48]. РНК-интерференция обладает высокой специфичностью и эффективностью [52].

Таким образом, если мы хотим заблокировать определённый ген по механизму РНК-интерференции, то мы создаём его полную копию или её часть в виде двухцепочечной РНК и вносим в клетку. Конечно, если нам нужно заблокировать экспрессию гена на стадии трансляции белка, а не транскрипции, то лучше вносить двухцепочечную молекулу РНК, состоящую из антисмысловой последовательности и комплементарной ей смысловой последовательности, повторяющей мРНК гена. Это поможет исключить интронные последовательности и повысить эффективность РНК-интерференции.

В случае коротких одноцепочечных (оц) ДНК, предполагается их действие в качестве антисмысловых олигонуклеотидов, когда запускаются процессы, которые похожи на поздние этапы РНК-интерференции. Известно, что у бакуловирусов есть многочисленные участки генома, где транскрипты образуются с обеих цепей ДНК. Образованные антисмысловые и смысловые РНК, способны формировать дцРНК и

могут быть вовлечены в регуляцию собственных генов и генов хозяина по механизму РНК-интерференции, или напрямую, по механизму антисмысловых олигонуклеотидов [20, 53]. Таким образом, короткие оцДНК-фрагменты фактически могут повторять природные механизмы с той разницей, что будут формироваться не дцРНК, а гибриды ДНК-РНК.

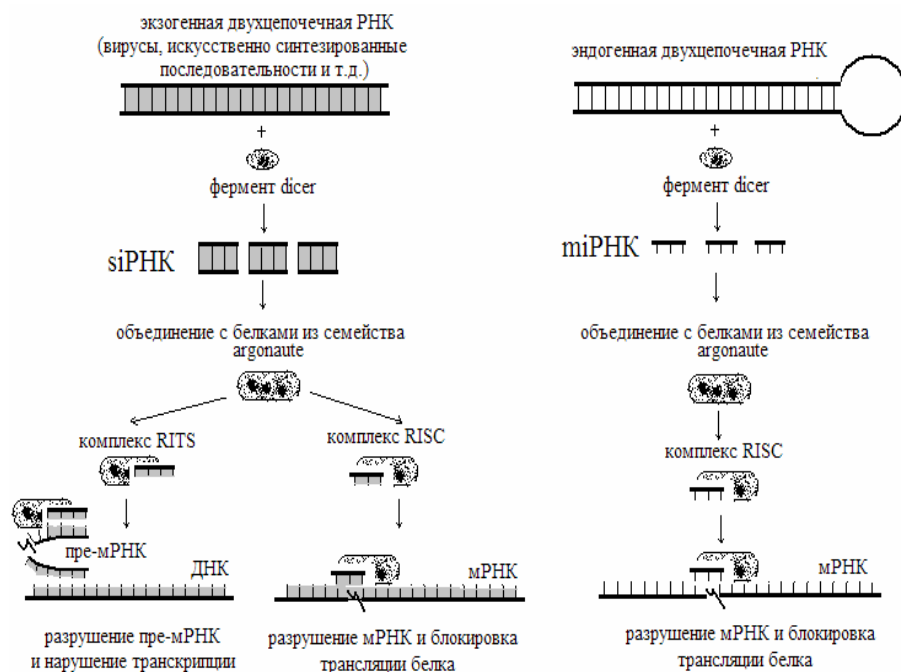


Рис. 1. Схема РНК-интерференции.

Для тестирования возможности использования оцДНК-фрагментов бакуловирусов против насекомых-вредителей, можно использовать различные фрагменты функционально важных генов для системы взаимоотношений вирус-хозяин, например антиапоптозных. И необходимо при этом, чтобы антиапоптозные гены вируса были гомологичны таковым генам хозяина. В процессе эволюции некоторые вирусы, в том числе бакуловирусы, «научились» бороться с преждевременной гибелью зараженных ими клеток. У таких вирусов есть специальные антиапоптозные белки [24, 25], которые либо сами препятствуют действию клеточных апоптозных белков, либо так изменяют активность клеточных генов, что баланс сил сдвигается в сторону клеточных антиапоптозных белков [54]. Бакуловирусы имеют два класса антиапоптозных генов, P35 и IAP-гены, которые могут заблокировать апоптоз в клетках хозяина [23, 55, 56]. Филогенетический анализ IAP-генов позволил выдвинуть гипотезу, что эти гены были получены вирусами от их хозяев. Захват антиапоптозных генов бакуловирусами происходил как минимум дважды в ходе эволюции [26]. Если антиапоптозные гены вируса

являются гомологичными генам хозяина, то введение таких антисмысловых РНК-или ДНК-фрагментов вируса должно вызывать апоптоз клеток насекомого из-за блокировки синтеза антиапоптозных белков.

Действие оцДНК или оцРНК-фрагментов вируса, скорее всего, не будет ограничиваться механизмом блокировки генов в клетке хозяина. Например, для фрагментов РНК известно, что они способны катализировать следующие процессы [57, 58]: а) создание и разрушение ковалентных связей, в том числе и между нуклеотидами; б) некоторые специализированные молекулы РНК могут катализировать изменения в других молекулах РНК, разрезая нуклеотидную последовательность в определенном месте; в) РНК может вырезать часть своей собственной последовательности, сшивая при этом свои концы. Исходя из большого сходства в строении между РНК и ДНК, можно прогнозировать, что подобные каталитические свойства могут иметь и ДНК-фрагменты вируса. Кроме этого, для нуклеиновых кислот характерно сродство к белкам и ферментам [59], при котором возможно снижение или прекращение их каталитической функции.

Хотя можно подбирать уникальные последовательности фрагментов ДНК для отдельного насекомого-вредителя, не исключено нанесение вреда ДНК-инсектицидами нецелевым насекомым и другим организмам. Данное предположение нужно проверить на практике.

В виду наличия нуклеаз в кишечнике насекомых, одним из целесообразных и удобных способов нанесения ДНК-инсектицидов является внешняя обработка [45]. Известно, что наличие развитой эпикутикулы ограничивает проницаемость покровов для многих инсектицидов [60], но хлорорганические и другие контактные инсектициды могут растворяться в кутикулярном воске. Растворенный в воске инсектицид легко проникает в организм насекомого через наиболее проницаемые участки покровов. Такими участками, играющих роль «входных ворот» для растворенного яда, служат межсегментные мембраны, основания щетинок и очень тонкие участки эпикутикулы над нервными окончаниями. В процессе проникновения инсектицидов через покровы большое значение имеет способность хитина абсорбировать органические молекулы. Как показали опыты с очищенным хитином, он хорошо поглощает инсектицид из водной суспензии [61]. Проникновение веществ через кутикулу, вероятно, регулируется пассивным транспортом. Одна из основных действующих сил в данном случае обусловлена градиентом концентрации проникающего вещества.

Сложные молекулы растворенного вещества проникают сквозь гидрофобную кутикулу насекомых с меньшей скоростью, чем более простые молекулы растворителя, а неполярные быстрее, чем полярные. Сквозь кутикулу в клетки могут попадать и более крупные по размерам вирусные частицы [62]. Например, при нанесении раствора с вирусом ядерного полиэдроса (10^7 мкл с титром 2×10^7 пол/мл) на грудные дыхальца 8-суточных гусениц хлопковой совки получили урожай $15,2 \times 10^9$ полиэдров в 13-суточном возрасте, $12,8 \times 10^8$ полиэдров с предкуколки и $1,49 \times 10^8$ полиэдров с куколки на момент их гибели [63]. Известно, что трахеи насекомых, открывающиеся дыхальцами, заканчиваются звездчатыми клетками, из которых к каждой клетке организма насекомого подходят трахеолы, которые поставляют

клеткам кислород. Вдоль трахеол вирусные частицы могут проникать в любой орган [62]. Также показано, что для пиретроидов основным путём проникновения в тело насекомого являются дыхальца [64]. Описанный механизм попадания в организм насекомого может быть характерен и для оцДНК-фрагментов.

Второй важный вопрос – проникновение оцДНК-фрагментов внутрь клетки. В модельных системах через искусственные мембраны вещества переносятся вдоль градиента концентраций за счет диффузии к установлению равенства концентраций, а точнее до достижения термодинамического равновесия (пассивный транспорт) [65]. Но сравнительно крупные и отрицательно заряженные фрагменты оцДНК будут очень медленно проникать в клетку через гидрофобный билипидный слой мембраны путём диффузии. Проникновение в клетку оцДНК может происходить, вероятно, двумя различными путями, установленными для дцРНК: трансмембранное канал опосредованное поглощение, показанное на *Caenorhabditis elegans*, и эндоцитоз опосредованное поглощение, показанное на клеточной линии S2 дрозофилы [45, 52]. Эксперименты по РНК-интерференции продемонстрировали, что отрицательно заряженные дцРНК способны проникать через кутикулу круглых червей [66] и насекомых [45]. Эти эксперименты показывают, что, несмотря на дополнительные барьеры, поглощение дцРНК всем телом насекомых возможно [45, 67]. Индукцию РНК-интерференции при местном применении дцРНК можно объяснить попаданием их во внутренние ткани через систему трахей [68]. В случае ДНК-инсектицидов, оцДНК имеют помимо гидрофильной части (полярный сахаро-фосфатный остов) и гидрофобную (азотистые основания), которая может помочь им проникнуть через неполярный гидрофобный билипидный слой мембран клеток насекомого.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исходя из сказанного выше, становится понятным, что наименьший вред инсектицидов будет наноситься окружающей среде, если он ей знаком и если есть пути его быстрого распада. Кроме этого он должен быть избирательным в действии и функционально выводить из строя только определённый вид насекомого. Таким потенциалом обладают ДНК-инсектициды. Во-первых, ДНК-инсектициды не обладают длительным периодом полураспада, так как во всех клетках есть пути синтеза и деградации нуклеиновых кислот. Во-вторых, ДНК-инсектициды обладают способностью избирательно передавать информацию (сигнал) к гибели вредителя, например, по механизму РНК-интерференции [31, 33] или антисмысловых олигонуклеотидов [34, 35]. То есть, подобрав специфическую комбинацию азотистых оснований, можно выводить из строя какой-либо функционально важный ген у отдельного вида насекомого. По сути, ДНК-инсектициды являются первыми химическими инсектицидами с «интеллектом», которые будут «думать», перед тем как действовать. Нам первыми в мире удалось показать и запатентовать возможность успешного применения коротких одноцепочечных фрагментов антиапоптозных генов вирусов ядерного полиэдроза в качестве ДНК-инсектицидов [28, 29], обладающими потенциалом стать эффективным средством защиты растений. ДНК-инсектициды способны объединить в себе наилучшие качества современных инсектицидов: доступность с быстродействием от химических

инсектицидов и избирательность в действии от биологических препаратов. По сути, Природа дала нам в руки универсальный «язык» всего живого – нуклеиновые кислоты. И при помощи нуклеиновых кислот можно решать большое количество задач, то есть «разговаривать» с Природой. Таким образом, сегодня в руках человека нуклеиновые кислоты превращаются в активный инструмент воздействия на клетку. И подтверждением этому является идея разработки инсектицидов на основе нуклеиновых кислот [28, 29, 30, 33, 68], которая активно начала развиваться в последние несколько лет и возможно, что в течение ближайшего десятилетия будет создан первый такой препарат для сельского и лесного хозяйства.

Список литературы

1. Sanchis V. From microbial sprays to insect-resistant transgenic plants: history of the biopesticide *Bacillus thuringiensis*. A review / V. Sanchis // *Agronomy for Sustainable Development*. - 2011. - Vol. 31. - P. 217-231.
2. Webster J.P.G. Estimating the Economic Benefits of Alternative Pesticide Usage Scenarios: Wheat Production in the United Kingdom / J.P.G. Webster, R.G. Bowles, N.T. Williams // *Crop Production*. - 1999. - Vol. 18. - P. 83-89.
3. Oerke E.C. Safeguarding production-losses in major crops and the role of crop protection / E.C. Oerke, H.W. Dehne // *Crop Protection*. - 2004. - Vol. 23. - P. 275-285.
4. Aktar W. Impact of pesticides use in agriculture: their benefits and hazards / W. Aktar, D. Sengupta, A. Chowdhury // *Interdisc Toxicol*. - 2009. - Vol. 2, № 1. - P. 1-12.
5. Ghosh A. Plant extracts as potential mosquito larvicides / A. Ghosh, N. Chowdhury, G. Chandra // *The Indian J. Medical Research*. - 2012. - Vol. 135. P. 581-598.
6. Bale J.S. Biological control and sustainable food production / J.S. Bale, J.C. van Lenteren, F. Bigler // *The Philosophical Transactions of the Royal Society*. - 2008. - Vol. 363. - P. 761-776.
7. Walker K. Cost-comparison of DDT and alternative insecticides for malaria control / K. Walker // *Medical and Veterinary Entomology*. - 2000. - Vol. 14. - P. 345-354.
8. Wheatley G.A. Residues of chlorinated hydrocarbon insecticides in some farm soils in England / G.A. Wheatley, J.A. Hardman, A.H. Strickland // *Plant Pathology*. - 1962. - Vol. 11. - P. 81-90.
9. Ragnarsdottir K.V. Environmental fate and toxicology of organophosphate pesticides / K.V. Ragnarsdottir // *J. Geological Society*. - 2000. - Vol. 157. - P. 859-876.
10. Krupke C.H. Multiple routes of pesticide exposure for honey bees living near agricultural fields / C.H. Krupke, G.J. Hunt, B.D. Eitzer, G. Andino, K. Given // *PLoS ONE*. - 2012. - 7: e29268.
11. Jensen S.E. Insecticide resistance in the western flower thrips, *Frankliniella occidentalis* / S.E. Jensen // *Integrated Pest Management Reviews*. - 2000. - Vol. 5, № 2. - P. 131-146.
12. Rohrmann G.F., *Baculovirus Molecular Biology*, (National Library of Medicine, 2008).
13. Fukuto T.R. Mechanism of action of organophosphorus and carbamate insecticides / T.R. Fukuto // *Environ Health Perspect*. - 1990. - Vol. 87. - P. 245-254.
14. Yang M. Increased activity and reduced sensitivity of acetylcholinesterase associated with malathion resistance in a field population of the oriental migratory locust, *Locusta migratoria manilensis* / M. Yang, J. Zhang, K. Y. Zhu, T. Xuan, X. Liu, Y. Guo, E. Ma // *Pesticide Biochemistry and Physiology*. - 2008. - Vol. 91. - P. 32-38.
15. Bischoff D.S. Molecular analysis of an enhancing gene in the *Lymantria dispar* nuclear polyhedrosis virus / D.S. Bischoff, J.M. Slavicek // *J. Virology*. - 1997. - Vol. 71. - P. 1097-1106.
16. Slamti L. Distinct Mutations in PlcR Explain Why Some Strains of the *Bacillus cereus* Group Are Nonhemolytic / L. Slamti, S. Perchat, M. Gominet, G. Vilas-Bôas, A. Fouet, M. Mock, V. Sanchis, J. Chaufaux, M. Gohar, D. Lereclus // *J. Bacteriology*. - 2004. - Vol. 186, № 11. - P. 3531-3538.
17. Rosell G. Biorational insecticides in pest management / G. Rosell, C. Quero, J. Coll, A. Guerrero // *J. Pesticide Science*. - 2008. - Vol. 33. - P. 103-121.
18. Moscardi F. Assessment of the application of baculoviruses for control of lepidoptera / F. Moscardi // *The Annual Review of Entomology*. - 1999. - Vol. 44. - P. 257-289.

19. Rowe G.E. Bioprocess Developments in the Production of Bioinsecticides by *Bacillus thuringiensis* / G.E. Rowe, A.M. Margaritis // *Critical Reviews in Biotechnology*. - 1987. - Vol. 6, No.4. - P. 87-127.
20. Rollie J.C. Baculoviruses: Sophisticated Pathogens of Insects / J.C. Rollie, A.L. Passarelli // *PLoS Pathogens*. - 2013. - 9(11): e1003729.
21. Asser-Kaiser S. Sex linkage of CpGV resistance in a heterogeneous field strain of the codling moth *Cydia pomonella* (L.) / S. Asser-Kaiser, D.G. Heckel, J.A. Jehle // *J. of Invertebrate Pathology*. - 2010. - Vol. 103. - P. 59-64.
22. Katsuma S. The baculovirus uses a captured host phosphatase to induce enhanced locomotory activity in host caterpillars / S. Katsuma, Y. Koyano, W. Kang, R. Kokusho, S.G. Kamita, T. Shimada // *PLoS Pathogens*. - 2012. - 8: e1002644.
23. Ikeda M. Baculovirus genes modulating intracellular innate antiviral immunity of lepidopteran insect cells / M. Ikeda, H. Yamada, R. Hamajima, M. Kobayashi // *J. Virology*. - 2013. - Vol. 435. - P. 1-13.
24. Srinivasula S.M. IAPs: what's in a name? / S.M. Srinivasula, J.D. Ashwell // *Molecular Cell*. - 2008. - Vol. 30, № 2. - P. 123-135.
25. Ikeda M. Baculovirus IAP1 induces caspase-dependent apoptosis in insect cells / M. Ikeda, H. Yamada, H. Ito // *J. General Virology*. - 2011. - Vol. 9, № 2. - P. 2654-2663.
26. Hughes A.L. Evolution of inhibitors of apoptosis in baculoviruses and their insect hosts / A.L. Hughes // *Infection, Genetics and Evolution*. - 2002. - Vol. 2. - P. 3-10.
27. Herniou E.A. Ancient coevolution of baculoviruses and their insect hosts / E.A. Herniou, J.A. Olszewski, D.R. O'Reilly, J.S. Cory // *J. Virology*. - 2004. - Vol. 78. - P. 3244-3251.
28. Оберемок В.В. ДНК-маркери у вивченні взаємовідносин між вірусом ядерного поліедрозу та його хазяїном непарним шовкопрядом: автореферат. ... канд. біол. наук : 03.00.06 / вірусологія / Володимир Володимирович Оберемок. - К., 2011. – 22 с.
29. Patent of Ukraine for useful model № 36445. "Method of elimination of phyllophagous insects from order Lepidoptera" / V.V. Oberemok // applicant and patentee Taurida National V.I. Vernadsky University. – № u 2008 0674; Decl. 19.05.2008; Publ. 27.10.2008. – Bull. 20.
30. Oberemok V.V. Pioneer Evaluation of the Possible Side Effects of the Dna Insecticides on Wheat (*Triticum Aestivum* L.) / V.V. Oberemok, A.S. Zaytsev, P. Nyadar, N. Levchenko, H. Shiyntum, O. Omelchenko // *International J. of Biochemistry and Biophysics*. - 2013. - Vol. 1, № 3. - P. 57-63.
31. Fire A. Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans* / A. Fire, S. Xu, M. Montgomery, S. Kostas, S. Driver, C. Mello // *Nature*. - 1998. - Vol. 391. - P. 806-811.
32. Kawai-Toyooka H. DNA interference: a simple and efficient gene silencing system for high throughput functional analysis in the fern *Adiantum* / H. Kawai-Toyooka, C. Kuramoto, K. Orui, K. Motoyama, K. Kikuchi, T. Kanegae, M. Wada // *Plant & Cell Physiology*. - 2004. - Vol. 45. - P. 1648-1657.
33. Wang Y. Second generation sequencing supply an effective way to screen RNAi targets in large scale for potential application in pest insect control / Y. Wang, H. Zhang, H. Li, X. Miao // *PLoS ONE*. - 2011. - 8(6): e 0018644.
34. Weiss B. Antisense RNA gene therapy for studying and modulating biological processes / B. Weiss, G. Davidkova, L.W. Zhou // *Cellular and Molecular Life Sciences*. - 1999. - Vol. 55. - P. 334-358.
35. Lu X. Antisense-mediated inhibition of human immunodeficiency virus (HIV) replication by use of an HIV type 1-based vector results in severely attenuated mutants incapable of developing resistance / X. Lu, Q. Yu, G.K. Binder, Z. Chen, T. Slepushkina, J. Rossi, B. Dropulic // *J. Virology*. - 2004. - Vol. 78. - P. 7079-7088.
36. Kuzio J. Sequence and analysis of the genome of a baculovirus pathogenic for *Lymantria dispar* / J. Kuzio, M.N. Pearson, S.H. Harwood, C.J. Funk, J.T. Evans, J. Slavicek, G.F. Rohrmann // *J. Virology*. - 1999. - Vol. 253. - P. 17-34.
37. De Maagd R.A. How *Bacillus thuringiensis* has evolved specific toxins to colonize the insect world / R.A. De Maagd, A. Bravo, N. Crickmore // *Trends in Genetics*. - 2001. - Vol. 17. - P. 193-199.
38. Moscardi F. Microbes and microbial technology / F. Moscardi, M.L. De Souza, M.E. de Batista Castro, M.L. Moscardi, B. Szewczyk. - Springer, 2011. - 516 p.
39. Moazami N. Biopesticides production / N. Moazami // *Agriculture and Biology J. of North America*. - 2012. - Vol.3, № 7. - P. 271-279.

40. Stewart L.M.D. Construction of an improved baculovirus insecticides containing an insect-specific toxin gene / L.M.D. Stewart, M. Hirst, F. López, A.T. Merryweather, P.J. Cayley, R.D. Possee // *Nature*. - 1991. - Vol. 352. - P. 85-88.
41. Inceoglu A.B. Genetically modified baculoviruses: a historical overview and future outlook / A.B. Inceoglu, S.G. Kamita, B.D. Hammock // *Adv. Virus Res.* - 2006. - Vol. 68. - P. 322-327.
42. Белов Д.А. Химические методы и средства защиты растений в лесном хозяйстве и озеленении / Д.А. Белов. - М. : МГУЛ, 2003. - 128 с.
43. Coulibaly F. The atomic structure of baculovirus polyhedra reveals the independent emergence of infectious crystals in DNA and RNA viruses / F. Coulibaly, E. Chiu, S. Gutmann, C. Rajendran, P.W. Haebel, K. Ikeda, H. Mori, V.K. Ward, C. Schulze-Briese, P. Metcalf // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. - 2009. - Vol. 106. - P. 22205-22210.
44. Chiu E. Insect virus polyhedra, infectious protein crystals that contain virus particles / E. Chiu, F. Coulibaly, P. Metcalf // *Current Opinion in Structural Biology*. - 2012. - Vol. 22. - P. 234-240.
45. Yu N. Christiaens O. Delivery of dsRNA for RNAi in insects: an overview and future directions / N. Yu, O. Christiaens, J. Liu, J. Niu, K. Cappelle, S. Caccia, H. Huvenne, G. Smagghe // *Insect Science*. - 2013. - Vol. 20. - P. 4-14.
46. Tomoyasu Y. Exploring systemic RNA interference in insects: a genome-wide survey for RNAi genes in *Tribolium* / Y. Tomoyasu, S.C. Miller, S. Tomita, M. Schoppmeier, D. Grossmann, G. Bucher // *Genome biology*. - 2008. - 9(1): R10.
47. Carmell M.A. RNase III enzymes and the initiation of gene silencing / M.A. Carmell, G.J. Hannon // *Nature Structural & Molecular Biology*. - 2004. - Vol.11, № 3. - P. 214-218.
48. Obbard D.J. The evolution of RNAi as a defence against viruses and transposable elements / D.J. Obbard, K.H. Gordon, A.H. Buck, F. Jiggins // *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*. - 2009. - Vol. 364. - P. 99-115.
49. Parker J.S. Argonaute: A scaffold for the function of short regulatory RNAs / J.S. Parker, D. Barford // *Trends in Biochemical Sciences*. - 2006. - Vol. 31. - P. 622-630.
50. Timmons L. Inducible systemic RNA silencing in *Caenorhabditis elegans* / L. Timmons, H. Tabara, C.C. Mello, A.Z. Fire // *Cellular and Molecular Biology*. - 2003. - Vol. 14, № 7. - P. 2972-2983.
51. Mello C.C. Revealing the world of RNA interference / C.C. Mello, D.J. Conte // *Nature*. - 2004. - Vol. 431. - P. 338-342.
52. Huvenne H. Mechanisms of dsRNA uptake in insects and potential of RNAi for pest control: A review / H. Huvenne, G. Smagghe // *J. Insect Physiology*. - 2010. - Vol. 56. - P. 227-235.
53. Jayachandran B. RNA interference as a cellular defense mechanism against the DNA virus baculovirus / B. Jayachandran, M. Hussain, S. Asgari // *J. Virology*. - 2012. - Vol. 86. - P. 13729-13734.
54. Агол В.И. Как вирусы вызывают болезни / В.И. Агол // *Сорос. обр. журн.* - 1997. - № 9. - С. 27-31.
55. Bertin J. Apoptotic suppression by baculovirus P35 involves cleavage by and inhibition of a virus induced CED-3 /ICE-like protease / J. Bertin, S.M. Mendrysa, D. J. La Count, S. Gaur, G.F. Krebs, R.C. Armstrong, K.J. Tomaselli, P.D. Friesen // *J. Virology*. - 1996. - Vol. 70, №9. - P. 6251-6259.
56. Manji G. A. Baculovirus inhibitor of apoptosis functions at or upstream of the apoptotic suppressor P35 to prevent programmed cell death / G.A. Manji, R.R. Hozar, D.J. La Count, P.D. Friesen // *J. Virology*. - 1997. - Vol. 71. - P. 4509-4516.
57. Shechner D.M. The Structural Basis of RNA-Ratalyzed RNA Polymerase / D.M. Shechner, D.P. Bartel // *Nature Structural and Molecular Biology*. - 2011. - Vol. 18, № 9. - P. 1036-1042.
58. Cech T.R. RNA as an enzyme / T.R. Cech // *Scientific American*. - 1986. - Vol. 255. - P. 64-75.
59. Cai Y.H. Advances in the study of protein-DNA interaction / Y.H. Cai, H. Huang // *Amino Acids*. - 2012. - Vol. 43. - P. 1141-1146.
60. Scott J.G. Investigating mechanisms of insecticide resistance: Methods, strategies and pitfalls / J.G. Scott. - New York : Chapman and Hall, 1989. - P. 39-57.
61. Тыщенко В.П. Физиология насекомых / В.П. Тыщенко. - М. : Высшая школа, 1986. - 330 с.
62. Бахвалов С.А. Вирозы насекомых. Патогены насекомых: структурные и функциональные аспекты / С.А. Бахвалов, В.В. Глупова. - М. : Круглый год, 2001. - 736 с.
63. Sugiura M. Insect spiracle as the main penetration route of pyrethroids / M. Sugiura, Y. Horibe, H. Kawada, M. Takagi // *Pesticide Biochemistry and Physiology*. - 2008. - Vol. 91, № 3. - P. 135-140.

64. Kalia V. Optimization of production of nucleopolyhedrovirus of *Helicoverpa armigera* throughout larval stages / V. Kalia, S. Chaudhari, G.J. Gujar // *Phytoparasitica*. - 2001. - Vol. 29, № 1. - P. 23-28.
65. Кагава Я. Биомембраны / Я. Кагава. - М. : Высшая школа, 1985. - 303 с.
66. Maeda I. Large-scale analysis of gene function in *Caenorhabditis elegans* by high-throughput RNAi / I. Maeda, Y. Kohara, M. Yamamoto, A. Sugimoto // *Current Biology*. - 2001. - Vol. 11. - P. 171-176.
67. Pridgeon J.W. Topically applied AaeIAP1 double-stranded RNA kills female adults of *Aedes aegypti* / J.W. Pridgeon, L. Zhao, J.J. Becnel, D.A. Strickman, G.G. Clark, K.J. Linthicum // *Journal of Medical Entomology*. - 2008. - Vol. 45. - P. 414-420.
68. Gu L. Recent advances in RNA interference research in insects: Implications for future insect pest management strategies / L. Gu, D.C. Knipple // *Crop Protection*. - 2013. - Vol. 45. - P. 36-40.

Оберемок В.В. Сучасні інсектициди: їх переваги, недоліки та передумови до створення ДНК-інсектицидів / В.В. Оберемок, О.С. Зайцев // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2014. – Т. 27 (66), № 1. – С.112-126.

Даний огляд присвячено сучасним інсектицидам та передумовам створення нового препарату на основі коротких фрагментів антиапоптозних генів вірусів ядерного поліедроза комах – ДНК-інсектицидів. Показано переваги і недоліки хімічних інсектицидів і біологічних препаратів. Зроблено висновок, що ДНК-інсектициди здатні об'єднати в собі найкращі властивості сучасних інсектицидів: доступність з швидкою дією від хімічних інсектицидів і вибірковість у дії від біологічних препаратів.

Ключові слова: хімічні інсектициди, біологічні препарати, ДНК-інсектициди.

THE MODERN INSECTICIDES: THEIR ADVANTAGES, DISADVANTAGES AND PRECONDITIONS FOR THE CREATION OF DNA INSECTICIDES (REVIEW)

Oberemok V.V., Zaitsev A.S.

*Taurida National V.I. Vernadsky University, Simferopol, Crimea, Ukraine
E-mail: genepcr@mail.ru*

This paper is devoted to modern insecticides and the preconditions for the creation of new biopreparations based on short fragments of anti-apoptosis genes of nuclear polyhedrosis viruses termed as DNA insecticides. Both advantages and disadvantages of the modern insecticides are shown in this review. Chemical insecticides are very fast in action while the main disadvantages are their non-specificity in action and the lengthy period of half-life that can last up to several decades. Biological preparations are selective but slow in action and relatively expensive. It is concluded that DNA insecticides are able to manifest the sum of the best characteristics of the modern insecticides: fastness and cheapness of chemical insecticides and safety from baculoviral preparations. Many investigations suggest that the viral anti-apoptosis genes originate from the eukaryotic cells. The relationships between baculoviruses and their insect hosts are subject to coevolution; this should lead to long-term evolutionary effects such as the specialization of these pathogens for their hosts, and the ability to affect their biochemical reactions through expression of homologous anti-apoptotic genes. Thus, if anti-apoptosis genes of a virus are homologous to the host anti-apoptosis genes then application of fragments of viral anti-apoptosis genes is supposed to interfere with pro-apoptotic and anti-apoptotic pathways in the gypsy moth cells (for example, via mechanisms characteristic for the action of antisense oligonucleotides). The consequences of such application of viral anti-apoptosis gene fragments may be the blocking of anti-

apoptosis proteins synthesis, the high level of apoptosis of affected cells and as a result, the death of a pest insect. Besides this, every species has its own unique sequence of anti-apoptosis genes and it seems possible to create the most effective and selective DNA insecticides for certain species that will manifest the highest effect on a target insect and provide harmlessness to other members of an ecosystem. Generally speaking, the influence of single-stranded DNA fragments on apoptosis or cellular cycle is an innovative branch of biology. It suggests that DNA could demonstrate the ability to coordinate particular cellular pathways, not only as a part of a genome but also as fragments of it. Some authors are close to this idea but they are mostly concentrated on the phenomenon of RNA interference and the use of relatively long double-stranded RNA fragments. The idea described in this article is novel and patented in Ukraine, and there is no available data in scientific literature about research testing the influence of very short viral single-stranded DNA fragments of anti-apoptosis genes that could work as DNA insecticides.

Keywords: chemical insecticides, biological preparations, DNA insecticides.

References

1. Sanchis V., From microbial sprays to insect-resistant transgenic plants: history of the biopesticide *Bacillus thuringiensis*. A review, *Agronomy for Sustainable Development*, **31**, 217 (2011).
2. Webster J.P.G., Bowles R.G., Williams N.T., Estimating the Economic Benefits of Alternative Pesticide Usage Scenarios: Wheat Production in the United Kingdom, *Crop Production*, **18**, 83 (1999).
3. Oerke E.C., Dehne H.W., Safeguarding production-losses in major crops and the role of crop protection, *Crop Protection*, **23**, 275 (2004).
4. Aktar W., Sengupta D., Chowdhury A., Impact of pesticides use in agriculture: their benefits and hazards, *Interdisc Toxicol*, **2** (1), 1 (2009).
5. Ghosh A., Chowdhury N., Chandra G., Plant extracts as potential mosquito larvicides, *The Indian J. Medical Research*, **135**, 581 (2012).
6. Bale J.S., Van Lenteren J.C., Bigler F., Biological control and sustainable food production, *The Philosophical Transactions of the Royal Society*, **363**, 761 (2008).
7. Walker K., Cost-comparison of DDT and alternative insecticides for malaria control, *Medical and Veterinary Entomology*, **14**, 345 (2000).
8. Wheatley G.A., Hardman J.A., Strickland A.H., Residues of chlorinated hydrocarbon insecticides in some farm soils in England, *Plant Pathology*, **11**, 81 (1962).
9. Ragnarsdottir K.V., Environmental fate and toxicology of organophosphate pesticides, *J. Geological Society*, **157**, 859 (2000).
10. Krupke C.H., Hunt G.J., Eitzer B.D., Andino G., Given K., Multiple routes of pesticide exposure for honey bees living near agricultural fields, *PLoS ONE*, **7**, e29268 (2012).
11. Jensen S.E., Insecticide resistance in the western flower thrips, *Frankliniella occidentalis*, *Integrated Pest Management Reviews*, **5** (2), 131 (2000).
12. Rohrmann G.F., *Baculovirus Molecular Biology* (National Library of Medicine, 2008).
13. Fukuto T.R., Mechanism of action of organophosphorus and carbamate insecticides, *Environ Health Perspect*, **87**, 245 (1990).
14. Yang M., Zhang J., Zhu K.Y., Xuan T., Liu X., Guo Y., Ma E., Increased activity and reduced sensitivity of acetylcholinesterase associated with malathion resistance in a field population of the oriental migratory locust, *Locusta migratoria manilensis*, *Pesticide Biochemistry and Physiology*, **91**, 32 (2008).
15. Bischoff D.S., Slavicek J.M., Molecular analysis of an enhancing gene in the *Lymantria dispar* nuclear polyhedrosis virus, *J. Virology*, **71**, 1097 (1997).
16. Slamti L., Perchat S., Gominet M., Vilas-Bôas G., Fouet A., Mock M., Sanchis V., Chaufaux J., Gohar M., Lereclus D., Distinct mutations in PlcR explain why some strains of the *Bacillus cereus* group are Nonhemolytic, *J. Bacteriology*, **186** (11), 3531 (2004).

17. Rosell G., Quero C., Coll J., Guerrero A., Biorational insecticides in pest management, *J. Pesticide Science*, **33**, 103 (2008).
18. Moscardi F., Assessment of the application of baculoviruses for control of Lepidoptera, *The Annual Review of Entomology*, **44**, 257 (1999).
19. Rowe G.E., Margaritis A.M., Bioprocess developments in the production of bioinsecticides by *Bacillus thuringiensis*, *Critical Reviews in Biotechnology*, **6** (4), 87 (1987).
20. Rollie J.C., Passarelli A.L., Baculoviruses: sophisticated pathogens of insects, *PLoS Pathogens*, **9**, e1003729 (2013).
21. Asser-Kaiser S., Heckel D.G., Jehle J.A., Sex linkage of CpGV resistance in a heterogeneous field strain of the codling moth *Cydia pomonella* (L.), *J. of Invertebrate Pathology*, **103**, 59 (2010).
22. Katsuma S., Koyano Y., Kang W., Kokusho R., Kamita S.G., Shimada T., The baculovirus uses a captured host phosphatase to induce enhanced locomotory activity in host caterpillars, *PLoS Pathogens*, **8**, e1002644 (2012).
23. Ikeda M., Yamada H., Hamajima R., Kobayashi M., Baculovirus genes modulating intracellular innate antiviral immunity of lepidopteran insect cells, *J. Virology*, **435**, 1 (2013).
24. Srinivasula S.M., Ashwell J.D., IAPs: what's in a name?, *Molecular Cell*, **30** (2), 123 (2008).
25. Ikeda M., Yamada H., Ito H., Baculovirus IAP1 induces caspase-dependent apoptosis in insect cells, *J. General Virology*, **9** (2), 2654 (2011).
26. Hughes A.L., Evolution of inhibitors of apoptosis in baculoviruses and their insect hosts infection, *Genetics and Evolution*, **2**, 3 (2002).
27. Herniou E.A., Olszewski J.A., O'Reilly D.R., Cory J.C., Ancient coevolution of baculoviruses and their insect hosts, *J. Virology*, **78**, 3244 (2004).
28. Oberemok V.V. (2001) DNA markers in the study of the relationship between nuclear polyhedrosis virus and its host *lymantria dispar*. Sum. cand. biol. sciences, KNU Kiev.
29. Oberemok V.V. *Method of elimination of phylophagous insects from order Lepidoptera Patent of Ukraine for useful model*. Patent UA, № 36445, Decl. 19.05.2008, Publ. 27.10.2008. Bull. 20.
30. Oberemok V.V., Zaytsev A.S., Nyadar P., Levchenko N., Shiyntum H., Omelchenko O., Pioneer Evaluation of the possible side effects of the DNA insecticides on wheat (*Triticum Aestivum* L.), *International J. of Biochemistry and Biophysics*, **1** (3), 57 (2013).
31. Fire A., Xu S., Montgomery M., Kostas S., Driver S., Mello C., Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*, *Nature*, **391**, 806 (1998).
32. Kawai-Toyooka H., Kuramoto C., Orui K., Motoyama K., Kikuchi K., Kanegae T., Wada M., DNA interference: a simple and efficient gene-silencing system for high-throughput functional analysis in the fern *Adiantum*, *Plant & Cell Physiology*, **45**, 1648 (2004).
33. Wang Y., Zhang H., Li H., Miao X., Second generation sequencing supply an effective way to screen RNAi targets in large scale for potential application in pest insect control, *PLoS ONE*, **8** (6), e 0018644 (2011).
34. Weiss B., Davidkova G., Zhou L.W., Antisense RNA gene therapy for studying and modulating biological processes, *Cellular and Molecular Life Sciences*, **55**, 334 (1999).
35. Lu X., Yu Q., Binder G.K., Chen Z., Slepushkina T., Rossi J., Dropulic B., Antisense-mediated inhibition of human immunodeficiency virus (HIV) replication by use of an HIV type 1-based vector results in severely attenuated mutants incapable of developing resistance, *J. Virology*, **78**, 7079 (2004).
36. Kuzio J., Pearson M.N., Harwood S.H., Funk C.J., Evans J.T., Slavicek J., Rohrmann G.F., Sequence and analysis of the genome of a baculovirus pathogenic for *Lymantria dispar*, *J. Virology*, **253**, 17 (1999).
37. De Maagd R.A., Bravo A., Crickmore N., How *Bacillus thuringiensis* has evolved specific toxins to colonize the insect world, *Trends in Genetics*, **17**, 193 (2001).
38. Moscardi F., De Souza M.L., De Batista Castro M.E., Moscardi M.L., Szewczyk B. *Microbes and microbial technology*. 516 p.(Springer, 2011).
39. Moazami N., Biopesticides production, Agriculture and Biology, *J. of North America*, **3** (7), 271 (2012).
40. Stewart L.M.D., Hirst M., López F., Merryweather A.T., Cayley P.J., Possee R.D., Construction of an improved baculovirus insecticides containing an insect-specific toxin gene, *Nature*, **352**, 85 (1991).
41. Inceoglu A.B., Kamita S.G., Hammock B.D., Genetically modified baculoviruses: a historical overview and future outlook, *Adv. Virus Res.*, **68**, 322 (2006).
42. Belov D.A. *Chemical methods and pesticides in forestry and landscaping*. 128p.(MGUL, 2003).
43. Coulibaly F., Chiu E., Gutmann S., Rajendran C., Haebel P.W., Ikeda K., Mori H., Ward V.K., Schulze-Briese C., Metcalf P., The atomic structure of baculovirus polyhedra reveals the independent

- emergence of infectious crystals in DNA and RNA viruses, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **106**, 22205 (2009).
44. Chiu E., Coulibaly F., Metcalf P., Insect virus polyhedra, infectious protein crystals that contain virus particles, *Current Opinion in Structural Biology*, **22**, 234 (2012).
 45. Yu N., Christiaens O., Liu J., Niu J., Cappelle K., Caccia S., Huvenne H., Smaghe G., Delivery of dsRNA for RNAi in insects: an overview and future directions, *Insect Science*, **20**, 4 (2013).
 46. Tomoyasu Y., Miller S.C., Tomita S., Schoppmeier M., Grossmann D., Bucher G., Exploring systemic RNA interference in insects: a genome-wide survey for RNAi genes in *Tribolium*, *Genome biology*, **9** (1), R10 (2008).
 47. Carmell M.A., Hannon G.J., RNase III enzymes and the initiation of gene silencing, *Nature Structural & Molecular Biology*, **11** (3), 214 (2004).
 48. Obbard D.J., Gordon K.H., Buck A.H., Jiggins F., The evolution of RNAi as a defence against viruses and transposable elements, *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, **364**, 99 (2009).
 49. Parker J.S., Barford D., Argonaute: A scaffold for the function of short regulatory RNAs, *Trends in Biochemical Sciences*, **31**, 622 (2006).
 50. Timmons L., Tabara H., Mello C.C., Fire A.Z., Inducible systemic RNA silencing in *Caenorhabditis elegans*, *Cellular and Molecular Biology*, **14** (7), 2972 (2003).
 51. Mello C.C., Conte D.J., Revealing the world of RNA interference, *Nature*, **431**, 338 (2004).
 52. Huvenne H., Smaghe G., Mechanisms of dsRNA uptake in insects and potential of RNAi for pest control: A review, *J. Insect Physiology*, **56**, 227 (2010).
 53. Jayachandran B., Hussain M., Asgari S., RNA interference as a cellular defense mechanism against the DNA virus baculovirus, *J. Virology*, **86**, 13729, (2012).
 54. Agol V.I., How viruses cause disease, *Sorosovskij obrazovatel'nyj zhurnal*, **9**, 27 (1997).
 55. Bertin J., Mendrysa S.M., La Count D.J., Gaur S., Krebs G.F., Armstrong R.C., Tomaselli K.J., Friesen P.D., Apoptotic suppression by baculovirus P35 involves cleavage by and inhibition of a virus induced CED-3/ICE-like protease, *J. Virology*, **70** (9), 6251 (1996).
 56. Manji G.A., Hozar R.R., La Count D.J., Friesen P.D., Baculovirus inhibitor of apoptosis functions at or upstream of the apoptotic suppressor P35 to prevent programmed cell death, *J. Virology*, **71**, 4509 (1997).
 57. Shechner D.M., Bartel D.P., The structural basis of RNA-catalyzed RNA polymerase, *Nature Structural and Molecular Biology*, **18** (9), 1036 (2011).
 58. Cech T.R., RNA as an enzyme, *Scientific American*, **255**, 64 (1986).
 59. Cai Y.H., Huang H., Advances in the study of protein-DNA interaction, *Amino Acids*, **43**, 1141 (2012).
 60. Scott J.G., *Investigating mechanisms of insecticide resistance: Methods, strategies and pitfalls* (Chapman and Hall, 1989).
 61. Tyshchenko V.P. *Insect Physiology*. 330 p. (Vysshaja shkola, 1986).
 62. Bahvalov S.A. Glupova V.V. *Virozy insects. Pathogens of insects: structural and functional aspects*. 736 p. (Kruglyj god, 2001).
 63. Sugiura M., Horibe Y., Kawada H., Takagi M., Insect spiracle as the main penetration route of pyrethroids, *Pesticide Biochemistry and Physiology*, **91** (3), 135 (2008).
 64. Kalia V., Chaudhari S., Gujar G.J., Optimization of production of nucleopolyhedrovirus of *Helicoverpa armigera* throughout larval stages, *Phytoparasitica*, **29** (1), 2328 (2001).
 65. Kagava Y. *Biomembrane* 303p. (Vysshaja shkola, 1985).
 66. Maeda I., Kohara Y., Yamamoto M., Sugimoto A., Large-scale analysis of gene function in *Caenorhabditis elegans* by high-throughput RNAi, *Current Biology*, **11**, 171 (2001).
 67. Pridgeon J.W., Zhao L., Becnel J.J., Strickman D.A., Clark G.G., Linthicum K.J., Topically applied AaeIAP1 double-stranded RNA kills female adults of *Aedes aegypti*, *J. Medical Entomology*, **45**, 414 (2008).
 68. Gu L., Knipple D.C., Recent advances in RNA interference research in insects: Implications for future insect pest management strategies, *Crop Protection*, **45**, 36 (2013).

Поступила в редакцию 05.02.2014 г.